

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA ORGANICKÉ A BIOORGANICKÉ CHEMIE



## DIPLOMOVÁ PRÁCE

# SYNTÉZA NOVÝCH DERIVÁTŮ 7-ARYL TAKRINŮ JAKO POTENCIÁLNÍCH MULTIPOTENTNÍCH TERAPEUTIK PRO LÉČBU ALZHEIMEROVY NEMOCI

Zuzana Moravcová

Vedoucí diplomové práce: Doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Konzultant: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2024

## PROHLÁŠENÍ

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 2024

Zuzana Moravcová

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou poděkovala všem, co se na této práci podíleli. V první řadě Ing. Barboře Svobodové, Ph.D., které vděčím za její skvělé vedení, podporu, cenné rady, veškerý čas, a to nejen při psaní této práce, ale i při syntéze látek v laboratoři. Dále doc. PharmDr. Jaroslavu Rohovi, Ph.D. za odborné i formální připomínky a vedení. V neposlední řadě děkuji doc. PharmDr. Janu Korábečnému, Ph.D., celému týmu katedry toxikologie a vojenské farmacie, rodině a mým nejbližším.

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Organická a bioorganická chemie

Školitel: Doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Konzultant: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Student: Zuzana Moravcová

Název práce: **Syntéza nových derivátů 7-aryl takrinů jako potenciálních multipotentních terapeutik pro léčbu Alzheimerovy nemoci**

Alzheimerova choroba (AD, z angl. Alzheimer's disease) je progresivní degenerativní onemocnění mozku, při kterém dochází k úbytku mozkových buněk a ke ztrátě jejich funkcí. Složitost patofyziologie AD je hlavním limitujícím faktorem ve vývoji nových terapeutických sloučenin. Současná léčba pouze zmírňuje symptomy onemocnění, aniž by řešila základní příčiny vzniku této nemoci. Takrin byl první sloučeninou zavedenou v terapii AD. Studie prokázaly jeho inhibiční účinek vůči cholinesterázám (ChE) i antagonismus na NMDA receptorech (NMDAR). Závažná hepatotoxicita takrinu byla ovšem důvodem ke stažení látky z trhu. I proto je v dnešní době věnována pozornost vývoji nových derivátů ve snaze nalézt molekuly s nižší toxicitou, ale zachovaným duálním účinkem. Od této skutečnosti se odvíjí i předložená diplomová práce, která se zabývá návrhem a syntézou nové řady takrinových derivátů substituovaných v poloze sedm různými heteroaromáty. Série 16 sloučenin byla připravena dvou krokovou syntézou, která zahrnovala Friedländerovu kondenzaci a Suzukiho coupling. Následně u všech výsledných produktů byla stanovena inhibiční aktivita vůči cholinesterázám, antiproliferativní vlastnosti a predikce prostupu hematoencefalickou bariérou (HEB). Jako nejlepší deriváty byly vybrány sloučeniny **5a**, **5e**, **5i** a **5m**, u kterých byla navíc stanovena relativní inhibice na NMDAR.

**Klíčová slova:** Alzheimerova choroba, takrin, 7-heteroaryltakrin, cholinesterázy, N-methyl-D-aspartátové receptory

## ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department: Department of Organic and Bioorganic Chemistry

Mentor: Doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Consultant: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Student: Zuzana Moravcová

Title of Thesis: **Synthesis of novel derivatives of 7-aryl tacrines as potential multipotent therapeutics against Alzheimer's disease**

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent form of dementia, characterized by multifactorial and progressive neurodegeneration. The complexity of AD pathophysiology is the main limiting factor for the difficulty of developing new therapeutic compounds. Current treatment merely alleviates symptoms without addressing the underlying causes of the disease. Tacrine was the first used and promising molecule in the therapy of AD due to its multifaceted mechanism of action. Studies demonstrated its inhibitory effect on cholinesterases (ChE) as well as its antagonism at NMDA receptors (NMDAR). However, severe hepatotoxicity led to the withdrawal of tacrine from the market. Consequently, there is ongoing research into tacrine derivatives to find molecules with lower toxicity but retained dual action. This thesis presents a new series of tacrine derivatives substituted at position seven with various heteroaromatic groups. A series of 16 compounds was synthesized through a two-step process involving Friedländer condensation and Suzuki coupling. Inhibitory activity against cholinesterases, cytotoxicity, and predicted blood-brain barrier (BBB) permeability were evaluated for all resultant products. The most promising derivatives were compounds **5a**, **5e**, **5i**, and **5m**, which also showed relative inhibition at NMDAR.

**Keywords:** Alzheimer's disease, tacrine, 7-heteroaryltacrine, cholinesterases, *N*-methyl-D-aspartate receptor

# OBSAH

SEZNAM ZKRATEK .....	8
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	11
SEZNAM TABULEK .....	11
<b>1 ÚVOD.....</b>	<b>11</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
2.1 Alzheimerova nemoc .....	12
2.2 Cholinergní hypotéza .....	13
2.2.1 Cholinesterázy.....	13
2.2.2 Acetylcholinesteráza .....	13
2.2.3 Butyrylcholinesteráza .....	14
2.3 Glutamátergní hypotéza .....	15
2.3.1 NMDA receptory .....	15
2.4 Amyloidní hypotéza .....	17
2.5 Další hypotézy .....	18
2.5.1 Hypotéza hyperfosforylovaného tau proteinu .....	18
2.5.2 Mitochondriální hypotéza.....	19
2.6 Farmakologická léčba AD.....	20
2.6.1 Inhibitory AChE .....	20
2.6.2 Antagonisté NMDAR .....	22
2.6.3 Monoklonální protilátky .....	22
2.6.4 Oligomanát sodný .....	23
<b>3 NÁVRH NOVÝCH SLOUČENIN 7-HETEROARYLTAKRINU .....</b>	<b>24</b>
<b>4 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>28</b>
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>29</b>
5.1 <i>In silico</i> predikce farmakokinetických a fyzikálně-chemických vlastností .....	29
5.2 Chemická syntéza 7-heteroaryltakrinových derivátů .....	31
5.2.1 Příprava meziprojektu 3 .....	31
5.2.2 Příprava produktů 5a-5s .....	32
5.3 Biologické testování .....	34
5.3.1 Stanovení inhibiční aktivity enzymů AChE a BChE <i>in vitro</i> .....	34
5.3.2 Predikce prostupnosti HEB .....	35

5.3.3	Antiproliferativní vlastnosti <i>in vitro</i> .....	37
5.3.4	Stanovení relativní inhibiční aktivity NMDAR <i>in vitro</i> .....	37
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>41</b>
7.1	Charakterizace meziprojektu 3 a produktů 5a-5p.....	41
<b>8</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>47</b>

## SEZNAM ZKRATEK

7-FEOTA	7-fenoxytakrin
7-MEOTA	7-methoxytakrin
7-OH-THA	7-hydroxytakrin
AD	Alzheimerova choroba
ADME	adsorpce, distribuce, metabolismus, exkrece
ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AMPA	$\alpha$ -amino-5-hydroxy-3-methyl-4-isoxazolové kyselina
APP	amyloidový prekurzorový protein
ATP	adenosintrifosfát
A $\beta$	amyloid $\beta$
BChE	butyrylcholinesteráza
bs	široký singlet
CAS	katalytické aktivní místo
CNS	centrální nervová soustava
d	dublet
dd	dublet dubletu
DMSO-d6	deuterovaný dimethylsulfoxid
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and drug Administration
HEB	hematoencefalická bariéra



HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (z angl. high resolution mass spektrometry)
ChE	cholinesterázy
iAChE	inhibitory acetylcholinesterázy
IC <sub>50</sub>	poloviční maximální inhibiční koncentrace
IgG1	imunoglobulin gama 1
iChE	inhibitory cholinesteráz
J	interakční konstanta
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (z angl. liquid chromatography–mass spectrometry)
LC-UV	kapalinová chromatografie s ultrafialovou detekcí (z angl. liquid chromatography-ultraviolet)
m	multiplet
mAb	monoklonální protilátka
MAP	proteiny asociované s mikrotubuly
MTT	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid
NFT	neurofibrilární klubka (z angl. neurofibrillary tangles)
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
NMDAR	<i>N</i> -methyl-D-aspartátové receptory
NMR	nukleární magnetická rezonance
NPL	nervově paralytické látky
OFI	organofosfátové inhibitory
p	pentet

PAMPA	permeační test je založený na pasivní difuzi látky skrze uměle připravenou membránu usazenou na porézním filtr (z angl. parallel artificial membrane-permeability assay)
PAS	periferní anionické místo
PN	Parkinsonova nemoc
ppm	parts per milion
q	kvartet
RI	relativní inhibice
sAPP- $\alpha$	rozpuštěný amyloidní protein $\alpha$
SEM	střední chyba průměru (z angl. standard error of the mean)
t	triplet
THA	takrin
TLC	chromatografie na tenké vrstvě (z angl. thin layer chromatography)
$\delta$	chemický posun

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1</b> Katalytická hydrolýza ACh .....	13
<b>Obrázek 2</b> Grafické zobrazení kavity enzymu AChE .....	14
<b>Obrázek 3</b> Struktura NMDAR, převzato a upraveno z [30] .....	16
<b>Obrázek 4</b> Náznorné zobrazení štěpení APP, převzato z [42] .....	17
<b>Obrázek 5</b> A) vazba $\tau$ proteinu na mikrotubuly za fyziologických podmínek.....	18
<b>Obrázek 6</b> Struktury iAChE .....	21
<b>Obrázek 7</b> Struktura memantinu a jeho prekurzoru .....	22
<b>Obrázek 8</b> Struktura GV-971.....	23
<b>Obrázek 9</b> Homodimer bis(7)-THA .....	24
<b>Obrázek 10</b> Struktura heterodimerů, n = odlišná délka spojovacího řetězce.....	25
<b>Obrázek 11</b> Struktury monotakrinových derivátů.....	25
<b>Obrázek 12</b> Design nových sloučenin 7-heteroaryltakrinu .....	26
<b>Obrázek 13</b> Procentuální zastoupení jednotlivých metabolitů u THA, 7- MEOTY a 7- FEOTY. 7-OH-THA představuje červenou část grafu, převzato z [94].....	27
<b>Obrázek 14</b> Prediktivní model „Boiled egg“ u vybraných sloučenin <b>5f</b> a <b>5g</b> . Žlutá část značí pravděpodobnost prostupu skrz HEB, bílá oblast predikuje absorpci v gastrointestinálním traktu .....	30
<b>Obrázek 15</b> Schéma chemické syntézy derivátů <b>5a-5s</b> . Reakční podmínky: i) ZnCl <sub>2</sub> (2 eq.); cyklohexanon (5 ml); MW; 5 min; 160 °C. ii) Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2 eq.); bis(trifenylfosfin)palladium(II) chlorid (0,1 eq.); THF/H <sub>2</sub> O (4:1); 24 h; 75 °C. ....	31

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1</b> In silico predikce sloučenin <b>5a-5s</b> s THA a 7-FEOTA jako referenčními látkami. <sup>a</sup> GIA = gastrointestinální absorpce; <sup>b</sup> HEB = prostup hematoencefalickou bariérou <sup>c</sup> ref. [102]; <sup>d</sup> ref. [104]; <sup>e</sup> Bio. Skóre = biologická dostupnost [105]; <sup>f</sup> cLogS (SILICOS-IT) = rozpustnost ve vodě; <sup>g</sup> PAINS = interferenční sloučeniny Pan-assay.....	30
<b>Tabulka 2</b> Souhrnný přehled finálních derivátů .....	33
<b>Tabulka 3</b> Výsledky měření inhibiční aktivity sloučenin <b>5a-5p</b> vůči lidské AChE a BChE	34
<b>Tabulka 4</b> Výsledky stanovení prostupu přes HEB u derivátů <b>5a-5p</b> .....	35
<b>Tabulka 5</b> Antiproliferativní aktivita derivátů <b>5a-5p</b> .....	37
<b>Tabulka 6</b> Výsledky relativní inhibice (RI %) na NMDAR .....	38

# 1 ÚVOD

Tato diplomová práce se zabývá vývojem nových derivátů takrinu jako potenciálních terapeutik v léčbě AD. Teoretická část je věnována obecným informacím o této nemoci jako jsou rizikové faktory, symptomy, prevalence apod. Dále tato část pojednává o jednotlivých hypotézách vzniku AD a současných možnostech léčby tohoto onemocnění spolu s nejnovějšími poznatky v oblasti medikace. Experimentální část tvoří několik kapitol, počínaje návrhem a *in silico* predikcí fyzikálně-chemických vlastností nových derivátů, přes samotnou syntézu až po podrobnou charakterizaci látek a jejich biologické testování *in vitro*.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Alzheimerova nemoc

AD, pojmenována po německém psychiatrovi Aloisi Alzheimerovi, patří mezi nejčastější typ demence a definuje se jako pomalu progredující neurodegenerativní onemocnění. Jedná se o multifaktoriální chorobu spojenou s několika rizikovými faktory jako např. vzrůstající věk, genetická predispozice, úraz hlavy, cévní onemocnění, infekce a nezdravý životní styl [1]. Vyznačuje se zhoršením paměťových funkcí, jako je myšlení, zapamatování si, mluvení i změnou osobnosti. Tyto symptomy nakonec vedou až k úplné ztrátě schopnosti vykonávat nejjednodušší denní úkony [2].

AD můžeme dělit do čtyř stádií. První stádium označované jako preklinické neboli presymptomatické trvá několik let. Během tohoto období dochází k morfologickým změnám v mozkové kůře a v hipokampu, ale bez funkčního poškození těchto struktur. Dále rané stádium, kdy lze u pacientů pozorovat ztrátu koncentrace, orientace v čase i prostoru či rozvoj deprese [3]. Ve třetím středně pokročilém stádiu pacient začíná mít problémy např. s rozpoznáním rodiny či blízkých osob [4]. Poslední pozdní stádium se vyznačuje funkčním i kognitivním poškozením všech mozkových struktur [1].

Dle současných dat se odhaduje, že téměř 50 milionů lidí po celém světě trpí demencí, včetně AD a předpoklad prevalence do roku 2050 je více než dvojnásobný [5–7]. U žen se demence vyskytuje zhruba dvakrát častěji než u mužů a většinou končí letálně po 3-10 letech od diagnózy. Kritickou hranicí pro výskyt AD je věk 65 let, poté se šance na rozvoj tohoto onemocnění rapidně zvyšuje [8].

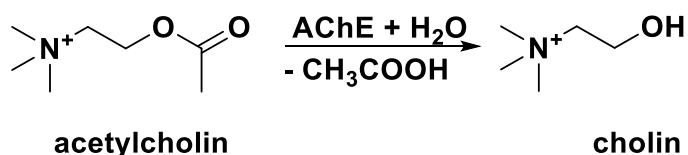
I přes významný problém veřejného zdraví, který AD představuje, byly do dnešního dne schváleny pouze dvě skupiny možné medikace. Ovšem žádná z nich neléčí příčinu tohoto onemocnění, ale pouze tlumí její příznaky [9]. První skupinou pro symptomatickou léčbu jsou inhibitory cholinesteráz (iChE), kam řadíme donepezil, rivastigmin a galantamin. Memantin je zástupcem druhé skupiny a má antagonistický účinek na glutamátových NMDAR [10]. Dále byla zkoumána řada léčiv, např. extrakty z *Ginkgo biloba*, estrogeny, statiny, vitamin E a nesteroidní antiflogistika,

u kterých ovšem nebyl prokázán dostatečně pozitivní vliv v terapii AD [11–14]. Z vědeckého hlediska existuje několik hypotéz vzniku tohoto onemocnění. Mezi zásadní patofyziologické nálezy v mozku patří dysbalance některých neurotransmiterů, akumulace amyloidu  $\beta$ , hyperfosforylace tau proteinu nebo oxidativní poškození nervových buněk či zánětlivé procesy [5, 15].

## 2.2 Cholinerní hypotéza

### 2.2.1 Cholinesterázy

Cholinesterázy (ChE) představují souhrnné označení pro skupinu enzymů, jejichž primární biologickou funkcí je terminace přenosu vzruchu v cholinerních synapsích. Tento děj se uskutečňuje v synaptické štěrbině, kde dochází ke katalytické hydrolýze neuromediátoru acetylcholinu (ACh) zpět na cholin a kyselinu octovou (**obrázek 1**) [14, 16]. Cholinerní synapse jsou rozšířené v celé centrální nervové soustavě (CNS) člověka, avšak nejvyššího zastoupení dosahují v thalamu, striatu, limbickém systému a neokortexu. Tento fakt poukazuje na důležitost ACh v procesu učení, paměti a pozornosti. V lidském těle se objevují dva typy těchto enzymů, a to acetylcholinesteráza (AChE, EC 3.1.1.7) a butyrylcholinesteráza (BChE, EC 3.1.1.8) [17].

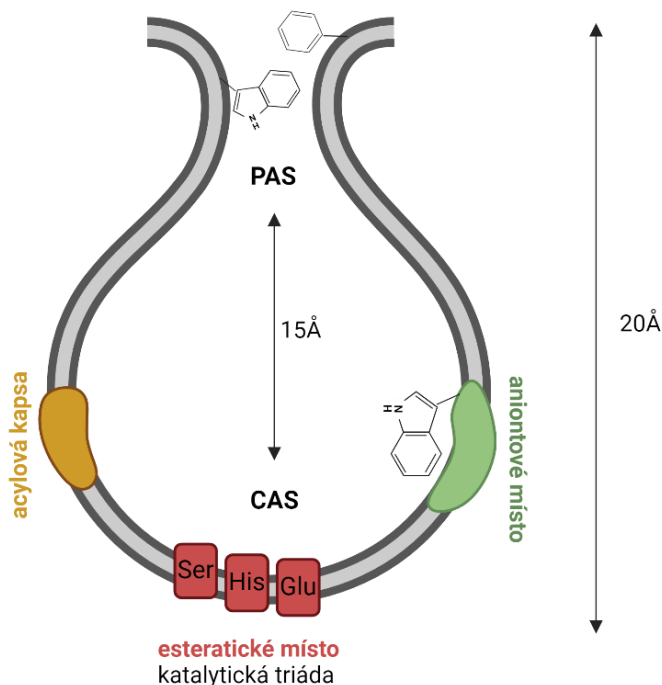


**Obrázek 1** Katalytická hydrolýza ACh

### 2.2.2 Acetylcholinesteráza

AChE je též známá jako pravá nebo specifická esteráza, která se nachází především v erythrocytech, nervových zakončeních, plicích a slezině. Jedná se o membránově vázaný glykoprotein, jehož základní molekula je monomerní s úzkou kavitou hlubokou 20 Å [14, 16]. Na dně této kavity se nachází katalytické aktivní místo (CAS, z angl. catalytic active site) složené z esteratického místa, aniontového místa a acylové kapsy (**obrázek 2**). Esteratické místo s katalytickou triádou (Ser203, His447 a Glu334, číslování odpovídá lidské AChE) slouží k hydrolýze esterových vazeb.

Aniontové místo zajišťuje interakci s ACh a jeho správnou orientaci a acylová kapsa poskytuje substrátovou specifitu enzymu [18, 19]. Na periférii je lokalizováno anionické místo (PAS, z angl. peripheral anionic site), které váže převážně aromatická rezidua [20].



**Obrázek 2** Grafické zobrazení kavity enzymu AChE

### 2.2.3 Butyrylcholinesteráza

BChE známá i jako nescifická či pseudocholinesteráza se od AChE liší přibližně stokrát nižší afinitou k ACh a schopností hydrolyzovat široké spektrum esterů, ať už fyziologického nebo xenobiotického původu [21, 22]. Za fyziologických podmínek je BChE odpovědná za 20 % celkové cholinesterázové aktivity. V pozdějších stádiích AD se její aktivita zvyšuje na 40-90 % v určitých oblastech mozku a přebírá tak hlavní roli při hydrolyze ACh. I proto se v současné době dostává do popředí vývoj vysoce selektivních inhibitorů BChE [23, 24].

Vlastnosti BChE můžeme také využít k profylaxi otrav nervově paralytickými látkami (NPL) nebo k léčbě intoxikace organofosfátovými inhibitory (OFI) jako tzv. bioscavengery. Vzhledem k distribuci tohoto enzymu v různých tkáních lidského těla, zejména v játrech, hraje BChE klíčovou roli i jako diagnostický marker v mnoha onemocněních. Plazmatické hladiny tohoto enzymu se mohou měnit v důsledku

aterních a renálních dysfunkcí, malnutrice, dyslipidémie, diabetu I. i II. typu, AD, Parkinsonovy nemoci (PN) atd. [25].

Cholinergní hypotéza byla poprvé popsána před více než 20 lety. Tato hypotéza vznikla na základě *post mortem* biochemických a histopatologických vyšetření z tkání odebraných pacientům s AD, které poukázaly na sníženou cholinergní aktivitu [26]. Pro potvrzení hypotézy byla provedena behaviorální studie na zvířatech. Tato studie probíhala podle čtyř léčebných protokolů společně s kontrolní skupinou pro správnou interpretaci výsledků. Před zahájením behaviorálního testu byl zvířatům intramuskulárně podán buď skopolamin nebo fyzostigmin, popřípadě jejich kombinace. Skopolamin jakožto anticholinergikum (parasymptolytikum) již v malých dávkách vyvolal symptomy podobné těm, které se vyskytují u pacientů trpících AD. Naopak fyzostigmin ze skupiny parasymptomimetik byl schopen obnovit porušené kognitivní funkce sledovaných zvířat. Proto jsou dodnes nepřímá parasymptomimetika hlavní používanou skupinou léčiv v AD [15, 27].

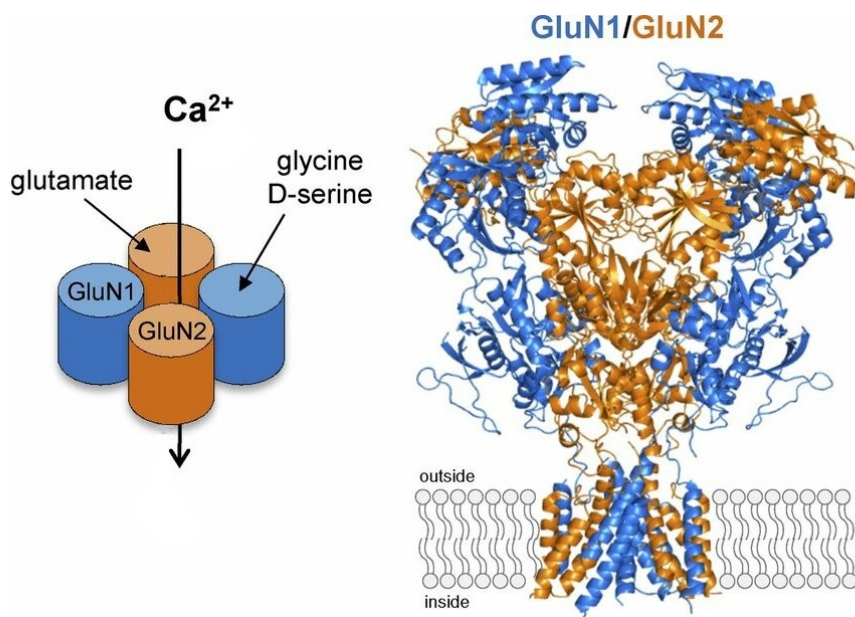
## 2.3 Glutamátergní hypotéza

### 2.3.1 NMDA receptory

Glutamátové receptory můžeme dělit na ionotropní a metabotropní. Skupina ionotropních receptorů zahrnuje *N*-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory, receptory  $\alpha$ -amino-5-hydroxy-3-methyl-4-isoxazolové kyseliny (AMPA) a receptory kainátového typu. Výše uvedené receptory se vyskytují převážně postsynapticky a zprostředkovávají rychlou neurotransmisi. Na druhé straně metabotropní receptory spřažené s G-proteinem lze nalézt v různých kompartmentech mozku [28].

Strukturně jsou NMDAR heterotetramery, které mají stejnou membránovou topologii, ale liší se skladbou podjednotek. Většina NMDAR (**obrázek 3**) je tvořena dvěma podjednotkami GluN1 v kombinaci s podjednotkami GluN2A-D. Pro aktivaci těchto receptorů je nutné současné navázání agonistů, a to glutamátu na GluN2 podjednotku a glycinu na GluN1 podjednotku. Minoritní část NMDAR je poté složena z podjednotek GluN1 a GluN3A-B nesoucí vazebné místo pouze pro glycin [29].





**Obrázek 3** Struktura NMDAR, převzato a upraveno z [30]

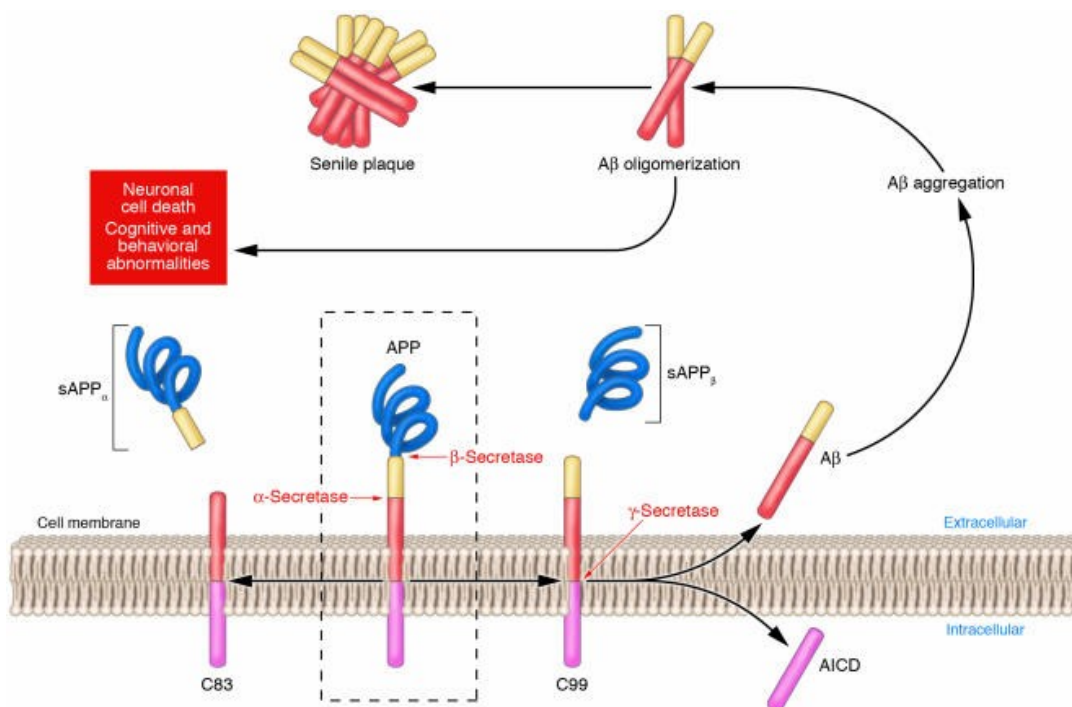
Při klidovém membránovém potenciálu je iontový kanál blokován hořečnatými kationty, a tedy nepropustný pro kationty vápenaté. Následnou depolarizací membrány dochází k odplavení hořečnatých kationtů a intracelulárnímu influxu vápenatých kationtů, čímž dojde k přenosu signálu [31].

Glutamát je hlavním excitačním neurotransmiterem v hipokampu a kortikální oblasti podílející se na synaptické plasticitě, tedy především na rozvoji schopnosti učení a paměti [32]. Glutamátergní hypotéza je spojena s narušením signalizace přes NMDAR v důsledku nadměrné stimulace receptoru zvýšenou hladinou glutamátu [33]. Zda aktivace receptorů povede k neuroprotektivnímu účinku nebo k patologickému stavu zvanému excitotoxicita závisí na lokalizaci NMDAR. Stimulace synaptických NMDAR vede k neuroprotekcii, kdežto stimulace extrasynaptických receptorů způsobí poškození či smrt nervových buněk [34, 35].

Tato hypotéza se netýká pouze AD, ale i ostatních neurodegenerativních onemocnění jako např. PN, Huntigtonovy choroby či roztroušené sklerózy [36].

## 2.4 Amyloidní hypotéza

Amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ) je peptid o délce 36 až 43 aminokyselin a vzniká postupným štěpením amyloidového prekurzorového proteinu (APP) [37]. APP je transmembránový protein syntetizovaný v endoplazmatickém retikulu a poté uchovávaný v trans-Golgiho síti [38]. APP je enzymaticky štěpen dvěma rozdílnými cestami. Za fyziologických podmínek je tento peptid rozkládán  $\alpha$ -sekretázou za vzniku rozpustného amyloidního proteinu  $\alpha$  (sAPP- $\alpha$ ), který se podílí na plasticitě neuronů. O této cestě hovoříme jako o tzv. neamyloidogenní. Naopak za patofyziologických podmínek dochází k amyloidogenní cestě, kdy je APP zpočátku štěpen  $\beta$ -sekretázou za vzniku solubilního proteinu sAPP- $\beta$ . [39]. Druhým krokem této cesty je přeměna zbylého koncového fragmentu APP pomocí  $\gamma$ -sekretázy na různě dlouhé monomery  $A\beta$ , nejčastěji na dva hlavní -  $A\beta_{40}$  a  $A\beta_{42}$  [40]. Následně dochází ke shlukování monomerů přes dimery do rozpustných toxických oligomerů až k nerozpustným fibrilárním shlukům [37] (**obrázek 4**). U zdravých jedinců je  $A\beta$  ihned degradován, zatímco u starších či u pacientů trpících AD je schopnost metabolizace tohoto peptidu snížena a vzniklá nerovnováha mezi produkcí a eliminací vede k akumulaci  $A\beta$  a tvorbě senilních plaků [41].



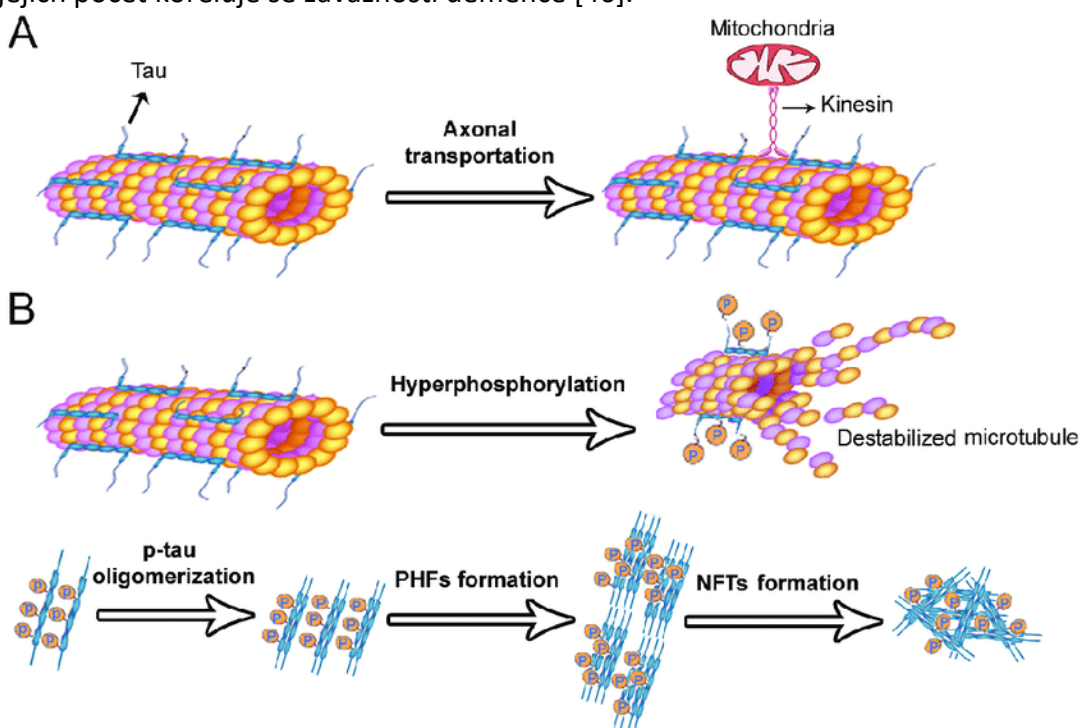
**Obrázek 4** Názorné zobrazení štěpení APP, převzato z [42]

## 2.5 Další hypotézy

### 2.5.1 Hypotéza hyperfosforylovaného tau proteinu

Tau ( $\tau$ ) protein je typ fosfoproteinů, který se nachází převážně v neuronech, konkrétně je lokalizován na axonech. Řadí se mezi tzv. proteiny asociované s mikrotubuly (MAP), jejichž úkolem je formování tubulinu do mikrotubulů a stabilizace jejich struktury. Lidský  $\tau$  protein je kódován 17. chromozomem a vyskytuje se v šesti isoformách [43].

Nejčastěji zmiňovanou post translační modifikací ve spojení s  $\tau$  proteinem je fosforylace. Vzhledem k vysokému počtu potenciálních fosforylačních míst, které  $\tau$  protein obsahuje, je zřejmé, že případná hyperfosforylace bude mít rapidní dopad na jeho fyziologické funkce [44]. K tomuto jevu dochází za patologických podmínek, jako je právě AD a jeho důsledkem je snížení afinity  $\tau$  proteinu k mikrotubulům, což způsobuje destabilizaci cytoskeletu v neuronech (**obrázek 5**). Hyperfosforylovaný  $\tau$  protein vytváří nerozpustné agregáty ve formě neurofibrilárních klubek (NFT, z angl. neurofibrillary tangles) [45]. NFT zodpovídají za kognitivní dysfunkce a jejich počet koreluje se závažností demence [46].



**Obrázek 5** A) vazba  $\tau$  proteinu na mikrotubuly za fyziologických podmínek  
B) hyperfosforylace za patologických podmínek  
spodní část – tvorba NFT, převzato z [47]

## 2.5.2 Mitochondriální hypotéza

Neurony jsou závislé na přítomnosti mitochondrií, zejména v synapsích, kde tyto organely produkují adenosintrifosfát (ATP) a regulují koncentraci vápenatých kationtů. Oba dva zmíněné procesy jsou důležité pro přenos nervových vzruchů [48]. Mitochondrie jsou obvykle syntetizovány v těle neuronu a poté transportovány do jiné oblasti neuronu, kde jsou potřeba. Tento transport je zprostředkován pomocí mikrotubulů a mnoha dalších proteinů či enzymů [49].

Dle některých studií bylo zjištěno, že nadměrná exprese  $\tau$  proteinu inhibuje axonální transport mitochondrií [50, 51]. S poškozením těchto organel souvisí deplece ATP, nadměrná tvorba volných radikálů i synaptická dysfunkce [52]. Při narušení rovnováhy volných kyslíkových i dusíkových radikálů dochází k oxidativnímu stresu a jsou zasaženy nejrůznější části biomolekul včetně proteinů, lipidů, sacharidů a nukleových kyselin v mozku i na periférii [53]. Oxidativní stres také úzce souvisí s  $A\beta$ , protože jeho nadměrná produkce generuje další volné radikály [54]. Zatím není známo, zda je mitochondriální dysfunkce následkem nebo příčinou AD [49].

## 2.6 Farmakologická léčba AD

Prvním krokem pro optimální léčbu AD je správná, včasná a úplná diagnóza. Je nutné, aby farmakoterapie byla součástí komplexní terapie, která se skládá z reedukace, rehabilitace kognitivních funkcí, z péče o dobrý tělesný stav, ze spolupráce s rodinou pacienta a dalších nefarmakologických opatřeních [55].

Jak již bylo zmíněno v první kapitole (2.1. Alzheimerova nemoc), současná terapie užívaná v klinické praxi je pouze symptomatická a může být doplněna o léčiva jako jsou antidepresiva či antipsychotika u pacientů s behaviorálními potížemi [56].

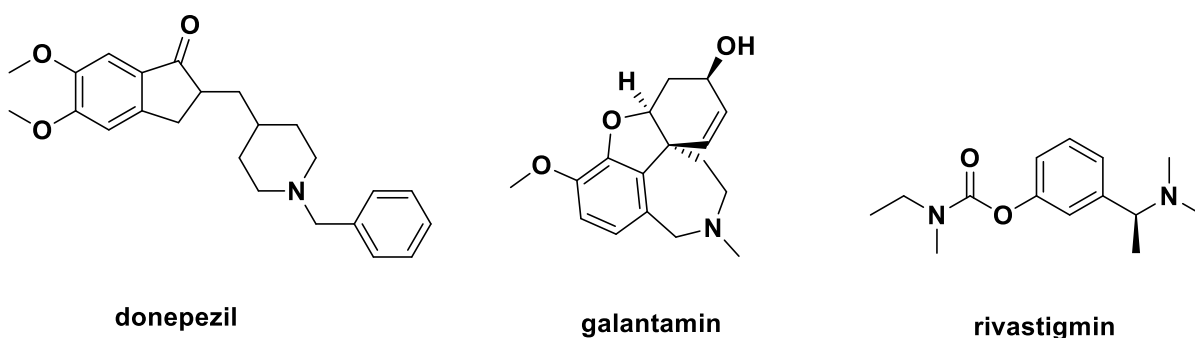
### 2.6.1 Inhibitory AChE

Podáním inhibitorů AChE (iAChE) dojde ke zpomalení degradace ACh v synaptické štěrbině, čímž lze dosáhnout vyšších hladin a dostupnosti ACh v mozku. Tento mechanismus účinku napomáhá cholinergnímu přenosu a tím zlepšuje kognitivní funkce i fyzický stav pacienta [57, 58]. Nežádoucí účinky, nejčastěji gastrointestinální problémy jako nauzea, zvracení či průjem, se vyskytují zejména při zvyšování dávek léků. Méně často může docházet k insomnii, svalovým křečím, bradykardii a únavě [59]. Donepezil, galantamin a rivastigmin jsou zástupci iAChE, které schválily regulační orgány jako Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA) pro léčbu lehké až středně těžké demence (**obrázek 6**) [6].

**Donepezil** je reverzibilní inhibitor, který je několikanásobně selektivnější k AChE než k BChE (AChE  $IC_{50} = 0,014 \mu M$ , BChE  $IC_{50} = 5,38 \mu M$ ) [60]. Ve své struktuře obsahuje *N*-benzylpiperidin a indanonovou skupinu [61]. Z hlediska farmakokinetiky se donepezil po perorálním podání snadno vstřebává, ve velké míře se váže na bílkoviny a je metabolizován převážně izoenzymy CYP 2D6, 3A4 [62]. Relativně dlouhý poločas umožňuje dávkování pouze jednou denně, což je výhodou oproti galantaminu a rivastigminu, které je nutné podávat dvakrát denně [63].

**Galantamin** je přírodní fenanthrenový alkaloid původně izolovaný z rostlin čeledi Amaryllidaceae s duálním mechanismem působení [64]. Jedním z účinků je reverzibilní kompetitivní inhibice AChE (AChE  $IC_{50} = 4 \mu M$ ), dále alostericky moduluje nikotinové receptory, čímž potencuje cholinergní aktivitu na synapsi [65].

**Rivastigmin** je nekompetitivní pseudoireverzibilní inhibitor karbamátového typu, který inhibuje jak AChE tak i BChE (AChE  $IC_{50} = 501 \mu M$ , BChE  $IC_{50} = 19,95 \mu M$ )[62]. Studie poukazují na vhodné užití rivastigminu i u demence spojené s PN či Lewyho tělísky [66, 67]. Rivastigmin je na trhu dostupný ve více lékových formách, a to pro perorální podání jako tobolky či roztok nebo pro transdermální aplikaci ve formě náplasti. Náplast obsahující dávku 9,5 mg léčiva vykazuje stejné klinické účinky jako maximální doporučená denní dávka rivastigminu (12 mg) pro perorální podání. Navíc nezpůsobuje gastrointestinální nežádoucí účinky [18].

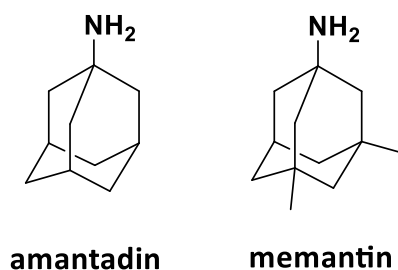


**Obrázek 6** Struktury iAChE

**Takrin** (THA, z chem. názvu 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridin) se v roce 1993 stal prvním schváleným iChE pro léčbu AD [68]. Nejen že inhibuje AChE i BChE v mikromolárních koncentracích (AChE  $IC_{50} = 0,32 \mu M$ , BChE  $IC_{50} = 0,22 \mu M$ ), je i antagonistou NMDAR, snižuje produkci APP, hyperfosforylovaného  $\tau$  proteinu a oxidativní stres [26, 85]. Nicméně pro jeho hepatotoxicitu i gastrotoxicitu byl definitivně stažen z trhu roku 2013 [69]. I přesto tato molekula položila základ pro syntézu nových derivátů THA. V rámci intenzivního výzkumu se usiluje o přípravu THA derivátů s nižší toxicitou a cílící na více patofyziologických procesů AD najednou (bližší pojednání o THA a jeho derivátech je uvedeno v kapitole 3).

## 2.6.2 Antagonisté NMDAR

Memantin, odvozený od antivirotika amantadinu (**obrázek 7**), je jediným zástupcem této skupiny využívaným v terapii AD. Je tvořen třemi cyklohexanovými kruhy, na jejichž společném uhlíku je vázaná aminová skupina, která za fyziologických podmínek nese kladný náboj. Díky náboji se memantin váže přímo nebo do blízkosti iontového kanálu spojeného s NMDAR. Tímto mechanismem snižuje nadměrný influx vápenatých kationtů, který nastává při trvalé aktivaci NMDAR zvýšenou hladinou glutamátu (kapitola 2.3. Glutamátergní hypotéza) [70, 71]. Ve své struktuře má memantin na rozdíl od amantadinu dvě methylové postranní skupiny, které prodlužují dobu setrvání v iontovém kanálu NMDAR [70]. V preklinických studiích léčba memantinem dokonce vedla ke snížení hladin A $\beta$  a neurozánětlivých biomarkerů, např. aktivované mikroglie a astrocyty, které vedou k produkci cytokinů a kyslíkových radikálů [72, 73]. Memantin je schválený pro léčbu středně těžké až těžké demence a je možné ho užívat jak v monoterapii tak i v kombinaci s iAChE. FDA schválila fixní kombinaci memantinu s donepezilem pod obchodním názvem Namzaric [74, 75].



**Obrázek 7** *Struktura memantinu a jeho prekurzoru*

## 2.6.3 Monoklonální protilátky

Popsání amyloidní hypotézy dalo základ vývoji monoklonálních protilátek (mAb, z angl. monoclonal antibody). V preklinických studiích tyto látky prokázaly, že redukují hladiny A $\beta$  v mozku myši, ale výsledky klinických studií již tak úspěšné nebyly. Tato skutečnost může být zapříčiněna krátkou dobou pozorování, nesprávnou volbou subjektů či použitím nevhodné dávky. Proto byly na americký trh uvedeny pouze tři mAb

s infuzní cestou podání. I tak se ale mAb považují za zásadní pokrok v možnosti terapie AD [76–79].

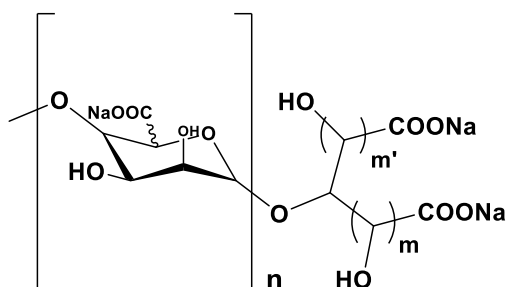
**Aducanumab** je lidská mAb imunoglobulinu gama 1 (IgG1) používaná k léčbě pacientů s mírnou kognitivní poruchou či mírným stádiem demence, která působí na rozpustné i nerozpustné agregáty A $\beta$  [80]. Získal urychlené schválení v roce 2021, ovšem v lednu tohoto roku jeho výrobce uvedl, že ukončuje produkci i probíhající klinické studie, ne z důvodu bezpečnosti či účinnosti látky, ale z důvodu změny finanční strategie firmy a zaměření se na druhou mAb lecanemab [81].

**Lecanemab** je humanizovaný IgG1, který byl schválený v roce 2023 a s výše uvedenou látkou má velmi podobný účinek i indikaci [82].

Nejnověji schválenou mAb je **donanemab**, který vstoupil na trh v červenci 2024 k léčbě mírných kognitivních poruch či raných stádií demence. Téměř u poloviny pacientů léčených donanemabem po dobu jednoho roku nebyla pozorována klinická progresse [83].

#### 2.6.4 Oligomanát sodný

Oligomanát sodný (**obrázek 8**), známý též pod zkratkou **GV-971**, je oligosacharid izolovaný z mořských řas. Byl schválen na konci roku 2019 v Číně pro léčbu mírné až středně těžké AD [84]. GV-971 funguje na zcela odlišném principu, který není dosud plně objasněn, ale předpokládá se, že cílí na střevní mikroflóru a tím tlumí periferně vyvolaný zánět [85]. Aby mohla být látka schválena v Evropské unii, musí podstoupit další studie pro potvrzení pozitivního vlivu v terapii AD [86].



oligomanát sodný = GV 971

$n = 1$ ;  $m = 0, 1, 2$ ;  $m' = 0, 1$

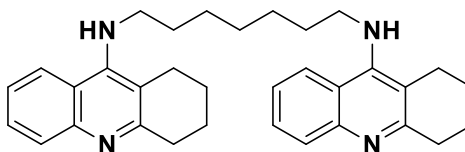
**Obrázek 8** Struktura GV-971



### 3 NÁVRH NOVÝCH SLOUČENIN 7-HETEROARYLTAKRINU

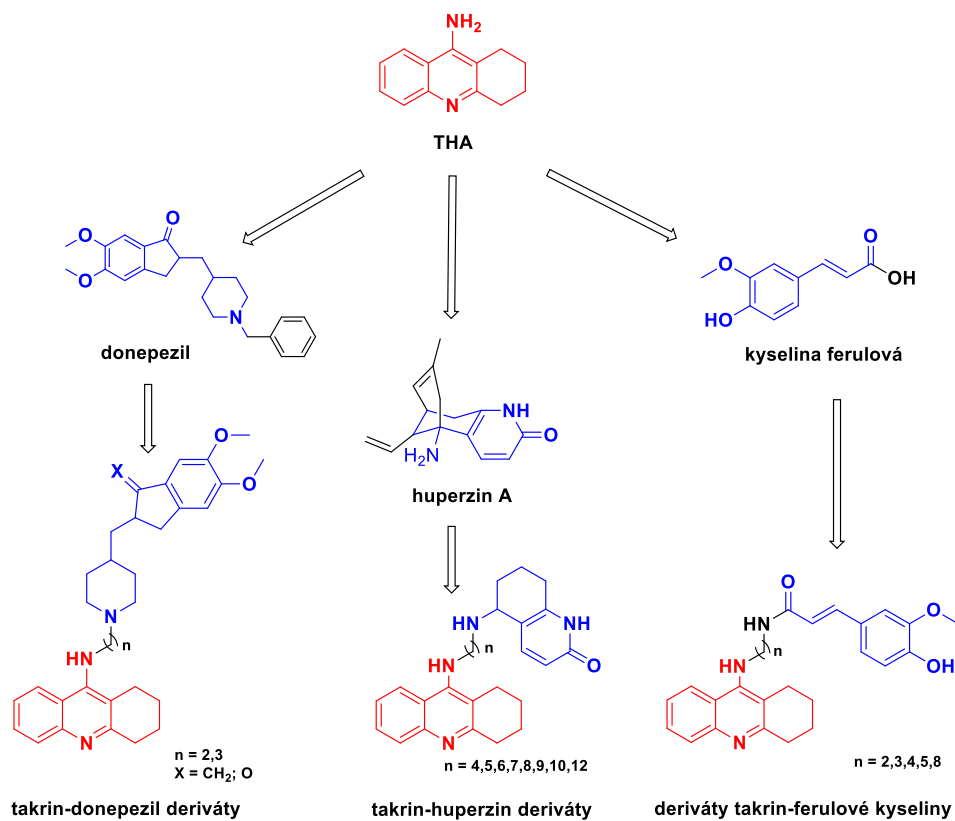
Molekula THA položila základ pro syntézu dalších derivátů, které by rozšířily potenciál této sloučeniny. Podle modifikace parentní struktury můžeme syntetizované deriváty rozdělit do tří skupin – homodimery, heterodimery a monotakrinové deriváty [87].

**Homodimery** jsou symetrické molekuly vytvořené ze dvou jednotek THA spojené různě dlouhým uhlíkovým řetězcem. Bis(7)-THA (**obrázek 9**) splňoval předpoklad pro inhibici AChE (AChE  $IC_{50}$  = 0,81 nM, BChE  $IC_{50}$  = 5,66 nM). Navíc také vykazoval modulační aktivitu k řadě dalších receptorů, jako např. NMDAR, serotoninové či receptory pro kyselinu gama-aminomáselnou [14, 15]. Ovšem jeho perorální dostupnost i rozpustnost ve vodě byly velmi nízké a míra hepatální transformace vysoká. I přes nedostatky se bis(7)-THA stal průlomovou sloučeninou pro vývoj multipotentních sloučenin, které by cílily na více patologických mechanismů zároveň [88].



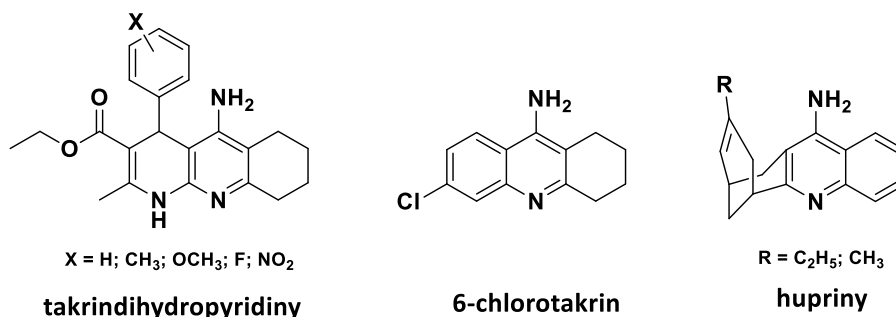
**Obrázek 9** Homodimer bis(7)-THA

**Heterodimery** patří mezi nejširší skupinu derivátů THA. Ve své struktuře spojují dvě molekuly s odlišným farmakologickým profilem. Výhodou těchto sloučenin je široké spektrum účinku s antioxidačními, protizánětlivými či  $A\beta$ -antiagregačními vlastnostmi. Mezi zástupce této skupiny patří např. deriváty takrin-donepezil, takrin-huperzin nebo takrin-ferulové kyseliny atd. (**obrázek 10**) [89].



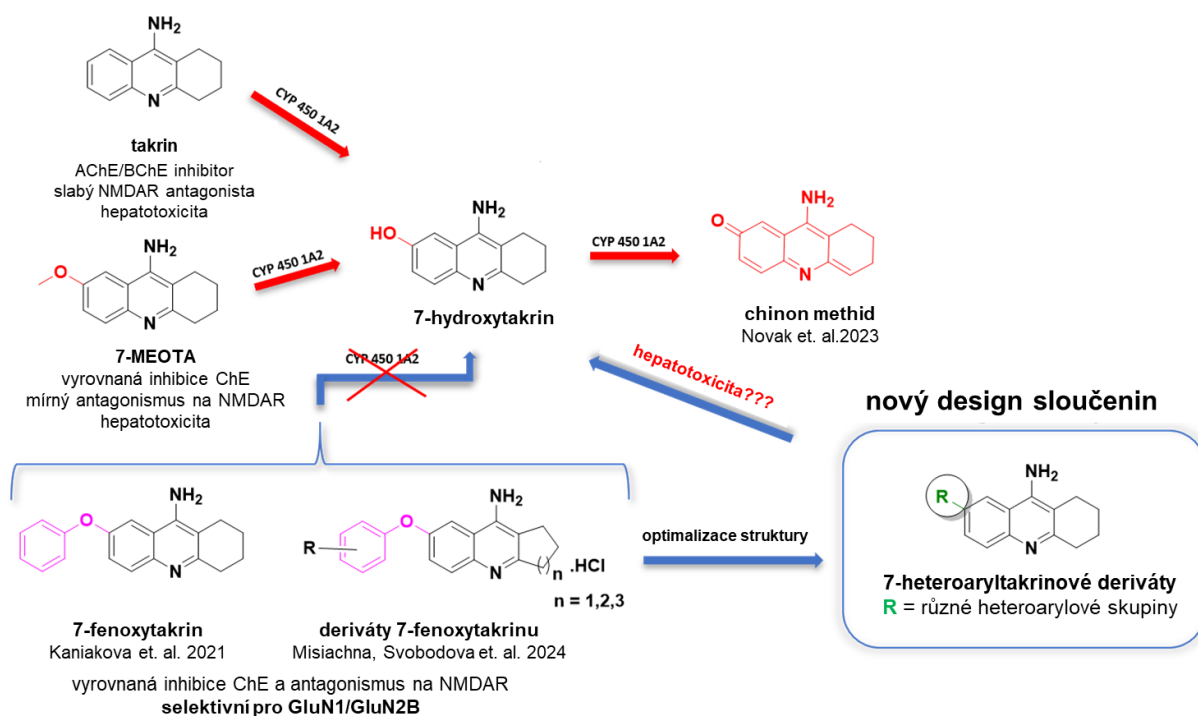
**Obrázek 10** Struktura heterodimerů, n = odlišná délka spojovacího řetězce

U **monotakrinových derivátů** je základní skelet nejčastěji modifikován v polohách šest, sedm a devět (**obrázek 11**). Studie zabývající se různou substitucí v těchto pozicích a následným porovnáním inhibiční aktivity vůči AChE, ukázala že nejvyšší afinitu vykazují deriváty, které v poloze šest mají chlor, methylovou nebo nitro skupinu. Naopak zavedení chloru do obou poloh šest, sedm nebo objemného substituentu do polohy devět snižuje inhibici AChE [90]. Jako příklad lze uvést takrindihydropyridinovou sérii, 7-methoxytakrin (AChE IC<sub>50</sub> = 10 μM, BChE IC<sub>50</sub> = 17,6 μM), dále 7-fenoxytakrin (AChE IC<sub>50</sub> = 2,4 μM, BChE IC<sub>50</sub> = 4,9 μM), 6-chlorotakrin (AChE IC<sub>50</sub> = 0,017 μM, BChE IC<sub>50</sub> = 1,7 μM) či hupriny [87].



**Obrázek 11** Struktury monotakrinových derivátů

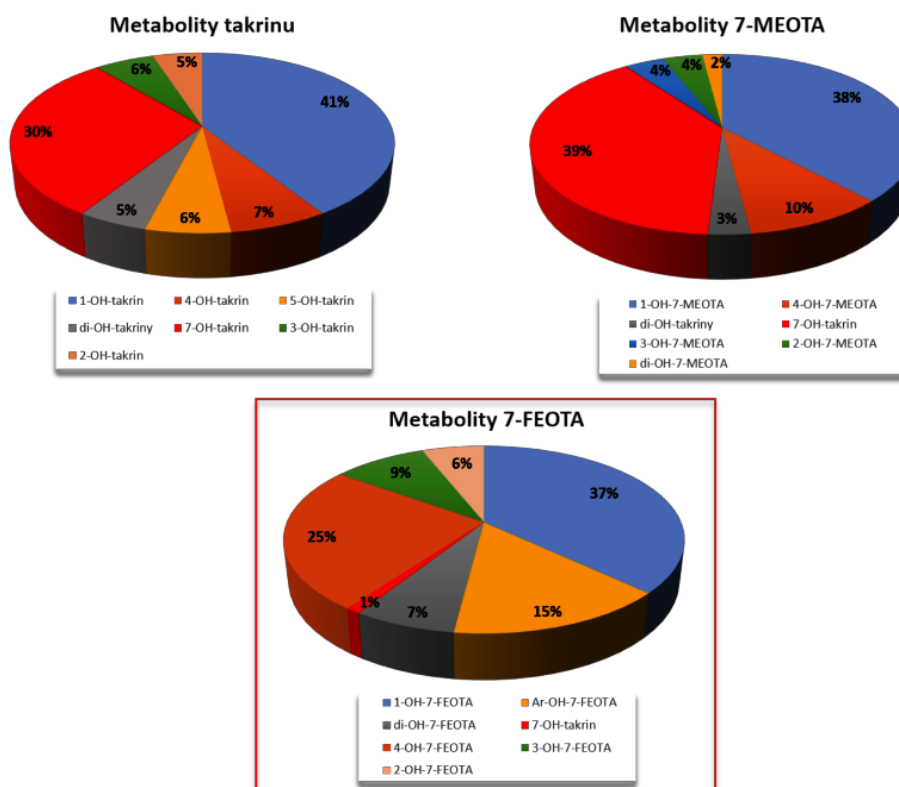
Monotakrinové deriváty, především 7-methoxytakrin (7-MEOTA) a 7-fenoxytakrin (7-FEOTA), společně s nejnovějšími poznatky o metabolizaci THA posloužily této práci jako předloha pro návrh nových sloučenin (**obrázek 12**).



**Obrázek 12** Design nových sloučenin 7-heteroaryltakrinu

7-MEOTA byl vyvinut v České republice v 70. a 80. letech 20. století s prokázaným selektivním účinkem na podjednotku GluN2A NMDAR (GluN1/GluN2A  $IC_{50} = 5 \mu M$ , GluN1/GluN2B  $IC_{50} = 7,24 \mu M$ ) i vyváženou inhibicí ChE [14, 33]. Také při stanovení excitotoxicity *in vivo* vykazoval výraznější neuroprotekcí než memantin a THA [29, 91]. Na základě předchozích studií derivátů THA byl nově navržen, syntetizován a následně *in vitro* a *in vivo* charakterizován 7-FEOTA. Tato sloučenina se vyznačuje vybalancovanou inhibicí obou ChE (AChE  $IC_{50} = 2,4 \mu M$ , BChE  $IC_{50} = 4,9 \mu M$ ) a NMDAR (GluN1/GluN2B  $IC_{50} = 1,7 \mu M$ ). 7-FEOTA disponuje specifickým mechanismem účinku na NMDAR, kde interaguje s ifenprodilovým vazebným místem a preferenčně inhibuje podjednotku GluN2B NMDAR [92]. Přímé ovlivnění této podjednotky je žádoucí vzhledem k významné roli této subpopulace NMDAR zejména při excitotoxicitě. Z farmakokinetických dat bylo dále prokázáno, že 7-FEOTA je schopen prostupu skrz HEB. Následná behaviorální studie neodhalila žádné vedlejší účinky typické pro antagonisty NMDAR (závratě, zvracení, zmatenost, bolesti hlavy, synkopy, hypertenze, únava, somnolence) [93].

Významný pokrok v metabolizaci THA a jeho derivátů objasnila studie *in vitro*, která též přispěla k návrhu nových sloučenin této práce. V biotransformaci THA hraje významnou roli podjednotka cytochromu P450 1A2. V první fázi metabolizace je THA hydroxylován na mono a dihydroxylované deriváty. Hlavními metabolity jsou 1-hydroxytakrin a 7-hydroxytakrin (7-OH-THA). 7-OH-THA je prekurzorem pro vysoce reaktivní sloučeninu chinon methid, která je zodpovědná za hepatotoxicitu THA. V druhé fázi dochází ke konjugaci 7-OH-THA s kyselinou glukuronovou a následnému vyloučení metabolitu močí [94–96]. Z výsledků studie dále vyplývá, že 7-MEOTA se metabolizuje na 7-OH-THA a to dokonce ve větší míře (39%) než samotný THA (30%) (**obrázek 13**). Naopak u 7-FEOTA je tato metabolizace zanedbatelná (1%) [94]. Společně s unikátním mechanismem účinku a dobrým bezpečnostním profilem se tak 7-FEOTA stal výchozí molekulou pro vývoj nových takrinových derivátů [97, 98].



**Obrázek 13** Procentuální zastoupení jednotlivých metabolitů u THA, 7- MEOTY a 7-FEOTY. 7-OH-THA představuje červenou část grafu, převzato z [94]

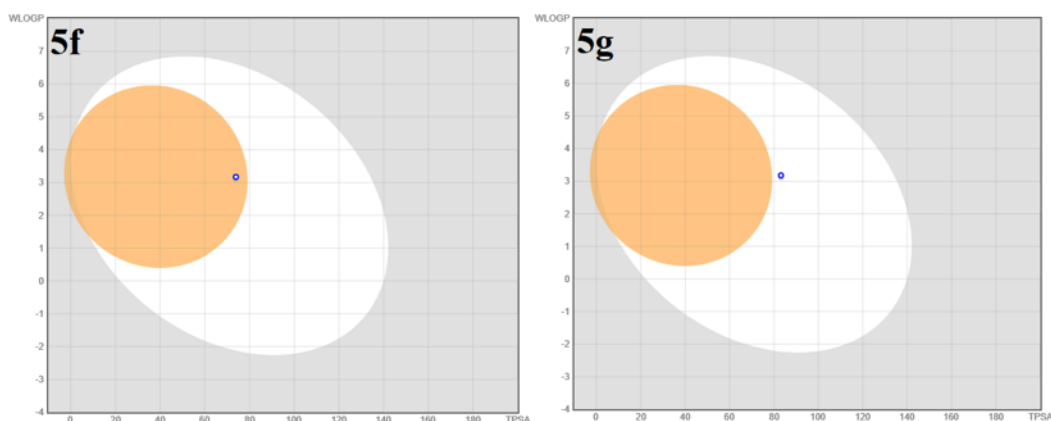
## 4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce byla syntéza nových derivátů 7-heteroaryltakrinu jako potenciálních léčiv v terapii AD s předpokladem pro inhibiční aktivitu vůči ChE a NMDAR. Nejprve byly pomocí *in silico* predikovány vlastnosti navržených sloučenin. Hlavní pozornost byla věnována ADME (absorpci, distribuci, metabolismus, exkreci) a fyzikálně-chemickým vlastnostem. Vlastní práce zahrnovala chemickou syntézu a optimalizaci reakčních podmínek s cílem navýšit výtěžek reakcí. Připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí uhlíkového a vodíkového NMR (nukleární magnetická rezonance) spektra, HRMS (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením, z angl. high resolution mass spectrometry), LC-MS (kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, z angl. liquid chromatography in tandem with mass spectrometry) a bodem tání. Dále byl vyhodnocen vztah mezi strukturou a účinkem připravených derivátů s ohledem na získané výsledky z biologického testování, které bylo prováděno kolegy z Katedry toxikologie a vojenské farmacie (VLF UO) a Centra biomedicínského výzkumu (FNHK).

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 *In silico* predikce farmakokinetických a fyzikálně-chemických vlastností

Jelikož perorální a CNS dostupnost patří mezi zásadní ukazatele při návrhu nových léčiv k terapii AD, byly tyto parametry posuzovány před samotnou syntézou látek. U nově připravených sloučenin (**5a-5s**) byly *in silico* predikovány ADME vlastnosti (absorpce, distribuce, metabolismus, exkrece) na základě strukturní nebo fyzikálně-chemické analogie. Predikce byla provedena pomocí webové stránky SwissADME za použití THA a 7-FEOTA jako referenčních látek [96, 99, 100]. K predikci gastrointestinální absorpce a prostupu přes HEB byla použita metoda BOILED-Egg (z angl. brain or intestinal estimated permeation method). Tato metoda představuje prediktivní model, který funguje na základě výpočtů lipofility a polaritity molekul [101]. Všechny sloučeniny kromě látek **5g**, **5l**, **5n** a **5q** se nacházejí ve žluté části dvojrozměrného grafu (**obrázek 14**). Tato oblast předpovídá, že u nově navržených derivátů lze očekávat dobrou vstřebatelnost v gastrointestinálním traktu i prostup skrz HEB. Dále bylo vypočítáno tzv. HEB skóre (**tabulka 1**), které zahrnuje pět fyzikálně-chemických parametrů (počet aromatických kruhů, těžkých atomů, molekulovou hmotnost, donory a akceptory vodíkových vazeb, polární povrch molekuly a pKa). U molekul vykazující HEB skóre v rozmezí 4-6 lze předvídat jejich prostup do CNS [102]. Všechny sloučeniny kromě **5c** a **5n** jejichž hodnota je < 4 by měly prostupovat do mozku. U nově navržených molekul byla stanovena dobrá rozpustnost ve vodě vyjádřená pomocí  $cLogS \geq -3$  [91]. V neposlední řadě byl aplikován screening k vyloučení tzv. PAINS (angl. pan-assay interference compounds) s negativním výsledkem pro navržené deriváty. PAINS jsou nespecificky interagující sloučeniny s celou řadou možných nežádoucích účinků. Včasné odhalení takovýchto molekul je klíčové v raných fázích vývoje léčiv [103]. Všechny deriváty s výjimkou **5c**, **5g**, **5l**, **5n** a **5q** jednoznačně vykazují přijatelný farmakokinetický profil a jsou tedy vhodnými kandidáty pro syntézu i biologické testování.



**Obrázek 14** Prediktivní model „Boiled egg“ u vybraných sloučenin **5f** a **5g**. Žlutá část značí pravděpodobnost prostupu skrz HEB, bílá oblast predikuje absorpci v gastrointestinálním traktu

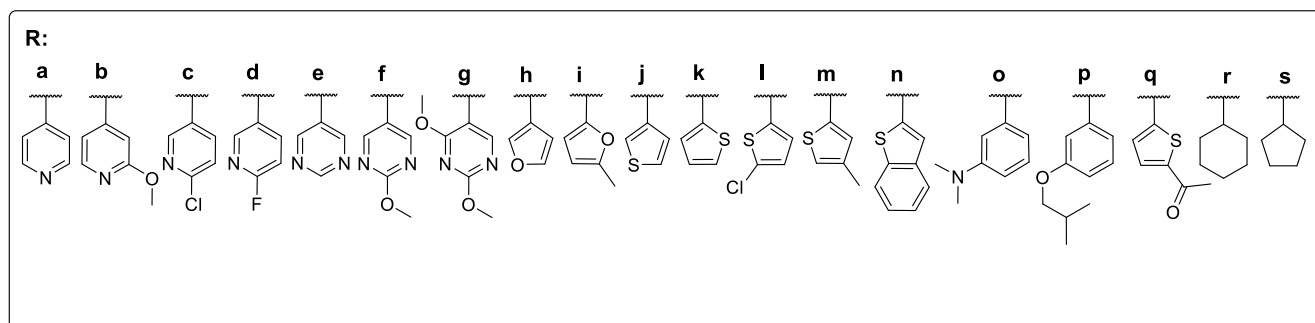
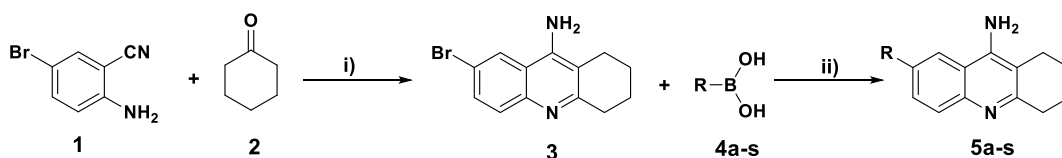
**Tabulka 1** In silico predikce sloučenin **5a-5s** s THA a 7-FEOTA jako referenčními látkami. <sup>a</sup> GIA = gastrointestinální absorpce; <sup>b</sup> HEB = vstup hematoencefalickou bariérou <sup>c</sup> ref. [102]; <sup>d</sup> ref. [104]; <sup>e</sup> Bio. Skóre = biologická dostupnost [105]; <sup>f</sup> cLogS (SILICOS-IT) = rozpustnost ve vodě; <sup>g</sup> PAINS = interferenční sloučeniny Pan-assay

Sloučenina	GIA <sup>a</sup>	HEB <sup>b</sup>	HEB skóre <sup>c</sup>	Lipinski <sup>d</sup>	Bio. Skóre <sup>e</sup>	cLogS <sup>f</sup>	PAINS <sup>g</sup>
<b>5a</b>	Vysoká	Ano	4,94	Ano	0,55	-4,81	0
<b>5b</b>	Vysoká	Ano	4,79	Ano	0,55	-4,37	0
<b>5c</b>	Vysoká	Ano	3,64	Ano	0,55	-5,60	0
<b>5d</b>	Vysoká	Ano	4,93	Ano	0,55	-5,17	0
<b>5e</b>	Vysoká	Ano	4,74	Ano	0,55	-4,41	0
<b>5f</b>	Vysoká	Ano	5,37	Ano	0,55	-3,96	0
<b>5g</b>	Vysoká	Ne	4,08	Ano	0,55	-4,25	0
<b>5h</b>	Vysoká	Ano	4,95	Ano	0,55	-4,81	0
<b>5i</b>	Vysoká	Ano	4,94	Ano	0,55	-5,15	0
<b>5j</b>	Vysoká	Ano	4,49	Ano	0,55	-5,30	0
<b>5k</b>	Vysoká	Ano	4,49	Ano	0,55	-5,32	0
<b>5l</b>	Vysoká	Ne	4,44	Ano	0,55	-6,12	0
<b>5m</b>	Vysoká	Ano	4,47	Ano	0,55	-5,62	0

<b>5n</b>	Vysoká	Ne	3,88	Ano	0,55	-5,80	0
<b>5o</b>	Vysoká	Ano	4,74	Ano	0,55	-5,69	0
<b>5p</b>	Vysoká	Ano	4,85	Ano	0,55	-6,45	0
<b>5q</b>	Vysoká	Ne	4,44	Ano	0,55	-4,75	0
<b>5r</b>	Vysoká	Ano	5,19	Ano	0,55	-5,17	0
<b>5s</b>	Vysoká	Ano	5,22	Ano	0,55	-4,76	0
<b>THA</b>	Vysoká	Ano	5,38	Ano	0,55	-4,46	0
<b>7-FEOTA</b>	Vysoká	Ano	4,61	Ano	0,55	-2,80	0

## 5.2 Chemická syntéza 7-heteroaryltakrinových derivátů

Všechny nově navržené deriváty byly syntetizovány dvou krokovou syntézou dle uvedeného schématu (**obrázek 15**).



**Obrázek 15** Schéma chemické syntézy derivátů **5a-5s**. Reakční podmínky: i)  $\text{ZnCl}_2$  (2 eq.); cyklohexanon (5 ml); MW; 5 min; 160 °C. ii)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2 eq.); bis(trifenyfosfin)palladium(II) chlorid (0,1 eq.); THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (4:1); 24 h; 75 °C.

### 5.2.1 Příprava meziprojektu 3

První krok syntézy zahrnoval Friedländerovu kondenzaci 2-amino-5-brombenzonitrilu **1** v přítomnosti cyklohexanonu **2** a Lewisovy kyseliny. Do mikrovlnné zkuševky byly vloženy komerčně dostupné výchozí látky **1** (1,0 ekv.) a **2** (5 ml). K reakční směsi byla dále přidána Lewisova kyselina v podobě chloridu zinečnatého ( $\text{ZnCl}_2$ ) (2,0



ekv.). Reakce probíhala za mikrovlnných podmínek (100 W, 300 PSI, 160 °C) po dobu 5 minut. Konec reakce byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC; z angl. thin layer chromatography). Po dokončení reakce byla reakční směs třikrát extrahována mezi 2M roztok hydroxidu sodného (NaOH) a dichlormethan (DCM; 3 × 100 ml). Organické fáze byly po vytřepání spojeny a vysušeny pomocí bezvodého síranu sodného (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Reakční směs byla přefiltrována. Surový meziprodukt **3** byl přečištěn pomocí flash chromatografie s mobilní fází DCM : methanol (MeOH) : 25% vodný amoniak (NH<sub>3</sub>) v poměru 20 : 1 : 0,1. Získaný meziprodukt **3** byl získán ve formě volné baze ve výtěžku 92%.

### 5.2.2 Příprava produktů 5a-5s

V druhém kroku byl použit Suzukiho coupling neboli palladiem katalyzovaná reakce mezi substituovanými boronovými kyselinami **4a-4s** a 7-bromtakrinem **3**. Do 100 ml baňky byl navážen meziprodukt **3** (1,0 ekv.), příslušná boronová kyselina **4a-4s**, uhličitán sodný (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 2,0 ekv.) a bis(trifenylfosfin)palladium(II) chlorid (0,1 ekv.). Poté byl přidán tetrahydrofuran a voda v poměru 4 : 1. Reakční směs byla míchána pod argonovou atmosférou při 75°C po dobu 24 hodin. Po skončení reakce, která byla monitorována pomocí TLC, byla reakční směs zchlazena na laboratorní teplotu. U látek **5c**, **5g** a **5l** byla i po uplynutí reakční doby pozorována přítomnost meziprodukt **3**, a proto bylo do těchto reakčních směsí přidáno další množství katalyzátoru (0,1 ekv.) a prodloužen čas reakce (48 hodin). Reakce derivátů **5r** a **5s** podle TLC nevykazovala žádnou změnu ani po navýšení množství katalyzátoru či doby reakce. Pravděpodobně z důvodu substituce THA alicyklickými uhlovodíky, které měli nedostatečnou objemnost a nenasycenost kruhů. Následně byla provedena extrakce za použití 2M NaOH a ethylacetátu (EA; 3x 100 ml). Organické fáze byly po vytřepání spojeny a vysušeny bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Reakční směs byla zfiltrována. Vzniklé substituované deriváty **5a-5q** byly přečištěny pomocí flash chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita kombinace DCM : MeOH : 25% NH<sub>3</sub> v poměru 9 : 1 : 0,1, ve které vykazovala reakční směs dobré separační vlastnosti produktu od dalších nečistot. Následně byly všechny výsledné produkty rozpuštěny v MeOH. K tomuto roztoku bylo za chlazení přidáno 5 kapek kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 30 minut. Po uplynutí reakční doby bylo rozpouštědlo odpařeno a následně

byla 3x provedena na vakuové odparce azeotropická destilace s absolutním ethanollem. U vzniklých derivátů ve formě hydrochloridových solí byla opět změřena čistota s požadavkem na hodnotu  $\geq 95\%$ . U sloučenin **5b**, **5f**, **5g**, **5n** a **5q** byla zjištěna nestabilita v kyselém prostředí, jelikož čistota uvedených látek klesla na 30-70% (příslušné substituenty těchto látek vyznačeny v tabulce růžově). Jejich rozkladné produkty ovšem nebyly analyzovány. Proto byly tyto deriváty připraveny znovu a ponechány ve formě volných bazí (**tabulka 2**). Sloučenina **5q** byla nakonec z testování vyřazena úplně kvůli nestabilitě jak ve formě soli tak i baze. Z navržených 19 molekul bylo 16 finálních derivátů ve výtěžcích 12 – 70 % charakterizováno pomocí dostupných analytických metod (viz kapitola 7.1).

**Tabulka 2** Souhrnný přehled finálních derivátů a jejich forem

<b>5a</b>	 HCl	<b>5h</b>	 HCl	<b>5o</b>	 HCl
<b>5b</b>	 HCl	<b>5i</b>	 HCl	<b>5p</b>	 HCl
<b>5c</b>	 HCl	<b>5j</b>	 HCl	<b>5q</b>	 HCl
<b>5d</b>	 HCl	<b>5k</b>	 HCl	<b>5r</b>	 HCl
<b>5e</b>	 HCl	<b>5l</b>	 HCl	<b>5s</b>	 HCl
<b>5f</b>	 HCl	<b>5m</b>	 HCl		
<b>5g</b>	 HCl	<b>5n</b>	 HCl		

## 5.3 Biologické testování

### 5.3.1 Stanovení inhibiční aktivity enzymů AChE a BChE *in vitro*

U všech nově syntetizovaných 7-heteroaryltakrinových derivátů **5a-5p** byla testována inhibiční aktivita vůči lidské AChE a BChE. Poměrně dobrých výsledků dosáhly sloučeniny **5c**, **5l**, **5m** a **5n** jejichž hodnoty  $IC_{50}$  (polovina maximální inhibiční koncentrace) pro AChE i BChE byly téměř shodné s inhibiční aktivitou THA (**tabulka 3**). V porovnání s 7-FEOTOU byly tyto deriváty dokonce o jeden řád účinnější. Nejlepší hodnotu  $IC_{50}$  pro AChE vykazovala látka **5i** substituovaná v poloze sedm parentní sloučeniny 5-methylfuran-2-ylovým cyklem a pro BChE látka **5m** substituovaná 4-methylthiofen-2-ylem. Zvolená metodika měření je popsána v literatuře [106–108].

**Tabulka 3** Výsledky měření inhibiční aktivity sloučenin **5a-5p** vůči lidské AChE a BChE

Sloučenina	<i>h</i> AChE $IC_{50} \pm SEM$ ( $\mu$ M)	<i>h</i> BChE $IC_{50} \pm SEM$ ( $\mu$ M)
<b>5a</b>	1,179 $\pm$ 0,097	1,857 $\pm$ 0,748
<b>5b</b>	0,677 $\pm$ 0,032	0,614 $\pm$ 0,023
<b>5c</b>	0,287 $\pm$ 0,016	0,343 $\pm$ 0,023
<b>5d</b>	0,900 $\pm$ 0,033	0,857 $\pm$ 0,063
<b>5e</b>	0,985 $\pm$ 0,036	0,857 $\pm$ 0,063
<b>5f</b>	0,603 $\pm$ 0,034	1,956 $\pm$ 0,106
<b>5g</b>	0,914 $\pm$ 0,070	2,475 $\pm$ 0,173
<b>5h</b>	1,646 $\pm$ 0,136	1,171 $\pm$ 0,074
<b>5i</b>	<b>0,160 <math>\pm</math> 0,009</b>	0,563 $\pm$ 0,020
<b>5j</b>	0,444 $\pm$ 0,015	0,205 $\pm$ 0,003
<b>5k</b>	0,948 $\pm$ 0,065	0,521 $\pm$ 0,014
<b>5l</b>	0,370 $\pm$ 0,013	0,207 $\pm$ 0,003
<b>5m</b>	0,334 $\pm$ 0,008	<b>0,165 <math>\pm</math> 0,004</b>
<b>5n</b>	0,359 $\pm$ 0,019	0,577 $\pm$ 0,018
<b>5o</b>	0,948 $\pm$ 0,026	0,487 $\pm$ 0,003
<b>5p</b>	0,625 $\pm$ 0,050	0,653 $\pm$ 0,040
<b>THA</b>	0,320 $\pm$ 0,010	0,220 $\pm$ 0,010
<b>7-FEOTA</b>	2,400 $\pm$ 1,800	4,900 $\pm$ 3,300

### 5.3.2 Predikce prostupnosti HEB

U nově připravených derivátů byla predikována průchodnost přes HEB za použití metody PAMPA (z angl. The parallel artificial membrane permeability assay) přes umělou semipermeabilní membránu. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v **tabulce 4**, kde ve spodní části jsou zobrazeny standardy, jejichž prostupnost je experimentálně známá za podmínek *in vivo* [109–112]. Většina látek disponuje vysokou pravděpodobností prostupu pasivní difúzí přes HEB, nejlépe však deriváty substituované v poloze sedm THA skeletu 1-benzothiofen-2-ylem (**5n**) a 3-(2-methylpropoxy)fenylem (**5p**). Výjimku tvoří látky **5h**, **5i** a **5m**, u kterých nelze prostupnost s jistotou predikovat. Společným rysem těchto derivátů je modifikace molekuly THA pětičlenným heteroaromatickým kruhem, **5h** a **5i** obsahují ve své struktuře furanové jádro a látka **5m** thiofenovou skupinu.

**Tabulka 4** Výsledky stanovení prostupu přes HEB u derivátů **5a-5p**

Sloučenina	$Pe \pm SEM$ ( $\times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1}$ )	Prostupnost přes HEB
<b>5a</b>	5,62 $\pm$ 1,43	+
<b>5b</b>	9,96 $\pm$ 1,31	+
<b>5c</b>	8,75 $\pm$ 0,15	+
<b>5d</b>	5,00 $\pm$ 1,42	+
<b>5e</b>	7,20 $\pm$ 0,64	+
<b>5f</b>	7,98 $\pm$ 0,96	+
<b>5g</b>	8,81 $\pm$ 1,14	+
<b>5h</b>	3,45 $\pm$ 0,32	+/-
<b>5i</b>	3,09 $\pm$ 0,13	+/-
<b>5j</b>	6,42 $\pm$ 1,54	+
<b>5k</b>	5,31 $\pm$ 1,35	+
<b>5l</b>	6,99 $\pm$ 1,81	+
<b>5m</b>	3,99 $\pm$ 2,05	+/-
<b>5n</b>	<b>19,8 <math>\pm</math> 3,56</b>	+
<b>5o</b>	4,50 $\pm$ 0,72	+

<b>5p</b>	<b>16,2 ± 1,88</b>	<b>+</b>
<b>THA</b>	5,90 ± 0,67	+
<b>Donepezil</b>	21,9 ± 2,06	+
<b>Rivastigmin</b>	18,7 ± 2,03	+
<b>Ibuprofen</b>	18,0 ± 4,32	+
<b>Chlorothiazid</b>	1,14 ± 0,54	-
<b>Furosemid</b>	0,19 ± 0,07	-
<b>Ranitidin</b>	0,04 ± 0,02	-
<b>Sulfasalazin</b>	0,09 ± 0,05	-

+ (predikovaná vysoká prostupnosť):  $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1}) > 4,0$   
 - (predikovaná nízka prostupnosť):  $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1}) < 2,0$   
 +/- (predikovaná prostupnosť nejistá):  $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1})$  od 2 do 4

### 5.3.3 Antiproliferativní vlastnosti *in vitro*

Cytotoxický profil byl u finálních produktů **5a-5p** stanoven na lidské buněčné linii HepG2 pomocí MTT (z chemického názvu 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid) testu. Cytotoxicita byla vyjádřena jako hodnota IC<sub>50</sub>, která byla vypočítána nelineární regresí v počítačovém programu GraphPadPrism [113]. Hodnoty IC<sub>50</sub> nasyntetizovaných látek se pohybovaly v rozmezí 2,71 – 26,54 μM. Jako nejméně toxické deriváty se jevíly sloučeniny substituované pyridinem a pyrimidinem v poloze sedm takrinového skeletu, tedy **5a** a **5e** (**tabulka 5**). Nicméně v porovnání s referenční sloučeninou THA vykazují všechny připravené sloučeniny vyšší toxicitu.

**Tabulka 5** Antiproliferativní aktivita derivátů **5a-5p**

Sloučenina	IC <sub>50</sub> ± SEM (μM) <sup>a</sup>
<b>5a</b>	<b>15,19 ± 0,64</b>
<b>5b</b>	7,41 ± 0,36
<b>5e</b>	<b>26,54 ± 0,41</b>
<b>5h</b>	7,83 ± 0,49
<b>5j</b>	7,40 ± 0,24
<b>THA</b>	168,5 ± 3,6

<sup>a</sup> Data byla získána z alespoň ze čtyř nezávislých měření provedených v triplicátech. Hodnota IC<sub>50</sub> vyjádřena jako průměr ± SEM

### 5.3.4 Stanovení relativní inhibiční aktivity NMDAR *in vitro*

Na základě stanovení inhibiční aktivity vůči ChE, predikce prostupnosti HEB a antiproliferativních vlastností, byly vyselektovány čtyři nejlepší deriváty **5a**, **5e**, **5i** a **5m** (**tabulka 6**), u kterých byl zkoumán antagonistický účinek vůči NMDAR konkrétně na lidské podjednotce GluN1-1a/GluN2B. Testování probíhalo při koncentraci 10 μM uvedených sloučenin v přítomnosti agonisty glutamátu (1mM) a koagonisty glycinu (100 μM). Jako referenční látky byly použity memantin a 7-MEOTA. Aktivita na NMDAR je vyjádřena jako relativní inhibice (RI), tedy jako procentuální míra, jakou daná sloučenina inhibuje receptor. Všechny měřené látky vykazovaly větší míru inhibiční aktivity NMDAR než 7-MEOTA, ale zároveň menší aktivitu než memantin. Nejlépe ovšem

NMDAR inhibovaly deriváty **5i**, **5m** a to z více než 80 %. Metodika, jakou byla data měřena, je popsána v literatuře [114–116].

**Tabulka 6** Výsledky relativní inhibice (RI %) na NMDAR

Sloučenina (10 $\mu$ M)	RI, % $\pm$ SEM <sup>a</sup> (n = 8-10)
<b>5a</b>	60,14 $\pm$ 1,73
<b>5e</b>	61,22 $\pm$ 3,10
<b>5i</b>	<b>85,18 <math>\pm</math> 1,94</b>
<b>5m</b>	<b>87,11 <math>\pm</math> 2,23</b>
<b>Memantin</b>	94,63 $\pm$ 1,07
<b>7-MEOTA</b>	59,98 $\pm$ 2,04

Podjednotka GluN1/GluN2B, -60 mV, 100% = plná inhibice; <sup>a</sup> střední chyba průměru, n = počet měření

## 6 ZÁVĚR

AD je progresivní neurodegenerativní onemocnění, které je hlavní příčinou demence u starších jedinců. Navzdory intenzivnímu výzkumu stále neexistuje dostatečně efektivní léčba, která by byla schopna zastavit nebo významně zpomalit progresi tohoto onemocnění. Jedním z možných přístupů v terapii AD je využití molekuly THA, která byla prvním schváleným iChE. I když byl THA stažen z trhu kvůli závažným nežádoucím účinkům, jeho struktura a mechanismus účinku položily základ pro vývoj nových derivátů s lepším bezpečnostním profilem a účinností.

Cílem předložené diplomové práce byla syntéza nových takrinových derivátů jako potenciálních terapeutik v léčbě AD. Předlohou pro nově navržené molekuly se stala molekula 7-FEOTA, zejména díky vyvážené inhibici ChE i NMDAR a absenci toxických projevů. Celkem bylo připraveno **16** derivátů s modifikací THA v poloze sedm. Nově navržené sloučeniny kromě **5g**, **5l** a **5n** se *in silico* vyznačovaly vysokou perorální biologickou dostupností, optimální absorpcí a distribucí přes HEB a nespádaly do kategorie PAINS. Dvou krokovou syntézou byla připravena série nových 7-heteroaryl takrinových derivátů s výtěžností 12–70 %. Výsledné produkty byly následně převedeny na hydrochloridové soli. Sloučeniny **5b**, **5f**, **5g**, **5n** byly ponechány ve formě bazí z důvodu nestability látek v kyselém prostředí. Deriváty byly charakterizovány pomocí uhlíkového a vodíkového NMR spektra, HRMS s požadovanou čistotou minimálně 95 %, LC-MS a bodu tání. Následně byly všechny sloučeniny testovány *in vitro* na inhibiční aktivitu vůči lidské AChE a BChE, kde se jako nejúčinnější deriváty jevíly **5i** a **5m**. Dle predikce přestupu HEB všechny látky mohou v určité míře do mozku prostupovat, s výjimkou **5h**, **5i**, **5m**, u kterých je predikce nejasná. U sloučenin také byla stanovena míra antiproliferativního účinku na HepG2 buňkách. Nejnižší cytotoxicitu vykazovaly deriváty **5a** a **5e**, avšak v porovnání s THA jsou stále více cytotoxické. Nakonec byly vyselektovány čtyři nejúčinnější deriváty, a to **5a**, **5e**, **5i** a **5m**, u kterých byla změřena relativní inhibice vůči NMDAR. Při koncentraci 10  $\mu$ M nejlépe tento receptor inhibovala látka **5i** a **5m**. Dále budou vybrané deriváty testovány na mikrosomální stabilitu k ověření, do jaké míry dochází k tvorbě 7-OH-THA jakožto prekurzoru chinon methidu. U nejlepších sloučenin v rámci série bude také stanoven farmakokinetický profil *in vivo*.



Závěrem lze říct, že vývoj nových léčiv proti AD je komplexní a dlouhodobý proces, který vyžaduje multidisciplinární přístup a neustálou inovaci. Výsledky této práce přispívají k dalšímu vývoji potenciálních léčiv proti tomuto onemocnění a otevírají nové směry pro budoucí výzkum s cílem minimalizovat toxicitu a maximalizovat terapeutický potenciál vzniklých sloučenin.

## 7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Použitá chemická rozpouštědla a činidla byla pořízena od firmy Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika) nebo FluoroChem (Hadfield, Velká Británie) v nejvyšší dostupné čistotě bez dalšího čištění. Průběh reakcí jsme sledovali pomocí TLC metody na silikagelových deskách (60 F254, Merck, Praha, Česká republika) a vizualizace skvrn probíhala pomocí ultrafialového světla (254 nm). Pomocí kolon naplněných silikagelem (silikagel 100; 0,063-0,200 mm; 70-230 mesh ASTM, Fluka, Praha, Česká republika) a PuriFlash GEN5 kolon, 5,250 (Interchim, Montluçon, Francie) (silikagel 100, 60 Å, 230–400 mesh ASTM, Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) jsme čistili finální produkty do požadované čistoty. NMR spektra byla zaznamenána v deuterovaném methanolu, deuterovaném chloroformu a deuterovaném dimethylsulfoxidu (DMSO-d<sub>6</sub>) na spektrometru Bruker Avance NEO 500 MHz (499,87 MHz pro <sup>1</sup>H NMR a 125,71 MHz pro <sup>13</sup>C NMR). Chemické posuny ( $\delta$ ) jsou uvedeny v částech na miliony (ppm) a multiplicita spinů je uvedena jako široký singlet (bs), dublet (d), dublet dubletu (dd), triplet (t), kvartet (q), pentet (p) nebo multiplet (m). Interakční konstanty (J) jsou uvedeny v jednotkách Hz. Syntetizované sloučeniny byly analyzovány pomocí LC-MS systému sestávajícího z ultra vysoce účinné kapalinové chromatografie, Dionex Ultimate 3000 RS spojeného s Q Exactive Plus hmotnostním spektrometrem pro získání hmotnostních spekter s vysokým rozlišením (Thermo Fisher Scientific, Brémy, Německo). Nakonec byly změřeny teploty tání pomocí automatického zapisovače teploty tání M-565 (Buchi, Švýcarsko).

### 7.1 Charakterizace meziprojektu 3 a produktů 5a-5p

#### **7-(bromo)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin (3)**

Výtěžek: 92 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: > 255 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>):  $\delta$  8,27 (t, *J* = 1,4 Hz, 1H); 7,61 (d, *J* = 1,6 Hz, 2H); 2,90 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 2,60 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H); 1,97 – 1,87 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>):  $\delta$  158,00; 148,63; 144,31; 131,55; 128,13; 123,80; 118,21; 116,29; 110,02; 32,71; 23,29; 22,36; 22,33 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>BrN<sub>2</sub><sup>+</sup> (*m/z*): 277,0335; nalezeno 277,0334. LC-UV čistota 99%.

### **7-(pyridin-4-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5a)**

Výtěžek: 70 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 196,0 – 197,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 14,14 (s, 1H); 9,48 (bs, 1H); 9,35 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 9,02 – 8,98 (m, 2H); 8,53 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H); 8,50 (dd, *J* = 9,0; 1,9 Hz, 1H); 8,37 (bs, 1H); 8,10 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H); 3,02 (t, 2H); 2,58 (t, 2H); 1,93 – 1,82 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 156,40; 152,68; 144,62; 138,73; 131,80; 131,73; 124,47; 123,72; 120,73; 115,46; 110,57; 104,77; 99,53; 76,25; 28,31; 23,09; 21,42; 20,91 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub><sup>+</sup> (*m/z*): 276,1496; nalezeno 276,1488. LC-UV čistota 97%.

### **7-(2-methoxypyridin-4-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin (5b)**

Výtěžek: 41 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: 182,5 – 183,7 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,60 (dd, *J* = 2,6; 0,7 Hz, 1H); 8,40 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 8,12 (dd, *J* = 8,6; 2,6 Hz, 1H); 7,77 (dd, *J* = 8,7; 2,0 Hz, 1H); 7,63 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H); 6,88 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 2,77 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 2,51 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H); 1,81 – 1,69 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 163,32; 157,97; 148,83; 146,07; 145,20; 138,00; 131,45; 129,69; 129,08; 126,74; 119,47; 117,67; 110,94; 109,74; 53,72; 34,00; 24,18; 23,10; 22,99 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (*m/z*): 306,1601; nalezeno 306,1593. LC-UV čistota 99%.

### **7-(6-chloropyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5c)**

Výtěžek: 32 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 181,5 – 182,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13,98 (s, 1H); 9,14 (bs, 1H); 8,97 (dd, *J* = 6,0; 2,3 Hz, 2H); 8,40 (dd, *J* = 8,4; 2,7 Hz, 1H); 8,29 (dd, *J* = 8,9; 1,9 Hz, 1H); 8,20 (bs, 1H); 8,01 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,71 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H); 3,00 (t, 2H); 2,57 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 1,91 – 1,81 (m, 5H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,96; 151,98; 150,32; 148,54; 138,33; 137,27; 133,74; 132,91; 131,62; 124,94; 121,88; 120,41; 115,51; 110,02; 28,24; 23,07; 21,46; 20,96 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>3</sub><sup>+</sup> (*m/z*): 310,1106; nalezeno 310,1097. LC-UV čistota 95%.

### **7-(6-fluoropyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5d)**

Výtěžek: 49 %. Žlutá krystalická látka; bod tání: 152,0 – 153,5 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 14,09 (s, 1H); 9,14 (bs, 1H); 8,93 (t, *J* = 2,0 Hz, 1H); 8,78 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H);

8,53 (ddd,  $J = 8,7; 7,8; 2,7$  Hz, 1H); 8,24 (dd,  $J = 8,9; 1,8$  Hz, 1H); 8,17 (bs, 1H); 8,01 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H); 7,37 (dd,  $J = 8,6; 2,8$  Hz, 1H); 3,01 (t,  $J = 6,1$  Hz, 2H); 2,54 (t, 2H); 1,91 – 1,81 (m, 4H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO):  $\delta$  163.31 (d,  $J = 236.8$  Hz), 155.87, 151.80, 146.29 (d,  $J = 15.4$  Hz), 140.99 (d,  $J = 8.0$  Hz), 137.07, 133.06, 132.91 (d,  $J = 4.4$  Hz), 131.54, 121.62, 120.30, 115.47, 110.24 (d,  $J = 37.7$  Hz), 109.86, 28.20, 23.06, 21.47, 20.95 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : vypočítáno pro  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{FN}_3^+$  ( $m/z$ ): 294,1402; nalezeno 294,1402. LC-UV čistota 97%.

#### **7-(pyrimidin-5-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5e)**

Výtěžek: 28 %. White crystalline powder; melting point: 214,0 – 214,8 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  14,15 (bs, 1H); 9,39 (s, 2H); 9,24 (s, 1H); 9,06 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H); 8,33 (dd,  $J = 8,8; 1,9$  Hz, 1H); 8,04 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H); 3,00 (t,  $J = 5,6$  Hz, 2H); 2,54 (t,  $J = 5,8$  Hz, 2H); 1,90 – 1,81 (m, 4H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  158,00; 155,91; 155,39; 152,06; 137,46; 132,08; 131,28; 130,96; 122,17; 120,47; 115,50; 110,03; 56,48; 28,22; 23,06; 21,45; 20,93 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : vypočítáno pro  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_4^+$  ( $m/z$ ): 277,1448; nalezeno 277,1440. LC-UV čistota 95%.

#### **7-(2-methoxypyrimidin-5-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin (5f)**

Výtěžek: 24 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 263,0 – 265,0 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  8,95 (s, 2H); 8,33 – 8,29 (m, 1H); 7,84 – 7,79 (m, 2H); 4,07 (s, 3H); 2,93 (t,  $J = 6,1$  Hz, 2H); 2,63 (t,  $J = 6,3$  Hz, 2H); 1,98 – 1,87 (m, 4H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  164,57; 158,09; 157,19; 149,63; 145,41; 128,84; 128,13; 127,45; 126,57; 118,97; 117,18; 109,83; 54,25; 48,45; 32,79; 23,34; 22,45; 22,41 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>):  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : vypočítáno pro  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}^+$  ( $m/z$ ): 307,1554; nalezeno 307,1548. LC-UV čistota 95%.

#### **7-(2,4-dimethoxypyrimidin-5-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin (5g)**

Výtěžek: 28 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 90,1 – 91,3 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.48 (s, 1H), 8.27 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.70 – 7.62 (m, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 2.84 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.56 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 1.88 – 1.74 (m, 4H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  168,16; 164,45; 158,47; 158,13; 148,71; 146,06; 129,33; 128,08; 127,77; 122,16; 117,37; 116,17; 109,66; 55,05; 54,49; 34,03; 24,15; 23,10; 23,00 ppm;

HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> (m/z): 337,1660; nalezeno 337,1650.  
LC-UV čistota 99%.

#### **7-(furan-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5h)**

Výtěžek: 30 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 130,0 – 132,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13,82 (bs, 1H); 8,81 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); 8,40 (dd, *J* = 1,5; 0,9 Hz, 1H); 8,14 (dd, *J* = 8,8; 1,8 Hz, 1H); 7,89 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,83 (t, *J* = 1,7 Hz, 1H); 7,25 (dd, *J* = 1,9; 0,9 Hz, 1H); 2,98 (t, 2H); 2,55 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H); 1,89 – 1,79 (m, 5H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,65; 151,26; 145,19; 140,88; 136,40; 131,04; 129,83; 125,45; 119,97; 119,60; 109,71; 109,19; 56,48; 23,08; 21,51; 21,00; 19,03 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sup>+</sup> (m/z): 265,1336; nalezeno 265,1328. LC-UV čistota 97%.

#### **7-(5-methylfuran-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5i)**

Výtěžek: 39 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 214,0 – 215,7 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 14,01 (bs, 1H); 8,77 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H); 8,10 (dd, *J* = 8,9; 1,7 Hz, 1H); 7,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,09 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H); 6,28 (dd, *J* = 3,3; 1,2 Hz, 1H); 2,97 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H); 2,54 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H); 2,39 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H); 1,88 – 1,77 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,57; 153,13; 151,19; 150,85; 136,30; 128,55; 128,23; 120,16; 116,91; 115,62; 109,73; 109,17; 109,13; 28,15; 23,08; 21,52; 20,98; 19,03; 14,05 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sup>+</sup> (m/z): 279,1492; nalezeno 279,1484. LC-UV čistota 99%.

#### **7-(thiofen-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5j)**

Výtěžek: 44 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 125,0 – 127,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13,91 (bs, 1H); 8,91 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H); 8,26 (dd, *J* = 8,8; 1,8 Hz, 1H); 8,17 (dd, *J* = 2,9; 1,3 Hz, 1H); 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,87 (dd, *J* = 5,1; 1,4 Hz, 1H); 7,73 (dd, *J* = 5,0; 2,9 Hz, 1H); 2,97 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H); 2,55 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 1,88 – 1,79 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,79; 151,30; 140,46; 136,49; 132,67; 131,51; 127,97; 126,86; 122,84; 120,16; 120,03; 115,59; 109,67; 28,17; 23,08; 21,52; 20,99 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (m/z): 281,1107; nalezeno 281,1099. LC-UV čistota 99%.

#### **7-(thiofen-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5k)**

Výtěžek: 19 %. Světle hnědý krystalický prášek; bod tání: 180,0 – 182,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13,85 (bs, 1H); 8,81 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 8,14 (dd, *J* = 8,8; 1,9 Hz, 1H); 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,79 (dd, *J* = 3,6; 1,2 Hz, 1H); 7,67 (dd, *J* = 5,0; 1,2 Hz, 1H); 7,22 (dd, *J* = 5,1; 3,6 Hz, 1H); 2,98 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H); 2,56 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 1,90 – 1,81 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,71; 151,48; 142,34; 136,66; 131,63; 131,10; 129,20; 127,43; 125,73; 120,43; 119,30; 115,64; 109,94; 28,20; 23,11; 21,50; 20,98 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (m/z): 281,1107; nalezeno 281,1100. LC-UV čistota 99%.

#### **7-(5-chlorothiolen-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5l)**

Výtěžek: 12 %. Světle hnědý krystalický prášek; bod tání: > 285 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13,92 (bs, 1H); 8,75 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 8,07 (dd, *J* = 8,8; 1,9 Hz, 1H); 7,92 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H); 7,66 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H); 7,24 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H); 2,97 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H); 2,54 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 1,89 – 1,80 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,68; 151,60; 141,33; 136,86; 130,48; 130,43; 128,95; 128,91; 125,43; 120,50; 119,42; 115,55; 110,04; 28,19; 23,10; 21,47; 20,95 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (m/z): 315,0718; nalezeno 315,0708. LC-UV čistota 95%.

#### **7-(4-methylthiofen-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5m)**

Výtěžek: 31 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 156,0 – 158,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13,95 (bs, 1H); 8,75 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 8,07 (dd, *J* = 8,8; 1,9 Hz, 1H); 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,62 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H); 7,23 (t, *J* = 1,3 Hz, 1H); 2,97 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 2,55 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H); 2,27 (d, *J* = 1,2 Hz, 3H); 1,89 – 1,80 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 155,63; 151,40; 141,94; 139,08; 136,59; 131,70; 130,77; 127,79; 122,52; 120,37; 118,95; 115,61; 109,86; 28,18; 23,10; 21,50; 20,98; 16,03 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (m/z): 295,1264; nalezeno 295,1256. LC-UV čistota 98%.

#### **7-(1-benzothiolen-2-yl)-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin (5n)**

Výtěžek: 32 %. Světle hnědý krystalický prášek; bod tání: 233,0 – 235,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,60 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 8,00 – 7,94 (m, 2H); 7,89 – 7,83 (m, 2H); 7,70 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H); 7,43 – 7,31 (m, 2H); 2,84 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H); 2,58 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H); 1,88 – 1,78 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 158,55; 148,90; 146,80; 144,44;

141,06; 139,14; 129,38; 128,22; 126,56; 125,27; 124,89; 123,95; 122,89; 120,09; 119,84; 117,58; 110,13; 34,10; 24,20; 23,07; 22,96 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>S<sup>+</sup> (m/z): 331,1264; nalezeno 331,1255. LC-UV čistota 98%.

#### **7-[3-(dimethylamino)fenyl]-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5o)**

Výtěžek: 48 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 114,0 - 116,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,40 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 7,83 (dd, *J* = 8,7; 2,0 Hz, 1H); 7,69 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,28 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,12 – 7,05 (m, 2H); 6,73 (dd, *J* = 8,2; 2,4 Hz, 1H); 2,98 (s, 6H); 2,84 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H); 2,57 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H); 1,87 – 1,78 (m, 4H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 157,56; 151,41; 149,11; 145,84; 141,27; 135,86; 129,79; 128,44; 127,78; 119,83; 117,49; 115,67; 111,91; 111,42; 109,60; 40,80; 33,81; 24,16; 23,05; 22,97 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub><sup>+</sup> (m/z): 318,1965; nalezeno 318,1957. LC-UV čistota 97%.

#### **7-[3-(2-methylpropoxy)fenyl]-1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-amin hydrochlorid (5p)**

Výtěžek: 17 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: 79,1 – 81,5 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 13.96 (bs, 1H), 8.82 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.23 (dd, *J* = 8.9, 1.9 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.46 – 7.42 (m, 3H), 7.02 – 6.99 (m, 1H), 3.87 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.00 (t, 2H), 2.56 (t, 2H), 2.12 – 2.00 (m, 1H), 1.92 – 1.79 (m, 4H), 1.03 (s, 3H), 1.02 (s, 3H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 159,93; 155,96; 151,57; 140,22; 137,39; 136,91; 132,15; 130,62; 121,08; 120,09; 119,72; 115,52; 114,46; 113,79; 109,73; 74,38; 56,48; 28,30; 23,12; 21,52; 20,99; 19,61; 19,03 ppm; HRMS (ESI<sup>+</sup>): [M+H]<sup>+</sup>: vypočítáno pro C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sup>+</sup> (m/z): 347,2118; nalezeno 347,2109. LC-UV čistota 98%.

## 8 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BREIJYEH, Zeinab a Rafik KARAMAN. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules* [online]. 2020, **25**(24), 5789. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25245789
- [2] WATWOOD, Carol. Alzheimer's Disease. nedatováno.
- [3] DE-PAULA, Vanessa J., Marcia RADANOVIC, Breno S. DINIZ a Orestes V. FORLENZA. Alzheimer's Disease. In: J. Robin HARRIS, ed. *Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012 [vid. 2024-07-20], s. 329–352. ISBN 978-94-007-5416-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-5416-4\_14
- [4] KUMAR, Anil, Jaskirat SIDHU, Forshing LUI a Jack W. TSAO. Alzheimer Disease. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024 [vid. 2024-07-20]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/>
- [5] CUMMINGS, Jeffrey L., Gary TONG a Clive BALLARD. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2019, **67**(3), 779–794. ISSN 13872877, 18758908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-180766
- [6] YIANNOPOULOU, Konstantina G. a Sokratis G. PAPAGEORGIOU. Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders* [online]. 2013, **6**(1), 19–33. ISSN 1756-2856. Dostupné z: doi:10.1177/1756285612461679
- [7] LIVINGSTON, Gill, Jonathan HUNTLEY, Andrew SOMMERLAD, David AMES, Clive BALLARD, Sube BANERJEE, Carol BRAYNE, Alistair BURNS, Jiska COHEN-MANSFIELD, Claudia COOPER, Sergi G. COSTAFREDA, Amit DIAS, Nick FOX, Laura N. GITLIN, Robert HOWARD, Helen C. KALES, Mika KIVIMÄKI, Eric B. LARSON, Adesola OGUNNIYI, Vasiliki ORGETA, Karen RITCHIE, Kenneth ROCKWOOD, Elizabeth L. SAMPSON, Quincy SAMUS, Lon S. SCHNEIDER, Geir SELBÆK, Linda TERI a Naaheed MUKADAM. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *Lancet (London, England)* [online]. 2020, **396**(10248), 413–446. ISSN 1474-547X. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(20)30367-6
- [8] 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2020, **16**(3), 391–460. ISSN 1552-5279.
- [9] BRIGGS, Robert, Sean P. KENNELLY a Desmond O'NEILL. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clinical Medicine (London, England)* [online]. 2016, **16**(3), 247–253. ISSN 1473-4893. Dostupné z: doi:10.7861/clinmedicine.16-3-247
- [10] BECKER, R., E. GIACOBINI, R. ELBLE, M. MCILHANY a K. SHERMAN. Potential pharmacotherapy of Alzheimer disease. A comparison of various forms of physostigmine administration. *Acta Neurologica Scandinavica. Supplementum* [online]. 1988, **116**, 19–32. ISSN 0065-1427. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0404.1988.tb07983.x



- [11] NOWAK, Anna, Klaudyna KOJDER, Joanna ZIELONKA-BRZEZICKA, Jacek WRÓBEL, Mateusz BOSIACKI, Marta FABIAŃSKA, Mariola WRÓBEL, Joanna SOŁEK-PASTUSZKA a Adam KLIMOWICZ. The Use of Ginkgo Biloba L. as a Neuroprotective Agent in the Alzheimer's Disease. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2021, **12**, 775034. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2021.775034
- [12] BROWNE, Declan, Bernadette MCGUINNESS, Jayne V. WOODSIDE a Gareth J. MCKAY. <p>Vitamin E and Alzheimer's disease: what do we know so far?</p>. *Clinical Interventions in Aging* [online]. 2019, **14**, 1303–1317. Dostupné z: doi:10.2147/CIA.S186760
- [13] TORRANDELL-HARO, Georgina, Gregory L. BRANIGAN, Francesca VITALI, Nophar GEIFMAN, Julie M. ZISSIMOPOULOS a Roberta Diaz BRINTON. Statin therapy and risk of Alzheimer's and age-related neurodegenerative diseases. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* [online]. 2020, **6**(1), e12108. ISSN 2352-8737. Dostupné z: doi:10.1002/trc2.12108
- [14] *Vývoj nových modulátorů cholinesteráz - Portaro - katalog knihovny* [online]. [vid. 2024-08-13]. Dostupné z: <https://library.pmfhk.cz/records/fd7f9ee8-fd77-4c58-afc7-36806e1a7832?back=https%3A%2F%2Flibrary.pmfhk.cz%2Flists%2Fnewest&group=d3afe59c-a0a3-4a46-8b4b-7cedf99b3e7f,c3e40344-d7e6-40b7-8f0c-72a94ec58463,fd9e39f3-df17-47c9-95c9-a7e92edab3a4,b53a2bc5-aa0a-4cee-9496-b19a7ef5232e,3914ef1c-2c4d-47e9-9e1e-81aaa1c9901a,761f04d3-2ecc-4809-8140-6a079f6ac704,8c1886fd-c924-41c7-8cb9-adbdead6e9af,fd7f9ee8-fd77-4c58-afc7-36806e1a7832,5bce762e-a710-4fc2-a45a-43889db3e2d9>
- [15] KORÁBEČNÝ, Jan. Multipotentní sloučeniny v terapii Alzheimerovy choroby [online]. 2020 [vid. 2024-08-14]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/170984>
- [16] PATOČKA, Jiří, Kamil KUČA a Daniel JUN. Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase – Important Enzymes of Human Body. *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)* [online]. 2004, **47**(4), 215–228. ISSN 1211-4286, 1805-9694. Dostupné z: doi:10.14712/18059694.2018.95
- [17] HAMPEL, Harald, M.-Marsel MESULAM, A Claudio CUELLO, Martin R FARLOW, Ezio GIACOBINI, George T GROSSBERG, Ara S KHACHATURIAN, Andrea VERGALLO, Enrica CAVEDO, Peter J SNYDER a Zaven S KHACHATURIAN. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain* [online]. 2018, **141**(7), 1917–1933. ISSN 0006-8950. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awy132
- [18] ČOLOVIĆ, Mirjana B, Danijela Z KRSTIĆ, Tamara D LAZAREVIĆ-PAŠTI, Aleksandra M BONDŽIĆ a Vesna M VASIĆ. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology* [online]. 2013, **11**(3), 315–335. ISSN 1570-159X. Dostupné z: doi:10.2174/1570159X11311030006
- [19] DVIR, Hay, Israel SILMAN, Michal HAREL, Terrone L. ROSENBERRY a Joel L. SUSSMAN. Acetylcholinesterase: From 3D Structure to Function. *Chemico-biological interactions* [online]. 2010, **187**(1–3), 10–22. ISSN 0009-2797. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2010.01.042

- [20] POHANKA, Miroslav. CHOLINESTERASES, A TARGET OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY. *Biomedical Papers* [online]. 2011, **155**(3), 219–223. ISSN 12138118, 18047521. Dostupné z: doi:10.5507/bp.2011.036
- [21] SCHWARZ, M., D. GLICK, Y. LOEWENSTEIN a H. SOREQ. Engineering of human cholinesterases explains and predicts diverse consequences of administration of various drugs and poisons. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 1995, **67**(2), 283–322. ISSN 0163-7258. Dostupné z: doi:10.1016/0163-7258(95)00019-d
- [22] *Acetylcholinesterase - Rosenberry - 1975 - Advances in Enzymology - and Related Areas of Molecular Biology - Wiley Online Library* [online]. [vid. 2024-07-29]. Dostupné z: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9780470122884.ch3?saml\\_referrer#accessDenialLayout](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/9780470122884.ch3?saml_referrer#accessDenialLayout)
- [23] CAHLÍKOVÁ, Lucie, Rudolf VRABEC, Filip PIDANÝ, Rozálie PEŘINOVÁ, Negar MAAFI, Abdullah Al MAMUN, Aneta RITOMSKÁ, Viriyanata WIJAYA a Gerald BLUNDEN. Recent Progress on Biological Activity of Amaryllidaceae and Further Isoquinoline Alkaloids in Connection with Alzheimer's Disease. *Molecules* [online]. 2021, **26**(17), 5240. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26175240
- [24] GREIG, N. H., T. UTSUKI, Q. YU, X. ZHU, H. W. HOLLOWAY, T. PERRY, B. LEE, D. K. INGRAM a D. K. LAHIRI. A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion* [online]. 2001, **17**(3), 159–165. ISSN 0300-7995. Dostupné z: doi:10.1185/0300799039117057
- [25] SANTARPIA, Lidia, Ilenia GRANDONE, Franco CONTALDO a Fabrizio PASANISI. Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* [online]. 2013, **4**(1), 31–39. ISSN 2190-6009. Dostupné z: doi:10.1007/s13539-012-0083-5
- [26] FRANCIS, P., A. PALMER, M. SNAPE a G. WILCOCK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 1999, **66**(2), 137–147. ISSN 0022-3050.
- [27] BARTUS, Raymond T. Evidence for a direct cholinergic involvement in the scopolamine-induced amnesia in monkeys: Effects of concurrent administration of physostigmine and methylphenidate with scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* [online]. 1978, **9**(6), 833–836. ISSN 0091-3057. Dostupné z: doi:10.1016/0091-3057(78)90364-7
- [28] ESPOSITO, Zaira, Lorena BELLI, Sofia TONIOLO, Giuseppe SANCESARIO, Claudio BIANCONI a Alessandro MARTORANA. Amyloid  $\beta$ , Glutamate, Excitotoxicity in Alzheimer's Disease: Are We on the Right Track? *CNS Neuroscience & Therapeutics* [online]. 2013, **19**(8), 549–555. ISSN 1755-5949. Dostupné z: doi:10.1111/cns.12095
- [29] KANIAKOVA, Martina, Lenka KLETECKOVA, Katarina LICHNEROVA, Kristina HOLUBOVA, Kristyna SKRENKOVA, Miloslav KORINEK, Jan KRUSEK, Tereza SMEJKALOVA, Jan KORABECNY, Karel VALES, Ondrej SOUKUP a Martin HORAK. 7-Methoxyderivative of tacrine is a 'foot-in-the-door' open-channel blocker of GluN1/GluN2 and GluN1/GluN3 NMDA receptors with neuroprotective activity *in vivo*. *Neuropharmacology* [online]. 2018, **140**, 217–232. ISSN 0028-3908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2018.08.010

- [30] HANSEN, Kasper, Feng YI, Riley PERSZYK, Hiro FURUKAWA, Lonnie WOLLMUTH, Alasdair GIBB a Stephen TRAYNELIS. Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *The Journal of general physiology* [online]. 2018, **150**. Dostupné z: doi:10.1085/jgp.201812032
- [31] WANG, Rui a P. Hemachandra REDDY. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* [online]. 2017, **57**(4), 1041–1048. ISSN 1875-8908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-160763
- [32] DANYSZ, Wojciech a Chris G PARSONS. Alzheimer's disease,  $\beta$ -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine – searching for the connections. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2012, **167**(2), 324–352. ISSN 0007-1188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02057.x
- [33] DOMINGUES, A., S. ALMEIDA, E. F. DA CRUZ E SILVA, C. R. OLIVEIRA a A. C. REGO. Toxicity of  $\beta$ -amyloid in HEK293 cells expressing NR1/NR2A or NR1/NR2B N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Neurochemistry International* [online]. 2007, **50**(6), 872–880. ISSN 0197-0186. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuint.2007.03.001
- [34] LAI, Ted Weita, Shu ZHANG a Yu Tian WANG. Excitotoxicity and stroke: Identifying novel targets for neuroprotection. *Progress in Neurobiology* [online]. 2014, **115**, 2013 Pangu Meeting on Neurobiology of Stroke and CNS Injury: Progresses and Perspectives of Future, 157–188. ISSN 0301-0082. Dostupné z: doi:10.1016/j.pneurobio.2013.11.006
- [35] HARDINGHAM, Giles E. a Hilmar BADING. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nature Reviews. Neuroscience* [online]. 2010, **11**(10), 682–696. ISSN 1471-0048. Dostupné z: doi:10.1038/nrn2911
- [36] ARUNDINE, Mark a Michael TYMIANSKI. Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium* [online]. 2003, **34**(4), Neuronal Calcium Toxicity, 325–337. ISSN 0143-4160. Dostupné z: doi:10.1016/S0143-4160(03)00141-6
- [37] KAMETANI, Fuyuki a Masato HASEGAWA. Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience* [online]. 2018, **12**, 25. ISSN 1662-4548. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2018.00025
- [38] TAN, Jiangli a Geneviève EVIN. B-site APP-cleaving enzyme 1 trafficking and Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neurochemistry* [online]. 2012, **120**(6), 869–880. ISSN 1471-4159. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07623.x
- [39] SILVA, Marcos Vinícius Ferreira, Cristina de Mello Gomide LOURES, Luan Carlos Vieira ALVES, Leonardo Cruz DE SOUZA, Karina Braga Gomes BORGES a Maria das Graças CARVALHO. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science* [online]. 2019, **26**(1), 33. ISSN 1423-0127. Dostupné z: doi:10.1186/s12929-019-0524-y
- [40] SERÝ, Omar, Jana POVOVÁ, Ivan MÍŠEK, Lukáš PEŠÁK a Vladimír JANOUT. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia Neuropathologica* [online]. 2013, **51**(1), 1–9. ISSN 1509-572X. Dostupné z: doi:10.5114/fn.2013.34190

- [41] HAMLEY, I. W. The Amyloid Beta Peptide: A Chemist's Perspective. Role in Alzheimer's and Fibrillization. *Chemical Reviews* [online]. 2012, **112**(10), 5147–5192. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr3000994
- [42] GANDY, Sam. The role of cerebral amyloid beta accumulation in common forms of Alzheimer disease. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. 2005, **115**(5), 1121–1129. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI25100
- [43] IQBAL, Khalid, Fei LIU, Cheng-Xin GONG a Inge GRUNDKE-IQBAL. Tau in Alzheimer Disease and Related Tauopathies. *Current Alzheimer research*. 2010, **7**(8), 656–664. ISSN 1567-2050.
- [44] GUO, Tong, Wendy NOBLE a Diane P. HANGER. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathologica* [online]. 2017, **133**(5), 665–704. ISSN 1432-0533. Dostupné z: doi:10.1007/s00401-017-1707-9
- [45] NEDDENS, Joerg, Magdalena TEMMEL, Stefanie FLUNKERT, Bianca KERSCHBAUMER, Christina HOELLER, Tina LOEFFLER, Vera NIEDERKOFER, Guenther DAUM, Johannes ATTEMS a Birgit HUTTER-PAIER. Phosphorylation of different tau sites during progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications* [online]. 2018, **6**(1), 52. ISSN 2051-5960. Dostupné z: doi:10.1186/s40478-018-0557-6
- [46] MAZANETZ, Michael P. a Peter M. FISCHER. Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Drug Discovery* [online]. 2007, **6**(6), 464–479. ISSN 1474-1784. Dostupné z: doi:10.1038/nrd2111
- [47] MISHAN, Mohammad Amir, Koorosh SHAHPASAND, Hamid AHMADIEH a Mozghan REZAEI KANAVI. Pathogenic Tau Protein Species: Promising Therapeutic Targets for Ocular Neurodegenerative Diseases. *Journal of Ophthalmic & Vision Research* [online]. 2019, **14**, 491–505. Dostupné z: doi:10.18502/jovr.v14i4.5459
- [48] LI, Zheng, Ken-Ichi OKAMOTO, Yasunori HAYASHI a Morgan SHENG. The Importance of Dendritic Mitochondria in the Morphogenesis and Plasticity of Spines and Synapses. *Cell* [online]. 2004, **119**(6), 873–887. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2004.11.003
- [49] CENINI, Giovanna a Wolfgang VOOS. Mitochondria as Potential Targets in Alzheimer Disease Therapy: An Update. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2019, **10** [vid. 2024-07-04]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2019.00902
- [50] KOPEIKINA, Katherine J., George A. CARLSON, Rose PITSTICK, Adam E. LUDVIGSON, Alan PETERS, Jennifer I. LUEBKE, Robert M. KOFFIE, Matthew P. FROSCHE, Bradley T. HYMAN a Tara L. SPIRES-JONES. Tau Accumulation Causes Mitochondrial Distribution Deficits in Neurons in a Mouse Model of Tauopathy and in Human Alzheimer's Disease Brain. *The American Journal of Pathology* [online]. 2011, **179**(4), 2071–2082. ISSN 0002-9440. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajpath.2011.07.004
- [51] CABEZAS-OPAZO, Fabian A., Katiana VERGARA-PULGAR, María José PÉREZ, Claudia JARA, Cesar OSORIO-FUENTEALBA a Rodrigo A. QUINTANILLA. Mitochondrial Dysfunction Contributes to the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2015, **2015**, 509654. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2015/509654

- [52] CHENG, Ying a Feng BAI. The Association of Tau With Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience* [online]. 2018, **12** [vid. 2024-07-04]. ISSN 1662-453X. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2018.00163
- [53] SULTANA, Rukhsana, Patrizia MECOCCI, Francesca MANGIALASCHE, Roberta CECCHETTI, Mauro BAGLIONI a D. Allan BUTTERFIELD. Increased Protein and Lipid Oxidative Damage in Mitochondria Isolated from Lymphocytes from Patients with Alzheimer's Disease: Insights into the Role of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease and Initial Investigations into a Potential Biomarker for this Dementing Disorder. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2011, **24**(1), 77–84. ISSN 1387-2877. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-2011-101425
- [54] RIPOLI, Cristian, Roberto PIACENTINI, Elisa RICCARDI, Lucia LEONE, Domenica D. LI PUMA, Gal BITAN a Claudio GRASSI. Effects of different amyloid  $\beta$ -protein analogues on synaptic function. *Neurobiology of Aging* [online]. 2013, **34**(4), 1032–1044. ISSN 0197-4580. Dostupné z: doi:10.1016/j.neurobiolaging.2012.06.027
- [55] JIRÁK, Roman a Ada MANUKYAN. Hledání farmakoterapie Alzheimerovy choroby. nedatováno.
- [56] FRANKOVÁ, Vanda. Optimalizace léčby Alzheimerovy choroby. *Interní medicína pro praxi*. 2016, **18**(2), 87–90. ISSN 12127299, 18035256.
- [57] SELTZER, Ben, Parvaneh ZOLNOUNI, Margarita NUNEZ, Robert GOLDMAN, Dinesh KUMAR, John IENI, Sharon RICHARDSON, a DONEPEZIL "402" STUDY GROUP. Efficacy of Donepezil in Early-Stage Alzheimer Disease: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Archives of Neurology* [online]. 2004, **61**(12), 1852–1856. ISSN 0003-9942. Dostupné z: doi:10.1001/archneur.61.12.1852
- [58] NELSON, Lucy a Naji TABET. Slowing the progression of Alzheimer's disease; what works? *Ageing Research Reviews* [online]. 2015, **23**, 193–209. ISSN 1568-1637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2015.07.002
- [59] FARLOW, Martin, Felix VELOSO, Margaret MOLINE, Jane YARDLEY, Elimor BRAND-SCHIEBER, Francesco BIBBIANI, Heng ZOU, Timothy HSU a Andrew SATLIN. Safety and tolerability of donepezil 23 mg in moderate to severe Alzheimer's disease. *BMC neurology* [online]. 2011, **11**, 57. ISSN 1471-2377. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2377-11-57
- [60] SEPEHRI, Saghi, Mina SAEEDI, Bagher LARIJANI a Mohammad MAHDAVI. Recent developments in the design and synthesis of benzylpyridinium salts: Mimicking donepezil hydrochloride in the treatment of Alzheimer's disease. *Frontiers in Chemistry* [online]. 2022, **10**, 936240. ISSN 2296-2646. Dostupné z: doi:10.3389/fchem.2022.936240
- [61] ASIRI, Yousif A. a Gamal A. E. MOSTAFA. Chapter 3 - Donepezil. In: Harry G. BRITAIN, ed. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology* [online]. B. m.: Academic Press, 2010 [vid. 2024-07-10], s. 117–150. Dostupné z: doi:10.1016/S1871-5125(10)35003-5
- [62] STANCIU, Gabriela Dumitrita, Andrei LUCA, Razvan Nicolae RUSU, Veronica BILD, Sorin Ioan BESCHEA CHIRIAC, Carmen SOLCAN, Walther BILD a Daniela Carmen ABABEI. Alzheimer's Disease Pharmacotherapy in Relation to Cholinergic System Involvement.

*Biomolecules* [online]. 2020, **10**(1), 40. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom10010040

- [63] SHIGETA, M. a A. HOMMA. Donepezil for Alzheimer's disease: pharmacodynamic, pharmacokinetic, and clinical profiles. *CNS drug reviews* [online]. 2001, **7**(4), 353–368. ISSN 1080-563X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1527-3458.2001.tb00204.x
- [64] LILIENFELD, Sean. Galantamine — a Novel Cholinergic Drug with a Unique Dual Mode of Action for the Treatment of Patients with Alzheimer's Disease. *CNS Drug Reviews* [online]. 2002, **8**(2), 159. ISSN 1527-3458. Dostupné z: doi:10.1111/j.1527-3458.2002.tb00221.x
- [65] JANN, Michael W., Kara L. SHIRLEY a Gary W. SMALL. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cholinesterase Inhibitors. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 2002, **41**(10), 719–739. ISSN 1179-1926. Dostupné z: doi:10.2165/00003088-200241100-00003
- [66] DESAI, Abhilash K a George T GROSSBERG. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics* [online]. 2005, **5**(5), 563–580. ISSN 1473-7175. Dostupné z: doi:10.1586/14737175.5.5.563
- [67] FARLOW, Martin R. Update on rivastigmine. *The Neurologist* [online]. 2003, **9**(5), 230–234. ISSN 1074-7931. Dostupné z: doi:10.1097/01.nrl.0000087724.73783.5f
- [68] GIACOBINI, Ezio. Invited Review Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease therapy: from tacrine to future applications. *Neurochemistry International* [online]. 1998, **32**(5), 413–419. ISSN 0197-0186. Dostupné z: doi:10.1016/S0197-0186(97)00124-1
- [69] BALSON, Ross, Peter R. GIBSON, David AMES a Prithi S. BHATHAL. Tacrine-Induced Hepatototoxicity. *CNS Drugs* [online]. 1995, **4**(3), 168–181. ISSN 1179-1934. Dostupné z: doi:10.2165/00023210-199504030-00002
- [70] LIPTON, Stuart A. Failures and Successes of NMDA Receptor Antagonists: Molecular Basis for the Use of Open-Channel Blockers like Memantine in the Treatment of Acute and Chronic Neurologic Insults. *NeuroRx*. 2004, **1**(1), 101–110. ISSN 1545-5343.
- [71] PETROVIČ, Miloš, Miloslav SEDLÁČEK, Martin HORÁK a Ladislav VYKLIČKÝ. Neurofarmakologická podstata působení memantinu v léčbě Alzheimerovy demence. *Klinická farmakologie a farmacie*. 2005, **18**(2), 81–89. ISSN 12127973, 18035353.
- [72] FOLCH, Jaume, Oriol BUSQUETS, Miren ETTCHETO, Elena SÁNCHEZ-LÓPEZ, Ruben Dario CASTRO-TORRES, Ester VERDAGUER, Maria Luisa GARCIA, Jordi OLLOQUEQUI, Gemma CASADESÚS, Carlos BEAS-ZARATE, Carme PELEGRI, Jordi VILAPLANA, Carme AULADELL a Antoni CAMINS. Memantine for the Treatment of Dementia: A Review on its Current and Future Applications. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2018, **62**(3), 1223–1240. ISSN 13872877, 18758908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-170672
- [73] MENDIOLA-PRECOMA, J., L. C. BERUMEN, K. PADILLA a G. GARCIA-ALCOCER. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *BioMed Research International* [online]. 2016, **2016**, 2589276. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2016/2589276

- [74] NÓRA, Balázs, Bereczki DÁNIEL a Kovács TIBOR. Cholinesterase inhibitors and memantine for the treatment of Alzheimer and non-Alzheimer dementias. *Clinical Neuroscience* [online]. 2021 [vid. 2024-07-11]. Dostupné z: <https://elitmed.hu/en/publications/clinical-neuroscience/cholinesterase-inhibitors-and-memantine-for-the-treatment-of-alzheimer-and-non-alzheimer-dementias>
- [75] GUO, Jiaxun, Zhenyu WANG, Ruishu LIU, Yunxia HUANG, Nan ZHANG a Ruihan ZHANG. Memantine, Donepezil, or Combination Therapy—What is the best therapy for Alzheimer’s Disease? A Network Meta-Analysis. *Brain and Behavior* [online]. 2020, **10**(11), e01831. ISSN 2162-3279. Dostupné z: doi:10.1002/brb3.1831
- [76] SHI, Mingchao, Fengna CHU, Feiqi ZHU a Jie ZHU. Impact of Anti-amyloid- $\beta$  Monoclonal Antibodies on the Pathology and Clinical Profile of Alzheimer’s Disease: A Focus on Aducanumab and Lecanemab. *Frontiers in Aging Neuroscience* [online]. 2022, **14**, 870517. ISSN 1663-4365. Dostupné z: doi:10.3389/fnagi.2022.870517
- [77] RESEARCH, Center for Drug Evaluation and. FDA approves treatment for adults with Alzheimer’s disease. *FDA* [online]. 2024 [vid. 2024-07-23]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/fda-approves-treatment-adults-alzheimers-disease>
- [78] NOVAKOVIC, Dijana, Marco FELIGIONI, Sergio SCACCIANOCE, Alessandra CARUSO, Sonia PICCININ, Chiara SCHEPISI, Francesco ERRICO, Nicola B. MERCURI, Ferdinando NICOLETTI a Robert NISTICÒ. Profile of gantenerumab and its potential in the treatment of Alzheimer’s disease. *Drug Design, Development and Therapy* [online]. 2013, **7**, 1359–1364. ISSN 1177-8881. Dostupné z: doi:10.2147/DDDT.S53401
- [79] VANDER ZANDEN, Crystal M. a Eva Y. CHI. Passive Immunotherapies Targeting Amyloid Beta and Tau Oligomers in Alzheimer’s Disease. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2020, **109**(1), 68–73. ISSN 1520-6017. Dostupné z: doi:10.1016/j.xphs.2019.10.024
- [80] DHILLON, Sohita. Aducanumab: First Approval. *Drugs* [online]. 2021, **81**(12), 1437–1443. ISSN 1179-1950. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-021-01569-z
- [81] Aducanumab to Be Discontinued as an Alzheimer’s Treatment. *Alzheimer’s Disease and Dementia* [online]. [vid. 2024-07-14]. Dostupné z: <https://alz.org/alzheimers-dementia/treatments/aducanumab>
- [82] HOY, Sheridan M. Lecanemab: First Approval. *Drugs* [online]. 2023, **83**(4), 359–365. ISSN 1179-1950. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-023-01851-2
- [83] *Lilly’s Donanemab Significantly Slowed Cognitive and Functional Decline in Phase 3 Study of Early Alzheimer’s Disease | Eli Lilly and Company* [online]. [vid. 2024-07-24]. Dostupné z: <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lillys-donanemab-significantly-slowed-cognitive-and-functional>
- [84] SYED, Yahiya Y. Sodium Oligomannate: First Approval. *Drugs* [online]. 2020, **80**(4), 441–444. ISSN 1179-1950. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-020-01268-1
- [85] WANG, Xinyi, Guangqiang SUN, Teng FENG, Jing ZHANG, Xun HUANG, Tao WANG, Zuoquan XIE, Xingkun CHU, Jun YANG, Huan WANG, Shuaishuai CHANG, Yanxue GONG, Lingfei RUAN, Guanqun ZHANG, Siyuan YAN, Wen LIAN, Chen DU, Dabing

- YANG, Qingli ZHANG, Feifei LIN, Jia LIU, Haiyan ZHANG, Changrong GE, Shifu XIAO, Jian DING a Meiyu GENG. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids-shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression. *Cell Research* [online]. 2019, **29**(10), 787–803. ISSN 1748-7838. Dostupné z: doi:10.1038/s41422-019-0216-x
- [86] YEO-TEH, Nicole Shu Ling a Bor Luen TANG. A Review of Scientific Ethics Issues Associated with the Recently Approved Drugs for Alzheimer's Disease. *Science and Engineering Ethics* [online]. 2023, **29**(1), 2. ISSN 1471-5546. Dostupné z: doi:10.1007/s11948-022-00422-0
- [87] KORABECNY, Jan, K. ŠPILOVSKÁ, Ondrej BENEK, Kamil MUSILEK, Ondrej SOUKUP a Kamil KUČA. Tacrine and its derivatives in the therapy of Alzheimer's disease [Takrin a jeho deriváty v terapii Alzheimerovy choroby]. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2012, **61**, 210–221.
- [88] RYDBERG, Edwin H., Boris BRUMSHTEIN, Harry M. GREENBLATT, Dawn M. WONG, David SHAYA, Larry D. WILLIAMS, Paul R. CARLIER, Yuan-Ping PANG, Israel SILMAN a Joel L. SUSSMAN. Complexes of alkylene-linked tacrine dimers with Torpedo californica acetylcholinesterase: Binding of Bis5-tacrine produces a dramatic rearrangement in the active-site gorge. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2006, **49**(18), 5491–5500. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm060164b
- [89] JIANG, Hualiang, Xiaomin LUO a Donglu BAI. Progress in clinical, pharmacological, chemical and structural biological studies of huperzine A: a drug of traditional chinese medicine origin for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry* [online]. 2003, **10**(21), 2231–2252. ISSN 0929-8673. Dostupné z: doi:10.2174/0929867033456747
- [90] RECANATINI, Maurizio, Andrea CAVALLI, Federica BELLUTI, Lorna PIAZZI, Angela RAMPA, Alessandra BISI, Silvia GOBBI, Piero VALENTI, Vincenza ANDRISANO, Manuela BARTOLINI a Vanni CAVRINI. SAR of 9-Amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine-Based Acetylcholinesterase Inhibitors: Synthesis, Enzyme Inhibitory Activity, QSAR, and Structure-Based CoMFA of Tacrine Analogues. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2000, **43**(10), 2007–2018. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm990971t
- [91] SOUKUP, Ondrej, Daniel JUN, Jana ZDAROVA-KARASOVA, Jiri PATOCKA, Kamil MUSILEK, Jan KORABECNY, Jan KRUSEK, Martina KANIAKOVA, Vendula SEPSOVA, Jana MANDIKOVA, Frantisek TREJTAR, Miroslav POHANKA, Lucie DRTINOVA, Michal PAVLIK, Gunnar TOBIN a Kamil KUČA. A resurrection of 7-MEOTA: a comparison with tacrine. *Current Alzheimer Research* [online]. 2013, **10**(8), 893–906. ISSN 1875-5828. Dostupné z: doi:10.2174/1567205011310080011
- [92] MISIACHNA, Anna, Barbora SVOBODOVA, Jakub NETOLICKY, Marketa CHVOJKOVA, Lenka KLETECKOVA, Lukas PRCHAL, Martin NOVAK, Martina HRABINOVA, Tomas KUCERA, Lubica MUCKOVA, Zuzana MORAVCOVA, Jana Zdarova KARASOVA, Jaroslav PEJCHAL, Filip BLAZEK, David MALINAK, Kristina HAKENOVA, Barbora Hrccka KRAUSOVA, Marharyta KOLCHEVA, Marek LADISLAV, Jan KORABECNY, Jens PAHNKE, Karel VALES, Martin HORAK a Ondrej SOUKUP. Phenoxytacrine derivatives: Low-toxicity neuroprotectants exerting affinity to ifenprodil-binding site and cholinesterase inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2024, **266**, 116130. ISSN 0223-5234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2024.116130



- [93] GOTTI, B., D. DUVERGER, J. BERTIN, C. CARTER, R. DUPONT, J. FROST, B. GAUDILLIERE, E. T. MACKENZIE, J. ROUSSEAU a B. SCATTON. Ifenprodil and SL 82.0715 as cerebral anti-ischemic agents. I. Evidence for efficacy in models of focal cerebral ischemia. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1988, **247**(3), 1211–1221. ISSN 0022-3565, 1521-0103.
- [94] NOVAK, M., B. SVOBODOVA, J. KONECNY, A. KURATKOVA, L. NEVOSADOVA, L. PRCHAL, J. KORABECNY, V. M. LAUSCHKE, O. SOUKUP a R. KUČERA. UHPLC-Orbitrap study of the first phase tacrine in vitro metabolites and related Alzheimer's drug candidates using human liver microsomes. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2023, **224**, 115154. ISSN 1873-264X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2022.115154
- [95] PATOCKA, Jiri, Daniel JUN a Kamil KUČA. Possible Role of Hydroxylated Metabolites of Tacrine in Drug Toxicity and Therapy of Alzheimers Disease. *Current Drug Metabolism* [online]. nedatováno, **9**(4), 332–335. Dostupné z: doi:10.2174/138920008784220619
- [96] MADDEN, Stephen, Vanessa SPALDIN a B. Kevin PARK. Clinical Pharmacokinetics of Tacrine. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 1995, **28**(6), 449–457. ISSN 1179-1926. Dostupné z: doi:10.2165/00003088-199528060-00003
- [97] KANIAKOVA, Martina, Jan KORABECNY, Kristina HOLUBOVA, Lenka KLETECKOVA, Marketa CHVOJKOVA, Kristina HAKENOVA, Lukas PRCHAL, Martin NOVAK, Rafael DOLEZAL, Vendula HEPNAROVA, Barbora SVOBODOVA, Tomas KUCERA, Katarina LICHNEROVA, Barbora KRAUSOVA, Martin HORAK, Karel VALES a Ondrej SOUKUP. 7-phenoxytacrine is a dually acting drug with neuroprotective efficacy *in vivo*. *Biochemical Pharmacology* [online]. 2021, **186**, 114460. ISSN 0006-2952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2021.114460
- [98] NOVAK, Martin, Marie VAJRYCHOVA, Stefania KOUTSILIERI, Despoina-Christina SISMANOGLU, Tereza KOBRLOVA, Lukas PRCHAL, Barbora SVOBODOVA, Jan KORABECNY, Tomas ZARYBNICKY, Lucie RAISOVA-STUCHLIKOVA, Lenka SKALOVA, Volker M. LAUSCHKE, Radim KUČERA a Ondrej SOUKUP. Tacrine First-Phase Biotransformation and Associated Hepatotoxicity: A Possible Way to Avoid Quinone Methide Formation. *ACS Chemical Biology* [online]. 2023, **18**(9), 1993–2002. ISSN 1554-8929. Dostupné z: doi:10.1021/acscchembio.3c00219
- [99] DAINA, Antoine, Olivier MICHIELIN a Vincent ZOETE. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* [online]. 2017, **7**, 42717. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep42717
- [100] DAINA, Antoine, Olivier MICHIELIN a Vincent ZOETE. iLOGP: a simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *Journal of Chemical Information and Modeling* [online]. 2014, **54**(12), 3284–3301. ISSN 1549-960X. Dostupné z: doi:10.1021/ci500467k
- [101] DAINA, Antoine a Vincent ZOETE. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *Chemmedchem* [online]. 2016, **11**(11), 1117–1121. ISSN 1860-7179. Dostupné z: doi:10.1002/cmdc.201600182

- [102] GUPTA, Mayuri, Hyeok Jun LEE, Christopher J. BARDEN a Donald F. WEAVER. The Blood-Brain Barrier (BBB) Score. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2019, **62**(21), 9824–9836. ISSN 1520-4804. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jmedchem.9b01220
- [103] MAGALHÃES, Pedro R., Pedro B. P. S. REIS, Diogo VILA-VIÇOSA, Miguel MACHUQUEIRO a Bruno L. VICTOR. Identification of Pan-Assay INterference compoundS (PAINS) Using an MD-Based Protocol. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* [online]. 2021, **2315**, 263–271. ISSN 1940-6029. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-0716-1468-6\_15
- [104] LIPINSKI, Christopher A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* [online]. 2004, **1**(4), 337–341. ISSN 1740-6749. Dostupné z: doi:10.1016/j.ddtec.2004.11.007
- [105] MARTIN, Yvonne C. A bioavailability score. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2005, **48**(9), 3164–3170. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm0492002
- [106] SEPŠOVA, Vendula, Jana Zdarova KARASOVA, Jan KORABECNY, Rafael DOLEZAL, Filip ZEMEK, Brian J. BENNION a Kamil KUČA. Oximes: Inhibitors of Human Recombinant Acetylcholinesterase. A Structure-Activity Relationship (SAR) Study. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2013, **14**(8), 16882–16900. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms140816882
- [107] POHANKA, Miroslav, Jana Zdarova KARASOVA, Kamil KUČA, Jiri PIKULA, Ondrej HOLAS, Jan KORABECNY a Jiri CABAL. Colorimetric dipstick for assay of organophosphate pesticides and nerve agents represented by paraoxon, sarin and VX. *Talanta* [online]. 2010, **81**(1), 621–624. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2009.12.052
- [108] ELLMAN, G. L., K. D. COURTNEY, V. ANDRES a R. M. FEATHER-STONE. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* [online]. 1961, **7**, 88–95. ISSN 0006-2952. Dostupné z: doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9
- [109] PAREPALLY, Jagan Mohan R., Haritha MANDULA a Quentin R. SMITH. Brain uptake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: ibuprofen, flurbiprofen, and indomethacin. *Pharmaceutical Research* [online]. 2006, **23**(5), 873–881. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-006-9905-5
- [110] WANG, Qing, Joseph D. RAGER, Kathryn WEINSTEIN, Paula S. KARDOS, Glenn L. DOBSON, Jibin LI a Ismael J. HIDALGO. Evaluation of the MDR-MDCK cell line as a permeability screen for the blood–brain barrier. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2005, **288**(2), 349–359. ISSN 0378-5173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2004.10.007
- [111] DI, Li, Edward H. KERNS, Ian F. BEZAR, Susan L. PETUSKY a Youping HUANG. Comparison of blood–brain barrier permeability assays: in situ brain perfusion, MDR1-MDCKII and PAMPA-BBB. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2009, **98**(6), 1980–1991. ISSN 0022-3549, 1520-6017. Dostupné z: doi:10.1002/jps.21580
- [112] DI, Li, Edward H. KERNS, Kristi FAN, Oliver J. MCCONNELL a Guy T. CARTER. High throughput artificial membrane permeability assay for blood–brain barrier. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2003, **38**(3), 223–232. ISSN 0223-5234. Dostupné z: doi:10.1016/S0223-5234(03)00012-6

- [113] MUCKOVA, Lubica, Jaroslav PEJCHAL, Petr JOST, Nela VANOVA, David HERMAN a Daniel JUN. Cytotoxicity of acetylcholinesterase reactivators evaluated in vitro and its relation to their structure. *Drug and Chemical Toxicology* [online]. 2019, **42**(3), 252–256. ISSN 0148-0545. Dostupné z: doi:10.1080/01480545.2018.1432641
- [114] GORECKI, Lukas, Martin ANDRS a Jan KORABECNY. Clinical Candidates Targeting the ATR–CHK1–WEE1 Axis in Cancer. *Cancers* [online]. 2021, **13**(4), 795. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers13040795
- [115] KONECNY, Jan, Anna MISIACHNA, Martina HRABINOVA, Lenka PULKRABKOVA, Marketa BENKOVA, Lukas PRCHAL, Tomas KUCERA, Tereza KOBRLOVA, Vladimir FINGER, Marharyta KOLCHEVA, Stepan KORTUS, Daniel JUN, Marian VALKO, Martin HORAK, Ondrej SOUKUP a Jan KORABECNY. Pursuing the Complexity of Alzheimer’s Disease: Discovery of Fluoren-9-Amines as Selective Butyrylcholinesterase Inhibitors and N-Methyl-d-Aspartate Receptor Antagonists. *Biomolecules* [online]. 2020, **11**(1), 3. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom11010003
- [116] KOLCHEVA, Marharyta, Stepan KORTUS, Barbora Hrccka KRAUSOVA, Petra BARACKOVA, Anna MISIACHNA, Sarka DANACIKOVA, Martina KANIAKOVA, Katarina HEMELIKOVA, Matej HOTOVEC, Kristyna REHAKOVA a Martin HORAK. Specific pathogenic mutations in the M3 domain of the GluN1 subunit regulate the surface delivery and pharmacological sensitivity of NMDA receptors. *Neuropharmacology* [online]. 2021, **189**, 108528. ISSN 0028-3908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2021.108528