

Jakub Jończyk "Projektowanie metodami modelowania molekularnego wielofunkcyjnych związków o potencjalnym zastosowaniu w terapii choroby Alzheimera"

Streszczenie

Choroba Alzheimera prowadzi do upośledzenia funkcji poznawczych, zmian osobowości i przedwczesnej śmierci dotkniętych nią chorych. Jest to choroba neurodegeneracyjna a jej wieloaspektowa etiopatogeneza jest upatrywana, jako przyczyna niepowodzeń w poszukiwaniu skutecznej terapii. Z nadzieją patrzy się na możliwość zastosowania ligandów wielocelowych, które poprzez wpływ na kilka odrębnych patomechanizmów mają szansę spowolnić lub nawet zatrzymać postęp choroby. Jednak projektowanie ligandów łączących w sobie wiele farmakoforów nie jest łatwe. Uzyskiwane związki mają często bardzo niekorzystne właściwości fizykochemiczne, a do otrzymania związku zachowującego aktywność względem wybranych celów potrzebna jest niejednokrotnie duża ilość kosztownych i czasochłonnych prób. Pomocą w tym trudnym procesie może być zastosowanie metod modelowania komputerowego, w szczególności opartych o dane strukturalne celów biologicznych. Ich zastosowanie w projektowaniu pozwala odrzucić szereg związków o niekorzystnych właściwościach, wyłonić potencjalnie aktywne cząsteczki, ukierunkować i przyspieszyć prace badawcze. Modelowanie molekularne może też pomóc w poznaniu samej struktury celu, gdy ta nie została jeszcze rozwiązana metodami eksperymentalnymi. Informacje uzyskane z modeli homologicznych białek są cenione na polu projektowania związków bioaktywnych.

Celem niniejszej rozprawy było wykorzystanie metod modelowania molekularnego w projektowaniu nowych związków wielofunkcyjnych łączących aktywność względem enzymu β -sekreazy (BACE-1) lub receptora H3 histaminowego z innymi aktywnościami pozwalającymi przeciwdziałać postępowi oraz objawom choroby Alzheimera.

W oparciu o wyniki modelowania komputerowego przeprowadzono stopniową modyfikację otrzymanych wcześniej inhibitorów acetylo- i butyrylocholinoesterazy (AChE i BuChE) wprowadzając elementy zapewniające zdolność do hamowania enzymu BACE-1. Opracowano związki o zróżnicowanej zdolności do hamowania cholinoesteraz i enzymu BACE-1 oraz wykazujące wysoki potencjał antyagregacyjny względem β -amyloidu i białka tau. Najaktywniejszy z zaprojektowanych

wielocelowych inhibitorów, **SIV_11**, hamował działanie BACE-1 ($IC_{50} = 6,15 \mu M$) i BuChE ($IC_{50} = 0,172 \mu M$) jednocześnie posiadał zdolność do działania antyagregacyjnego na A β (60,6% w stężeniu związku 10 μM) i tau (46,3% w stężeniu związku 10 μM)

Na potrzeby badań nad ligandami receptora H3 histaminowego przygotowano model homologiczny, który stanowi użyteczne narzędzie w projektowaniu nowych związków aktywnych względem tego celu biologicznego. Wykorzystując go w eksperymentach *in silico* oraz przeprowadzając szereg badań biologicznych przetestowano bibliotekę związków i wyłoniono spośród nich wielocelowe związki o aktywności względem receptora H3 histaminowego jak i cholinoesteraz. Związki o takim profilu aktywności biologicznej mogą być zastosowane w terapii choroby Alzheimera. Najsilniejszy antagonist receptoru H3 histaminowego, **A12** był zdolny do hamowania AChE ($IC_{50} = 13,96 \mu M$) i BuChE ($IC_{50} = 14,62 \mu M$). Metody obliczeniowe posłużyły również do określenia parametrów fizykochemicznych najaktywniejszych pochodnych. Wyniki znalazły odzwierciedlenie między innymi w wysokiej przenikalności mierzonej w teście BBB PAMPA. Badania *in vivo* wykazały działanie prokognitywne związku **A12** w skopolaminowym teście biernego unikania prowadzonym na myszach.

Abstract

Alzheimer's disease leads to cognitive impairment, personality changes and the premature death of affected patients. It is a neurodegenerative disease and its multifaceted etiopathogenesis is seen as a cause of failure in the search for effective therapy. Researchers look with hope at the possibility of using multi-target directed ligands (MTDL), which by affecting several separate pathomechanisms, have the chance to slow down or even stop the progression of the disease. However, designing ligands combining many pharmacophores is not easy. The obtained compounds often have very unfavorable physicochemical properties, and in order to obtain a compound that retains activity against selected biological targets, a large number of expensive and time-consuming tests is often needed. The use of computer modeling methods, in particular, based on the structural data for biological targets, can help in this challenging process. Computer-aided drug design allows us to reject many compounds with unfavorable properties, identify potentially active molecules, accelerating discovery process. Molecular modeling can also help us to understand the structure of the target itself when experimental methods have not solved it yet. Information obtained from homology models is valuable in the field of bioactive compound design.

The scope of this dissertation was to apply molecular modeling methods during the design of new multifunctional compounds combining activity against the β -secretase enzyme (BACE-1) or the histamine H3 receptor with other activities that help counteract the progression and symptoms of Alzheimer's disease. Based on the results of computer modeling, continuing modification of the previously obtained acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors (AChE and BuChE) was led by the introduction of elements that provide the ability to inhibit the BACE-1 enzyme. Compounds with diverse ability to inhibit cholinesterases and the BACE-1 enzymes, and demonstrating high anti-aggregation potential against β -amyloid and tau protein have been developed. The most active multi-target directed inhibitor, compound **SIV_11**, inhibited BACE-1 ($IC_{50} = 6.15 \mu\text{M}$) and BuChE ($IC_{50} = 0.172 \mu\text{M}$)

simultaneously and could restrain aggregation of A β (60.6% at 10 μ M compound concentration) and tau (46.3% at 10 μ M compound concentration).

Research on histamine H3 receptor ligands included construction of a homology model for this receptor. It was a useful tool in the design of new bioactive compounds. Using this model during *in silico* studies and conducting a number of biological experiments, a library of compounds was tested and multi-target directed ligands with activity towards the histamine H3 receptor and cholinesterases were selected among them. Compounds with such an activity profile can be used in the treatment of Alzheimer's disease. The most potent histamine H3 receptor antagonist, **A12** was able to inhibit AChE (IC_{50} = 13.96 μ M) and BuChE (IC_{50} = 14.62 μ M). Computational methods were also used to determine the physicochemical parameters for the most active derivatives. The results were reflected, among others, in the high permeability measured in the BBB-PAMPA assay. Performed *in vivo* studies showed the pro-cognitive effect of compound **A12** in a mice scopolamine passive avoidance test.