

*Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.:*

## **„Synteza i badania biologiczne nowych inhibitorów cholinoesteraz zawierających ugrupowanie serotoniny i wybranych pochodnych heterocyklicznych”**

*autor: mgr Iwona Łozińska*

*promotor: prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki*

*Pracownia Chemii Związków Naturalnych*

Projektowanie nowych inhibitorów cholinoesteraz jest bardzo istotnym elementem poszukiwania leków w chorobie Alzheimera. Wśród obecnie stosowanych farmaceutyków w terapii tej choroby znajduje się m.in. takryna i donepezil, odwracalne inhibitory cholinoesteraz – acetylocholinoesterazy (AChE) oraz butyrylocholinoesterazy (BChE), których pochodne stały się elementami budulcowymi do otrzymania inhibitorów objętych rozprawą doktorską.

Etiologia choroby Alzheimera nie jest jeszcze poznana, natomiast wiadomym jest, iż jest to choroba wieloczynnikowa, w leczeniu której działanie na pojedynczy cel nie wystarczy. Obecnie trwają prace nad cząsteczką łączącą w swojej strukturze grupy farmakoforowe różnych leków, a związki te nazywane są MTLDs (multi-target-directed ligands), czyli lekami wielocelowymi. Leki wielocelowe działają kompleksowo dlatego, że uwzględniają złożoność molekularnego mechanizmu choroby i dają większe szanse na wyleczenie pacjenta oraz powstrzymanie procesu chorobowego. Dodatkowo dokładne poznanie struktury AChE pozwoliło na uzyskanie bardzo cennej wskazówki w projektowaniu inhibitorów tego enzymu – potencjalny kandydat na lek ma możliwość związania się z AChE w dwóch miejscach aktywnych (miejscu katalitycznym oraz peryferyjnym). Leki hybrydowe, dzięki zastosowaniu odpowiedniej długości łańcucha alkilowego pomiędzy grupami farmakoforowymi, mogą wiązać się z enzymem w dwóch miejscach aktywnych enzymu.

Wychodząc naprzeciw współczesnym oczekiwaniom, moim celem syntetycznym były molekuly łączące w swojej strukturze inhibitor cholinoesteraz (takryna, donepezil) oraz pochodną serotoniny (ważnego neuroprzekaźnika 5-HT; 5-hydroksytryptaminy), wykazującej działanie antydepresyjne, antyoksydacyjne, regulujące zaburzenia neuroprzekaźnictwa. Elementy budulcowe połączone zostały wiązaniem karbaminianowym, które trwalej łączy się z cholinoesterazą, niż naturalnie hydrolizowany w acetylocholinie ester. Otrzymane w ten sposób pochodne, wpisujące się w koncepcję leków wielocelowych, mogą pełnić wielorakie funkcje.

Zsyntetyzowane heterodimery poddałam następnie badaniom biologicznym *in vitro*, w celu określenia ich aktywności pod kątem inhibicji cholinoesteraz metodą Ellmana. Metoda opiera się na kolorymetrycznym pomiarze produktu reakcji hydrolizy tioacetylocholiny (ASCh), bądź tiobutyrylocholiny (BSCh) z odczynnikiem Ellmana. W badanej próbce znajduje się ASCh/BSCh, AChE/BChE (pozyskana z krwi ludzkiej), inhibitor oraz odczynnik Ellmana. Stopień zabarwienia, zmierzony za pomocą spektrometru UV-Vis, świadczy o stopniu zajścia hydrolizy, ta zaś o stopniu inhibicji. Wyniki badań biologicznych wyraża się za pomocą indeksu  $IC_{50}$ , który określa stężenie inhibitora, powodujące 50%-ową inhibicję enzymu – AChE bądź BChE. Otrzymane związki okazały się być bardzo aktywnymi oraz selektywnymi inhibitorami, co oznacza, że są potencjalnymi farmaceutykami w terapii choroby Alzheimera.

Pośród zestawu otrzymanych i przebadanych biologicznie związków objętych pracą (14 nowych, nieopisanych dotąd w literaturze heterodimerów) można wyróżnić zarówno selektywne inhibitory AChE, jak i BChE. W większości są to jednak bardzo aktywne, selektywne inhibitory względem BChE, co jest bardzo istotne, gdyż najnowsze doniesienia naukowe sugerują, iż znacznie lepsze efekty terapeutyczne przynosi strategia ukierunkowana na hamowanie BChE. Wysoka selektywność względem BChE jest zatem ich dużym atutem.

Na skrupulatnych badaniach, ustaliliśmy optymalną długość łańcucha węglowego, pełniącego funkcję linkera, oraz wybraliśmy najbardziej aktywne heterodimery. Na uwagę zasługuje heterodimer nawet 400 razy bardziej aktywny niż takryna, którego wartość  $IC_{50}$  wyrażana jest w dziesiątej części nM. Jest to związek 2600 razy bardziej aktywny niż donepezil oraz najbardziej aktywny względem BChE inhibitor, którego wartość  $IC_{50}$  wynosi 240 pM. Wynik ten należy zaliczyć do najlepszych, jakie zostały dotąd opisane w literaturze dla inhibitorów butyrylocholinoesterazy.

Otrzymane w ramach pracy doktorskiej rezultaty opublikowane zostały w następujących publikacjach naukowych i patentach:

Publikacje:

- A. Zawadzka, I. Łozińska, Z. Mołęda, M. Panasiewicz, Z. Czarnocki „Highly selective Inhibition of Butyrylcholinesterase by a Novel Melatonin-Tacrine Heterodimers” *J. Pineal Res*, 54, 435–441, (2013)
- J. K. Maurin, A. Zawadzka, I. Łozińska, Z. Czarnocki “3-(2-Acetamidoethyl)-1H-indol-5-yl 4-nitrophenyl carbonate” *Acta Cryst.* (2012) E 68, o2915

Patenty:

- A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz: „Hybrid cholinesterase inhibitors” - zgłoszenie wynalazku w USA nr US 8841453 B2 (**2014**).
- A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz: „Inhibitory cholinoesteraz o strukturze hybrydowej” - zgłoszenie wynalazku w UP RP nr P.398731 (**2012**).
- A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz: „Nowe inhibitory cholinoesteraz o strukturze hybrydowej” - zgłoszenie wynalazku w UP RP nr P.395113 (**2011**).
- A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz *Pat. Appl. No.* PCT/PL2012/000038.