

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Název: Syntéza nových derivátů chinazolinu jako potenciálních multipotentních terapeutik pro léčbu Alzheimerovy nemoci

Title: Synthesis of novel quinazoline derivatives as a potential multipotent therapeutics against Alzheimer's disease

Zpracovala: Daniela Tošnerová

Školitel: Ing. Galina Karabanovich, Ph.D.

Školitel specialista: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Hradec Králové 2024

Čestné prohlášení

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

V Hradci Králové 14.5.2024

Daniela Tošnerová

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala Ing. Barboře Svobodové, Ph.D. za její odborné vedení, neocenitelné rady a neustálou podporu a trpělivost během mého studia a psaní této diplomové práce. Dále bych chtěla vyjádřit vděk doc. PharmDr. Janu Korábečnému, Ph.D. a Ing. Galině Karabanovich, Ph.D., jejichž odborné znalosti a cenné rady byly klíčové pro úspěšné dokončení mé práce. Velké poděkování patří též mé rodině a nejbližším, kteří mi poskytli nekonečnou podporu a povzbuzení během celého mého studia a při psaní této diplomové práce.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra organické a bioorganické chemie

Školitel: Ing. Galina Karabanovich, Ph.D.

Konzultant: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Posluchač: Daniela Tošnerová

Název diplomové práce: **Syntéza nových derivátů chinazolinu jako potenciálních multipotentních terapeutik pro léčbu Alzheimerovy nemoci**

Alzheimerova choroba (AD, z angl. Alzheimer's disease) je závažné neurologické onemocnění. Současná léčba pouze dočasně oddaluje progresi tohoto onemocnění. Hlavním limitujícím faktorem pro vývoj nových terapeutických sloučenin je přítomnost více patologií současně. Jako alternativní možnost léčby AD se jeví nová skupina potenciálních léčiv nazývaná **multipotentní sloučeniny** (MTDL, z angl. multi-target directed ligands). Do dnešního dne byly publikovány desítky studií na téma MTDL. V rámci experimentální části této diplomové práce byla navržena série malých molekul založených na chinazolinovém skeletu se záměrem ovlivnit aktivitu **acetylcholinesterázy**, **butyrylcholinesterázy**, **monoaminoxidázy A a B** (MAO-A/MAO-B) a podjednotky **GluN1/GluN2B N-methyl-D-aspartátového receptoru** (NMDAR). Následně bylo syntetizováno a biologicky vyhodnoceno 24 nových chinazolinových derivátů potenciálně využitelných k terapii AD. Jako nejlepší derivát se ukázala sloučenina **II-6h** ((5E)-8-chlor-*N*-cyklohexyl-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin) s inhibičním účinkem vůči MAO-B, s antagonistickým účinkem vůči NMDAR, přijatelným antiproliferativním účinkem a potenciálem pronikat přes HEB. Práce tak přispívá k rozvoji MTDL, nového směru ve vývoji léčiv pro AD, který se snaží ovlivnit více patologických aspektů současně.

Klíčová slova: chinazoliny, Alzheimerova nemoc, cholinesterázy, monoaminoxidázy, *N*-methyl-*D*-aspartátové receptory

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Organic and Bioorganic Chemistry

Mentor: Ing. Galina Karabanovich, Ph.D.

Consultant: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Student: Daniela Tošnerová

Title of Thesis: **Synthesis of novel quinazoline derivatives as a potential multipotent therapeutics against Alzheimer's disease**

Alzheimer's disease (AD) is a severe neurologic disorder. Current treatments only temporarily delay the progression of disease. The main limiting factor for developing of new therapeutic compounds is the simultaneous presence of multiple pathologies. Thus, a new group of potential drugs called **multi-target directed ligands** (MTDLs) emerged as an alternative option to combat AD. To this date, dozens of MTDLs have been published. As part of the experimental section of this thesis, a series of small molecules based on quinazoline scaffold was rationally designed with the intention to influence the activity of **acetylcholinesterase**, **butyrylcholinesterase**, **monoamine oxidase A and B** (MAO-A/MAO-B), and the **GluN1/GluN2B** subunit of ***N*-methyl-D-aspartate receptor** (NMDAR). Subsequently twenty-four new quinazoline derivatives were synthesized, and biologically evaluated. The overall results highlighted compound **II-6h** ((5E)-8-chlor-*N*-cyklohexyl-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin) as the best derivative with an inhibitory effect on MAO-B, antagonism action to NMDAR, an acceptable antiproliferative effect, and potential to penetrate the BBB. This work thus contributes to the development of MTDL, a new direction in drug development for AD, which aims to influence multiple pathological aspects simultaneously.

Keywords: quinazolines, Alzheimer's disease, cholinesterases, monoaminoxidases, *N*-methyl-D-aspartate receptors

OBSAH

1	ÚVOD	12
2	TEORETICKÁ ČÁST	13
2.1	ALZHEIMEROVA CHOROBA.....	13
2.1.1	Historie	13
2.1.2	Prevalence a incidence	13
2.1.3	Symptomy.....	14
2.1.4	Diagnóza.....	14
2.2	RIZIKOVÉ FAKTORY PRO VZNIK AD	16
2.2.1	Věk	16
2.2.2	Apolipoprotein E4.....	16
2.2.3	Genetika.....	16
2.2.4	Další rizikové faktory.....	16
2.3	PATOFYZIOLOGIE AD.....	17
2.3.1	Senilní plaky	17
2.3.2	Neurofibrilární klubka.....	18
2.3.3	Neurozánět.....	19
2.3.4	Oxidativní stres	20
2.3.5	Cholinergní systém.....	20
2.3.6	Glutamátergní systém.....	26
2.3.7	Monoaminergní systém	29
2.4	LÉČIVA V TERAPII AD	32
2.4.1	Inhibitory cholinesteráz.....	32
2.4.2	Antagonisté NMDAR.....	34
2.4.3	Monoklonální protilátky.....	35
2.4.4	Oligomanát sodný	35
3	CÍL PRÁCE	37
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	38
4.1	Návrh nových sloučenin kombinující afinity ChE, NMDAR a MAO-A/B38	
4.2	<i>In silico</i> predikce farmakokinetických a fyzikálně-chemických vlastností	41
4.3	Syntéza nových chinazolinových derivátů.....	43
4.3.1	Příprava meziproductů I-III/5a-5h.....	43
4.3.2	Příprava finálních sloučenin I-III/6a-6h.....	44
4.4	Biologické testování.....	45

4.4.1	Stanovení inhibiční aktivity enzymů AChE a BChE <i>in vitro</i>	45
4.4.2	Stanovení inhibiční aktivity NMDAR <i>in vitro</i>	46
4.4.3	Stanovení inhibiční aktivity a mechanismu inhibice enzymů MAO-A/B <i>in vitro</i>	47
4.4.4	Predikce prostupu přes HEB.....	49
4.4.5	<i>In vitro</i> antiproliferativní vlastnosti.....	50
5	ZÁVĚR.....	52
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	54
6.1	Charakteristika meziproduktů I-III/5a-5h	54
6.2	Charakteristika finálních produktů I-III/6a-6h	59
7	LITERATURA.....	67

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

δ	Chemický posun
7-MEOTA	7-methoxytakrin
7-OH-THA	7-hydroxytakrin
A β	amyloid β
AD	Alzheimerova nemoc (z angl. Alzheimer's disease)
ADME	absorpce, distribuce, metabolismus, exkrece
ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AICD	APP intracelulární doména
ALS	amyotrofická laterální skleróza
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionová kyselina
ApoE	Apolipoprotein E
APP	amyloidový prekurzorový protein
BACE-1	β -sekretáza (z angl. beta-site APP cleaving enzyme 1, enzym štěpící beta-místo APP 1)
BChE	butyrylcholinesteráza
bs	široký singlet
C83	α -C terminální fragment
C99	β -C terminální fragment
CNS	centrální nervová soustava
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMSO-d ₆	deuterovaný dimethylsulfoxid
d	dublet
dd	dublet dubletu
GABA	γ -aminomáselná kyselina (z angl. γ -aminobutyric acid)
HEB	hematoencefalická bariéra
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (z angl. high resolution mass spektrometry)
ChAT	cholinacetyltransferáza
ChE	cholinesteráza

IACHe	inhibitor acetylcholinesterázy
IC ₅₀	polovina maximální inhibiční koncentrace
IgG1	imunoglobulin gamma 1
iGluR	ionotropní glutamátový receptor
IMAO	inhibitor monoaminoxidázy
J	interakční konstanta
LC-UV	kapalinová chromatografie s ultrafialovou detekcí (z angl. liquid chromatography-ultraviolet)
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (z angl. liquid chromatography–mass spectrometry)
mAb	monoklonální protilátka (z angl. monoclonal antibody)
MAO-A	monoaminoxidáza A
MAO-B	monoaminoxidáza B
mGluR	metabotropní glutamátový receptor
MTDL	multipotentní sloučenina (z angl. multi-target directed ligand)
MTT	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid
m	multiplet
NFT	neurofibrilární klubka (z angl. neurofibrillary tangles)
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartát
NMDAR	<i>N</i> -methyl-D-aspartátový receptor
NMR	nukleární magnetické rezonance
NPL	nervově paralytické látky
N receptor	nikotinový receptor
OS	oxidační stres
PAMPA	paralelní test propustnosti umělých membrán (z angl. parallel artificial membrane-permeability assay)
PD	Parkinsonova nemoc (z angl. Parkinson's disease)
p	pentet
ppm	parts per milion
q	kvartet
ROS	reaktivní formy kyslíku (z angl. reactive oxygen species)

RNS	reaktivní formy dusíku (z angl. reactive nitrogen species)
SEM	střední chyba průměru (z angl. standard error of the mean)
SH-SY5Y	buněčná linie lidského neuroblastomu
THA	takrin (9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridin)
TLC	chromatografie na tenké vrstvě (z angl. thin layer chromatography)
t	triplet

Seznam obrázků

Obrázek 1 Neamyloidní a amyloidní cesta štěpení APP.....	18
Obrázek 2 Znázornění zdravého neuronu a neuronu s neurofibrilárními klubky a senilními plaky.....	19
Obrázek 3 Znázornění aktivního místa AChE s navázaným ACh.....	21
Obrázek 4 Hydrolýza ACh za katalytického působení enzymu AChE	21
Obrázek 5 3D struktura lidské BChE	22
Obrázek 6 Znázornění fyziologické cholinergní neurotransmise.	23
Obrázek 7 Syntéza ACh z cholinu a Ac-CoA za působení ChAT.....	24
Obrázek 8 Vybrané struktury reverzibilních a pseudo-ireverzibilních IChE.....	25
Obrázek 9 Vybrané struktury ireverzibilních IChE.....	25
Obrázek 10 Znázornění glutamatergní neurotransmise a excitotoxicity.....	27
Obrázek 11 Vybrané struktury antagonistů NMDAR.....	29
Obrázek 12 Vybrané struktury IMAO (selegilin, ladostigil, rasagilin, iproniazid) a struktura IChE (rivastigmin).....	31
Obrázek 13 Struktury IChE používaných při léčbě AD.....	32
Obrázek 14 Struktura amantadinu a memantinu	34
Obrázek 15 Struktura oligomanátu sodného	36
Obrázek 16 Design nových sloučenin chinazolinového skeletu kombinující ChE, inhibiční vlastnosti vůči MAO-A/B a NMDAR antagonismus.....	39
Obrázek 17 Syntéza N-methylpropargylamino-chinazolinových derivátů I-III/6a-h	43
Obrázek 18 Testování reverzibility inhibice MAO-A/B u sloučenin I-6h, III-6a a II-6h	48
Obrázek 19 Životaschopnost diferencovaných buněk SH-SY5Y inkubovaných s testovanými sloučeninami v koncentraci odpovídající hodnotám IC ₅₀ získaných z nediferencovaných buněk SH-SY5Y	51

Seznam tabulek

Tabulka 1 Souhrnný přehled navržených chinazolinových derivátů I-III/6a-6h	42
Tabulka 2 Relativní inhibice (RI, %) nejúčinnějších chinazolinových derivátů a referenčních sloučenin vůči podjednotce GluN1/GluN2B NMDAR.....	46
Tabulka 3 Inhibiční aktivita testovaných derivátů a referenčních léčiv vůči oběma izoformám enzymu MAO	48
Tabulka 4 Výsledky stanovení prostupu přes HEB u vybraných derivátů a referenčních léčiv vyjádřeného jako $Pe \pm SEM$	49
Tabulka 5 Antiproliferativní aktivita testovaných sloučenin na nediferencovaných buňkách SH-SY5Y vyjádřená jako IC ₅₀ $\pm SEM$	50

1 ÚVOD

Předkládaná diplomová práce se zaměřuje na vývoj nové skupiny potenciálních léčiv určených k terapii Alzheimerovy choroby se zaměřením na inhibici acetylcholinesterázy, butyrylcholinesterázy, podjednotky GluN1/GluN2B *N*-methyl-D-aspartátového receptoru, monoaminoxidázy A a monoaminoxidázy B. Všechny tyto biologické cíle byly voleny s ohledem faktu, že jejich narušení probíhá současně v pokročilém stádiu Alzheimerovy choroby, a mohou tedy lépe adresovat potřeby symptomatické léčby [1–3]. První část je věnována obecným poznatkům o Alzheimerově nemoci, rizikových faktorech, patofyziologii a současných možnostech léčby tohoto onemocnění. V druhé části je popsán návrh syntézy a *in silico* predikce fyzikálně-chemických vlastností, biologické dostupnosti a prostupu přes hematoencefalickou bariéru nových chinazolinových derivátů. Následně je uvedena vlastní chemická syntéza a *in vitro* biologické testování.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 ALZHEIMEROVA CHOROBA

Alzheimerova choroba (AD, z angl. Alzheimer's disease) patří mezi neurodegenerativní progresivní onemocnění, které se postupně projevuje kognitivním deficitem, zhoršením paměti a behaviorálními dysfunkcemi. Jedná se o nejčastější příčinu vzniku demence. [4]

2.1.1 Historie

První zmínka o AD se objevila na setkání německých psychiatrů v Tübingenu 3. listopadu 1906, kde německý lékař Alois (Aloysius) Alzheimer popisoval stav své pacientky, která trpěla „podivným onemocněním mozkové kůry“. Avšak u ostatních kolegů následný Alzheimerův popis nevzbudil větší pozornost, neboť stav, o němž hovořil, byl tehdy často považován za projev stařecké slabosti. Teprve v roce 1910 profesor Emil Kraepelin ve své knize *Psychiatrie pro lékaře a studenty* podněcoval k využití Alzheimerova objevu jako modelového případu a zavedl pro tuto nemoc pojmenování *morbus Alzheimer* – Alzheimerova choroba. [5]

Alzheimer nebyl jediný, kdo se tímto onemocněním zabýval. Ve stejné době zkoumal tuto chorobu také německý žid Oskar Fischer, který působil na německé lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Praze [5]. Fischerova práce se s Alzheimerovou shodovala v popisu hlavních příznaků AD, avšak oproti Alzheimerovy vycházela z pozorování většího počtu pacientů. Zatímco Alzheimer vycházel ze vzorku jediné pacientky, Fischer publikoval 12 pozitivních nálezů. Jeho objev ale upadl v zapomnění kvůli vyhroceným národnostním sporům, antisemitismu i zmíněné konkurenci mezi neuropatologi. Až v souvislosti se stým výročím popsání Alzheimerovy nemoci byl jeho vědecký odkaz znovu objeven [6].

2.1.2 Prevalence a incidence

Na počátku 20. století byla AD vnímána jako vzácná patologie. V současnosti tímto onemocněním trpí 2,5 % celkové populace v Evropě a stává se tak 4. nejčastější příčinou úmrtí [5]. V České republice v roce 2022 bylo evidováno 165 000 případů [7].

Z epidemiologických dat lze vyčíst, že prevalence AD vykazuje exponenciální růst odpovídající přibližně dvojnásobku každých pět let. Vzhledem k tomuto trendu je možné předpokládat, že v průběhu druhé poloviny tohoto století nastane výrazný nárůst celosvětového počtu jedinců trpících tímto onemocněním, přesněji z 50 milionů na přibližně 152 milionů. [8, 9]

2.1.3 Symptomy

AD lze klasifikovat dle symptomů do čtyř klinických fází. První je tzv. **preklinická** či **presymptomatická fáze**, která může trvat několik let. V této fázi nemoci nejsou pozorovány žádné zjevné klinické příznaky a pacienti jsou schopni plně vykonávat své běžné denní aktivity [10–12]. V druhé **rané fázi** AD se začínají projevovat první známky onemocnění, které negativně zasahují pacientům do běžného života. Objevuje se porucha koncentrace a paměti, dezorientace v prostoru a čase nebo výkyvy nálad a rozvoj deprese [12, 13]. Ve třetí **středně pokročilé fázi** onemocnění zasahuje do oblasti mozkové kůry. Toto stádium je charakterizováno zvýšenou ztrátou paměti, která je doprovázena obtížemi s rozpoznáváním členů rodiny a přátel. Postižený má v této fázi problémy se čtením, psaním a mluvením [12]. Ve čtvrtém **pozdním stádiu AD** dochází k rozsáhlému poškození všech mozkových struktur s významnou akumulací neuritických plaků a neurofibrilárních klubek. Tento stav má za následek progresivní funkční a kognitivní poruchy. Jedinec není schopen sám zvládat úkoly běžného života a je tak zcela odkázán na pomoc druhých. Vzhledem k vážnosti onemocnění jsou pacienti v této fázi AD často upoutáni na lůžko [10, 14].

2.1.4 Diagnóza

V roce 1984 pracovní skupina z *United States National Institute for Communicative Disorders and Stroke—the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* vydala diagnostický a statistický manuál duševních poruch, ve kterém stanovila kritéria pro rozpoznání AD. Diagnostikou lze určit buď tzv. pravděpodobný stav nemoci, nebo patologický stav s plně manifestovanou patologií AD. Kritéria pro **pravděpodobnou AD** zahrnují výskyt demence potvrzené neuropsychologickými testy, deficit alespoň ve dvou kognitivních oblastech, ztrátu paměti a s tím související zhoršené vykonávání každodenních aktivit. Stav pravděpodobné AD je dále

doprovázen například postupným zhoršováním specifických kognitivních funkcí, a to poruchou mluvy (afázie), poruchou motoriky (apraxie) nebo ztrátou vnímání (agnozie). Zmíněné symptomy se vyskytují s různou variabilitou ve věku od 40 let do 90 let. Diagnóza pro **patologický stav AD** obvykle vyžaduje histopatologické potvrzení získané z biopsie, nebo se provádí *post mortem*. [15]

2.2 RIZIKOVÉ FAKTORY PRO VZNIK AD

2.2.1 Věk

Věk představuje jeden ze základních rizikových faktorů souvisejících s neurodegenerativními onemocněními, jako je právě AD nebo Parkinsonova choroba (PD, z angl. Parkinson's disease) [16]. Na základě epidemiologických studií bylo zjištěno, že stoupající věk koresponduje s nárůstem incidence AD [17–20]. Nemoc postihuje mladé jedince vzácně, většina případů začíná až po 65. roku života. AD se může na základě věku dělit na dva podtypy, kdy onemocnění propuklo, a to na AD s časným nástupem, která zaujímá pouze 10 % případů, a AD s pozdním nástupem [21].

2.2.2 Apolipoprotein E4

Apolipoprotein (ApoE) je glykoprotein, jehož exprese probíhá zejména v játrech a mozku. V lidském organismu jej produkují astrocyty a mikroglie. ApoE zprostředkovává vazbu lipoproteinů nebo lipidů v plasmě nebo intersticiálních tekutinách ke specifickým buněčným receptorům. Podílí se např. na endocytóze cholesterolu. ApoE je rovněž nezbytný pro produkci myelinu a normální funkci mozku [22]. Gen pro ApoE existuje ve třech polymorfních variantách – $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ a $\epsilon 4$. Nejvíce zastoupenou formou v populaci je varianta $\epsilon 3$ (77,9 %), následována $\epsilon 4$ (13,7 %) a $\epsilon 2$ (8,4 %). *ApoE* $\epsilon 4$ přispívá ve zvýšené míře k ukládání A β do senilních plaků. Přítomnost této alely vede k hyperlipidemii a hypercholesterolemii [23].

2.2.3 Genetika

Genetické faktory se podílí na vzniku až 70 % případů AD. Nejčastěji se jedná o mutace v genech, jako je amyloidový prekurzorový protein (APP), presenilin-1, presenilin-2 a ApoE. [24, 25]

2.2.4 Další rizikové faktory

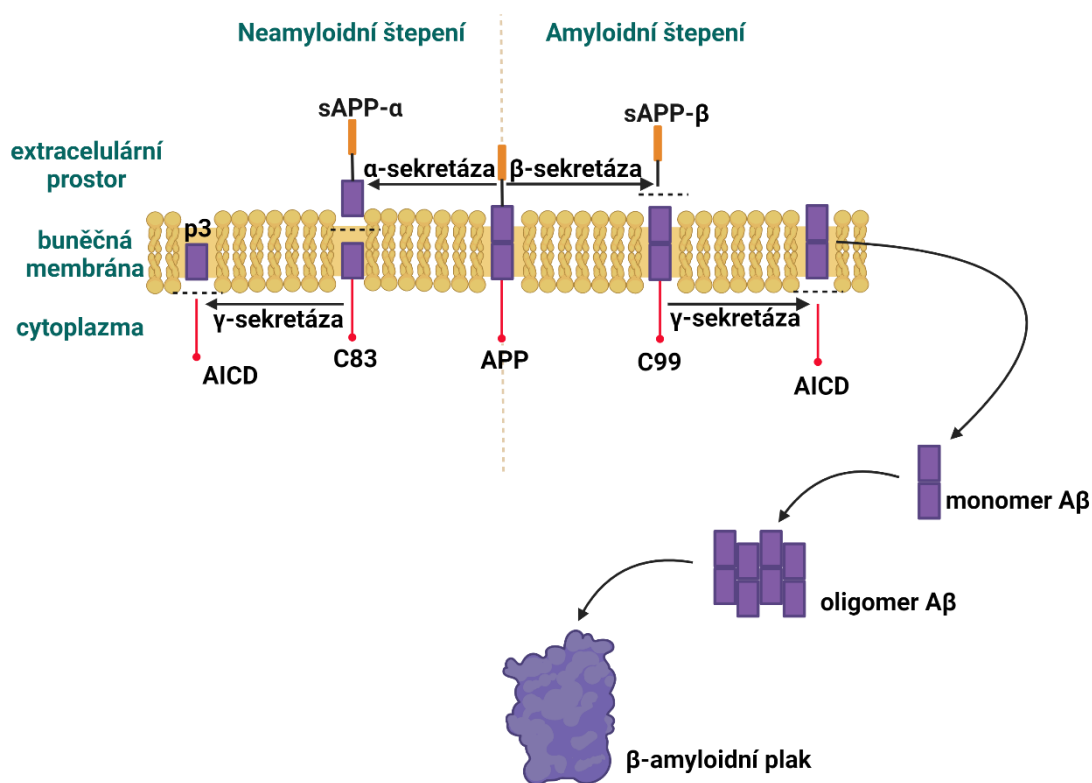
Mezi další faktory, které mohou mít vliv na rozvoj či progresi AD patří pohlaví jedince, kde byla zjištěna vyšší prevalence u žen, dále zranění hlavy, předchozí psychiatrická onemocnění, narušená životospráva (užívání tabákových výrobků), podvýživa u osob, které prošly extrémním hladověním, nebo vliv negativních faktorů životního prostředí, jako je např. expozice těžkými kovy. [26]

2.3 PATOFYZIOLOGIE AD

I přesto, že je příčina vzniku AD neznámá, lze v kontextu této patologie pozorovat biochemické a morfologické změny, které mohou vést k přesnější charakterizaci tohoto onemocnění. Mezi procesy ovlivňující vznik AD patří shlukování amyloidu β ($A\beta$) do toxických oligomerů a následně amyloidních plaků a hyperfosforylace tau proteinu zapříčiňující destabilizaci mikrotubulů v neuronech. Dále dochází ke vzniku neurozánětu a narušení neurotrasmiterových systémů. [27]

2.3.1 Senilní plaky

Senilní (neuritické) plaky jsou extracelulární depozita beta-amyloidního proteinu ($A\beta$), která se vyskytují v mozkové kůře pacientů s AD. $A\beta$ vzniká z amyloidového prekurzorového proteinu (APP) (**obrázek 1**), který je syntetizován v endoplasmatickém retikulu. APP se štěpí za fyziologických podmínek enzymem α -sekretázou (EC 3.4.24.81) na rozpustný amyloidní protein- α (sAPP- α) a membránově vázaný fragment α -C terminální fragment (C83) [28]. sAPP α se podílí na proliferaci, neuroprotekcii, synaptické plasticitě, tvorbě paměti, neurogenezi a neuritogenezi [29]. Fragment C83 se následně štěpí γ -sekretázou (EC 3.4.23) za vzniku peptidu p3 a amyloidní intracelulární domény (AICD). Tato cesta se označuje jako neamyloidní. Za patologických podmínek je APP rozštěpen nejprve β -sekretázou (BACE-1, z angl. beta-site APP cleaving enzyme 1, enzym štěpící beta-místo APP 1; EC 3.4.23.46) na solubilní amyloidní protein- β (sAPP- β) a membránově vázaný β -C terminální fragment (C99), který je následně štěpen γ -sekretázou na krátké peptidy o délce 38-43 aminokyselin a AICD. Mezi nejčastější monomery patří ty o délce 40 nebo 42 aminokyselin ($A\beta_{1-40}$ a $A\beta_{1-42}$), které následně koagulují a polymerují v $A\beta$ [30, 31]. Rozpustné oligomery $A\beta_{1-42}$ způsobují nejvyšší neurotoxicitu, zatímco nerozpustné fibrilární formy $A\beta_{1-42}$, které tvoří většinu senilních plaků, jsou méně toxické. Naproti tomu oligomerní i fibrilární forma $A\beta_{1-40}$ nezpůsobuje poškození neuronálních buněk, avšak kromě mozkové kůry se $A\beta_{1-40}$ nachází také v cévách, kde je zodpovědný za pozdější rozvoj cerebrální amyloidové angiopatie [32, 33].

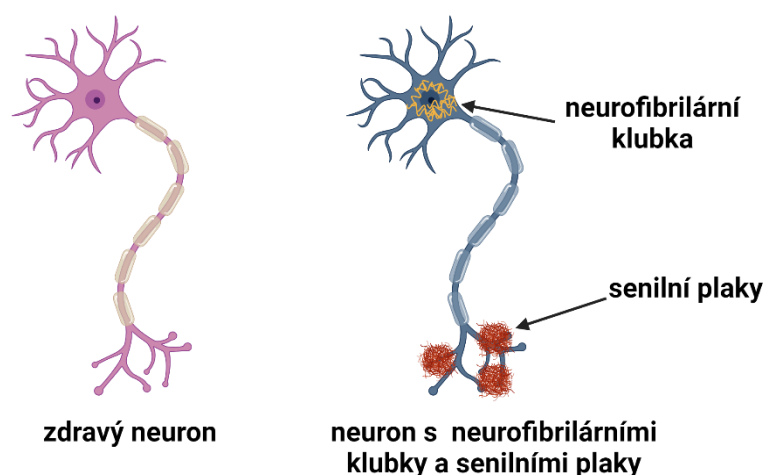


Obrázek 1 Neamyloidní cesta štěpení APP (vlevo): APP je štěpen nejprve enzymem α -sekretázou a následně enzymem γ -sekretázou za vzniku fragmentů sAPP α , p3 a AICD. Amyloidní cesta (vpravo): APP je enzymaticky rozkládán pomocí BACE-1 a γ -sekretázy na sAPP β , AICD a monomer A β . Následně se monomery shlukují do oligomerů a polymerují za vzniku β -amyloidního plaku. [28]

2.3.2 Neurofibrilární klubka

Neurofibrilární klubka (NFT, z angl. neurofibrillary tangles) jsou intracelulární shluky hyperfosforylovaného tau proteinu (**obrázek 2**), které jsou přítomny u pacientů nejen s AD, ale i např. s PD, Downovým syndromem nebo s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS). Nefosforylovaný, případně částečně fosforylovaný tau protein se podílí na shlukování mikrotubulů a stabilizaci neurofilament v neuronech. Za patologických podmínek dochází k odštěpování aminokyselin z N-konce a C-konce tau proteinu a hyperfosforylaci zbytku peptidového řetězce [34]. Po fosforylaci se tau monomery shlukují v oligomery, které pak agregují do struktury beta skládaného listu s následným vytvořením NFT. Mezi enzymy ovlivňující fosforylaci tau proteinu patří např. glykogen-syntáza kináza 3 β (EC 2.7.11.1), která řídí

fosforylaci zbytků aminokyselin serinu a threoninu, dále ji ovlivňují cyklin-dependentní kináza 5 (EC 2.7.11.22), AMP-aktivovaná protein kináza (EC 2.7.11.3) a protein kináza A (2.7.11.11). Tau je ve vodě rozpustný protein, avšak jeho agregáty, které jsou příčinou narušení struktury a funkce neuronu, jsou nerozpustné [35]. Některé studie naznačují existenci interakcí mezi $A\beta$ a tau proteinem. Nicméně přímá korelace hladin a specifický vztah mezi $A\beta$ a inkluzemi tau proteinu v mozku postiženém AD zůstávají nejasnými [36–38].



Obrázek 2 Znárodnění zdravého neuronu (vlevo) a neuronu s neurofibrilárními klubky a senilními plakami (vpravo).

2.3.3 Neurozáněť

Záněť nervové tkáně je časným rysem AD. Zůstává však nejasné, zda záněť iniciuje, nebo urychluje progresi onemocnění [39]. Základní mechanismy, které se podílejí na vzniku neurozáněti, zahrnují aktivaci gliových buněk, uvolnění prozánětlivých mediátorů nebo aktivaci složek komplementu. Jedním z možných faktorů může být tvorba a ukládání $A\beta$. Dle některých studií jsou $A\beta$ rozpoznávány receptory nespecifické imunity, např. toll-like receptory [40, 41]. Aktivací těchto receptorů jsou spuštěny signální dráhy v buňkách nespecifické imunity (např. v monocitech, eozinofilech, bazofilech, NK buňkách) a v T buňkách, což vede k produkci prozánětlivých cytokinů, aktivaci T buněk a k následnému rozvoji záněti [42].

2.3.4 Oxidativní stres

Deregulovaný redoxní systém je jedním z prvotních nálezů AD. Oxidativní stres (OS) nastává v důsledku nerovnováhy mezi tvorbou a eliminací volných radikálů. Tato dysbalance vede k aktivaci různých buněčných signálních drah, které jsou spojovány s nejrůznějšími patologickými stavy, včetně neurodegenerativních procesů, diabetes mellitus, kardiovaskulárních chorob a procesů stárnutí [43–45]. Volné radikály jsou molekuly s alespoň jedním nepárovým elektronem a projevují vysokou reaktivitu. Nejvýznamnější a nejčastější skupinou radikálů vznikajících v lidském organismu jsou radikály odvozené od kyslíku (ROS, z angl. reactive oxygen species) a radikály odvozené od dusíku (RNS, reactive nitrogen species). Mezi ROS a RNS se řadí např. superoxidový radikál, peroxid vodíku, hydroxylové radikály, peroxylové radikály, oxid dusnatý nebo peroxyinitrit [46].

Zdroje ROS/RNS mohou být endogenní a exogenní. K endogenní produkci dochází nejčastěji v mitochondriích působením cytochromu P450, lipoxygenázy nebo NADPH-oxidázy. Mezi exogenní zdroje patří ultrafialové či ionizující záření, některá léčiva (např. cyklosporin, bleomycin, gentamycin), alkohol nebo zplodiny, které vznikají při užívání tabákových výrobků [46, 47]. Za fyziologických podmínek se ROS a RNS podílí na udržení redoxní homeostázy v tkáních a eliminaci mikrobiálních patogenů. Při narušení jejich rovnováhy dochází k oxidativním změnám v buňkách a modifikují se tak sacharidy, lipidy, proteiny a nukleové kyseliny. V závislosti na typu makromolekuly, na kterou ROS/RNS působí, OS může zapříčinit oxidaci proteinů, sacharidů, DNA nebo peroxidaci lipidů. OS také úzce koresponduje s agregací a ukládáním A β , přičemž poškozené struktury vlivem A β generují ROS a RNS [43, 46].

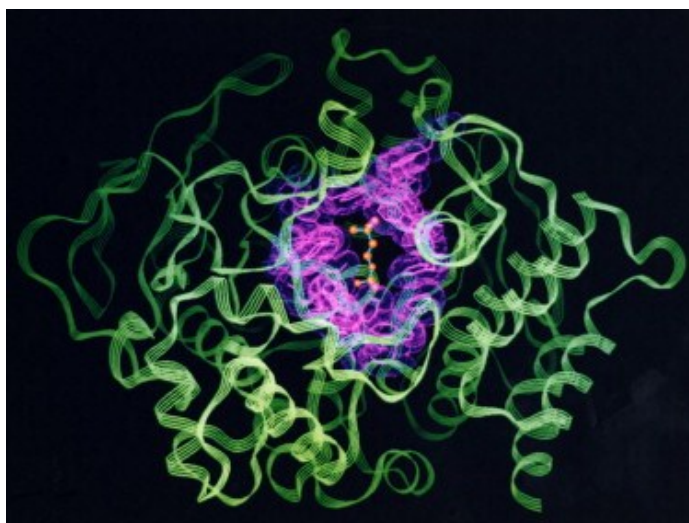
2.3.5 Cholinergní systém

2.3.5.1 Cholinesterázy

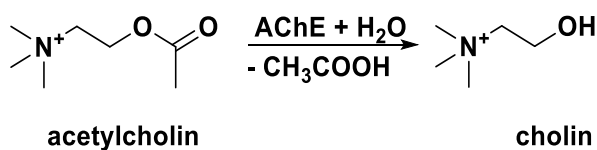
Cholinesterázy (ChE) představují důležitou skupinu serinových hydroláz, které katalyzují hydrolýzu esterů cholinu. U obratlovců se vyskytují dvě formy ChE kódované dvěma odlišnými geny. Prvním typem je acetylcholinesteráza (AChE, EC 3.1.1.7) známá také jako pravá, specifická ChE nebo ChE typu 1. Druhým enzymem je butyrylcholinesteráza (BChE, EC 3.1.1.8) označovaná též jako pseudocholinesteráza, nespecifická ChE nebo ChE typu 2. [48]

2.3.5.1.1 Acetylcholinesteráza

AChE (**obrázek 3**) se vyskytuje v plicích, ledvinách a hematopoetickém systému, ale zejména v centrální nervové soustavě (CNS) na presynaptických nervových zakončeních [48]. Její hlavní funkcí je hydrolýza neurotransmiteru acetylcholinu (ACh) (**obrázek 4**) na cholinergních synapsích [49].



Obrázek 3 Znárodnění aktivního místa AChE (růžová barva) s navázaným ACh (molekula uvnitř aktivního místa). Převzato z literatury [50].

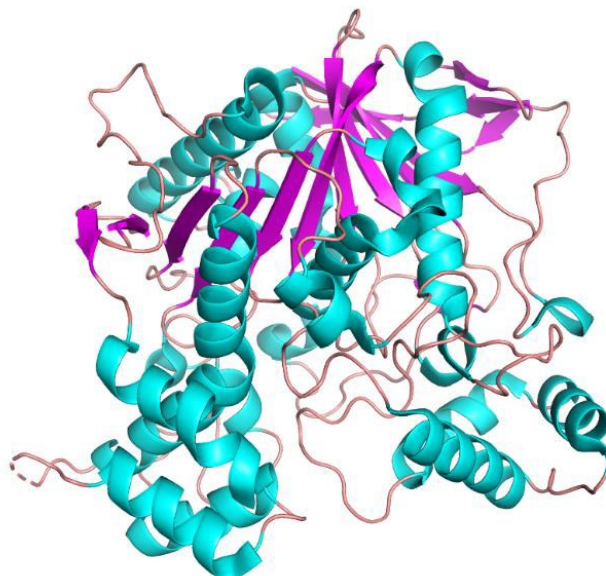


Obrázek 4 Hydrolýza ACh za katalytického působení enzymu AChE.

2.3.5.1.2 Butyrylcholinesteráza

BChE (**obrázek 5**), též známá jako sérová ChE, je enzym primárně přítomný v krevní plasmě, ale také v játrech, hladké svalovině, střevech, slinivce břišní, neuronech nebo gliích. BChE hydrolyzuje různé druhy esterů cholinu, avšak oproti AChE vykazuje vyšší afinitu např. k butyrylcholinu nebo propionylcholinu. Tento enzym je schopen metabolizovat i necholinové estery, jako jsou lokální anestetika

(prokain, bupivakain, suxamethonium, kokain). V organismu se BChE podílí např. na metabolismu lipoproteinů, udržování myelinu, buněčné adhezi a neurogenezi [51]. Enzym se může využít v profylaxi otrav nervově paralytickými látkami (NPL) nebo k léčbě intoxikace organofosforovými inhibitory jako tzv. bioscavengery [51, 52].



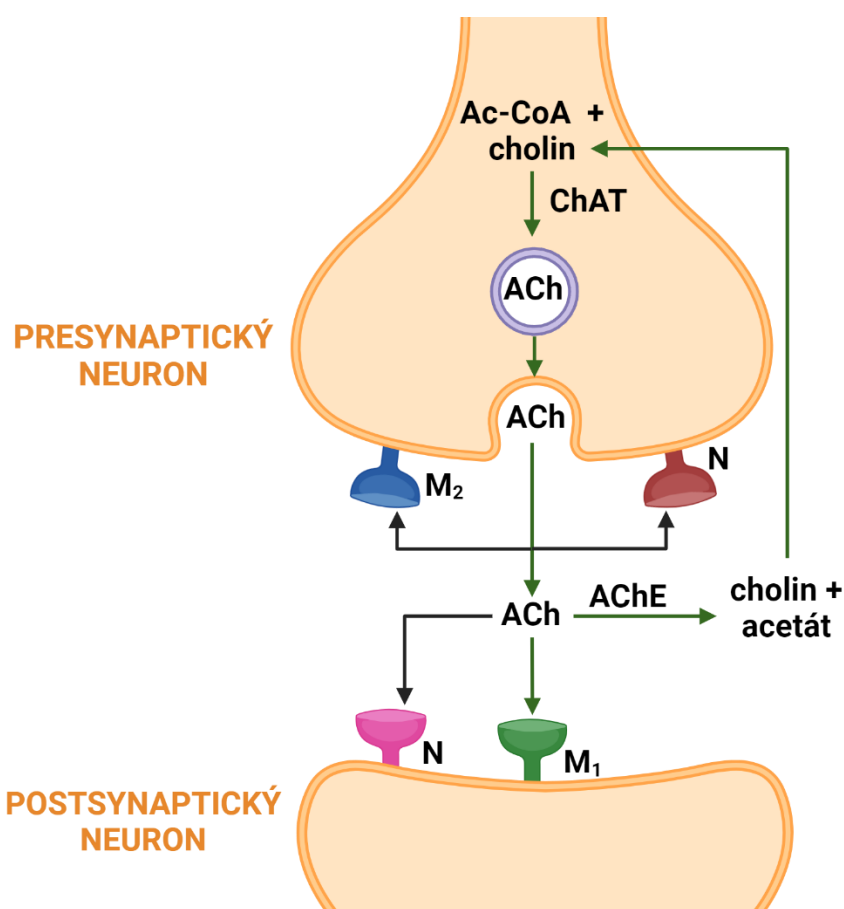
Obrázek 5 3D struktura lidské BChE (PDB ID: 4BDS) [53]. Převzato z literatury [54].

V kontextu patofyziologie AD bylo prokázáno, že v pokročilých fázích tohoto onemocnění dochází k významnému snížení aktivity enzymu AChE na pouhých 55-67 % fyziologických hodnot, zatímco aktivita BChE stoupá. V průběhu nemoci BChE přebírá roli enzymu AChE [55, 56]. Dle některých studií BChE může též přispívat k agregaci A β [57–59]. Jak AChE, tak i BChE se hromadí v amyloidních placích a jsou přítomny v NFT. Přidání BChE k A β v tkáňových kulturách zvyšuje toxicitu A β , což naznačuje možné terapeutické využití inhibitorů BChE v léčbě AD [55, 56].

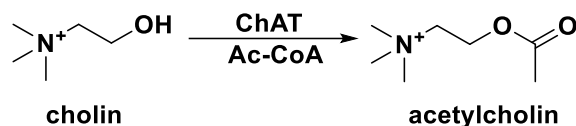
2.3.5.2 Cholinerní neurotransmise

Cholinerní transmise má největší zastoupení v talamu, striatu, limbickém systému a mozkové kůře. Hraje důležitou roli v procesech spojených s pamatováním, učením a pozorností [60]. Účinek ACh je zprostředkován dvěma typy cholinerních receptorů, muskarinovými a nikotinovými. **Muskarinové receptory** jsou spřažené

s G-proteinem. M1 muskarinový receptor se vyskytuje postsynapticky v mozkové kůře nebo hipokampu, zatímco M2 muskarinový receptor se nachází v cholinergních presynaptických zakončeních neuronů [61, 62]. Samotný proces cholinergní neurotransmise (**obrázek 6**) začíná uvolněním ACh do synaptické štěrbiny. ACh se zde naváže na receptor M1 a tím dochází k přenosu signálu z jednoho neuronu na druhý. Receptorem uvolněný ACh v synapsi je rozkládán činností AChE. Rozkladné produkty (cholin a acetát) jsou zpětně vychytávány do neuronu pro resyntézu ACh za účasti acetylkoenzymu A (Ac-CoA) a cholinacetyltransferázy (ChAT; EC 2.3.1.6.) (**obrázek 7**) [60].



Obrázek 6 Znárodnění fyziologické cholinergní neurotransmise. Neurotransmitter acetylcholin (ACh) se po uvolnění do synaptické štěrbiny váže na nikotinové (N) a muskarinové (M₁, M₂) receptory. Následně je receptorem uvolněný ACh v synapsi enzymaticky rozložen na cholin a acetát. Cholin je zpětně vychytáván do presynaptického neuronu pro resyntézu ACh za využití acetylkoenzymu A (Ac-CoA) a působení cholinacetyltransferázy (ChAT). [60]



Obrázek 7 Syntéza ACh z cholinu a Ac-CoA za působení ChAT. [54]

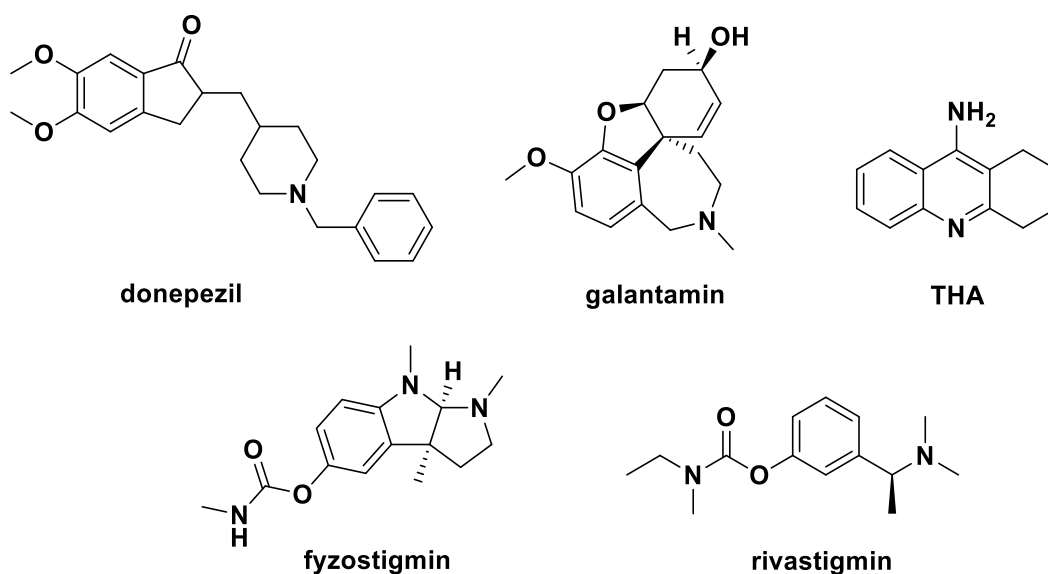
Nikotinové receptory (N receptory) jsou ligandem řízené kationtové kanály umístěny presynapticky i postsynapticky. Dělí se na dva podtypy podle síly vazby s nikotinovým agonistou. N receptory s vysokou afinitou vážou ACh, nikotin a cytisin, N receptory s nízkou afinitou slouží pro vazbu s abungarotoxinem. [63]

Dle dostupných dat dochází u těžkých forem AD k významnému oslabení vazby M1 receptoru na G-protein. U M2 receptoru zůstává vazba na G-protein zachována, avšak počet receptorů výrazně klesá [61, 62, 64]. V případě N receptorů dochází k poklesu exprese a schopnosti vázat agonistu. Důsledkem toho se rozvíjí neurodegenerace a zhoršují se kognitivní funkce [63, 65].

2.3.5.3 Inhibitory AChE

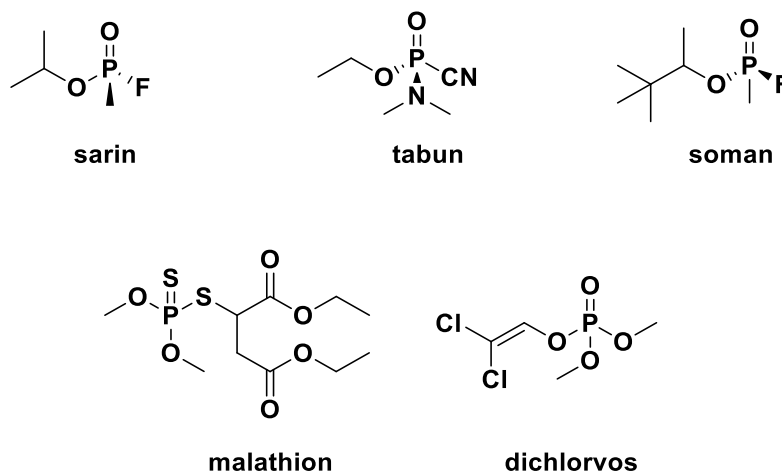
Inhibitory AChE (IAChE) patří do skupiny nepřímých cholinomimetik. Jedná se o různorodou skupinu sloučenin, které brání rozkladu neurotransmiteru ACh prostřednictvím inhibice AChE v synaptických štěrbinách, čímž zvyšují jeho dostupnost v mozku. Zvýšení hladin ACh stimuluje kognitivní funkce, čehož je využíváno při léčbě AD. Bližší pojednání o IAChE zavedených do klinické praxe je uvedeno v kapitole 2.4.1. IAChE lze rozdělit dle mechanismu působení na reverzibilní, pseudo-ireverzibilní a ireverzibilní. [66]

Reverzibilní inhibitory vytvářejí nekovalentní interakce v aktivním místě enzymu. Mezi zástupce reverzibilních inhibitorů patří např. donepezil, galantamin nebo dříve používaný takrin (THA, 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroakridin) (**obrázek 8**). Při **inhibici pseudo-ireverzibilní** dochází ke kovalentní interakci enzymu a inhibitoru. Při tomto jevu je v aktivním místě enzymu esterifikována postranní hydroxylová skupina serinového zbytku. Vzniklá karbamoylová vazba na serin je však časem hydrolyzována a aktivní místo enzymu se stává znovu přístupným. Do této skupiny inhibitorů se řadí zejména karbamáty jako např. fyzostigmin nebo rivastigmin (**obrázek 8**). [66, 67]



Obrázek 8 Vybrané struktury reverzibilních a pseudo-ireverzibilních IChE.

Ireverzibilní inhibitory se též vážou do aktivního místa AChE kovalentně. Avšak při tomto ději dochází ke vzniku velmi stabilního komplexu enzym-inhibitor. Obnovení aktivity AChE lze docílit využitím reaktivátorů AChE (výrazně nukleofilní sloučeniny, v praxi používané oximové reaktivátory) nebo syntézou enzymu *de novo* [66, 67]. Do této souhrnně označované skupiny organofosfátů se řadí NPL (sarin, tabun, soman) a organofosforové pesticidy (malathion, dichlorvos) (**obrázek 9**) [51, 68, 69].



Obrázek 9 Vybrané struktury ireverzibilních IChE.

2.3.6 Glutamátergní systém

Glutamátergní systém je hlavní excitační systém, který zahrnuje interakci s glutamátovými receptory. Mezi tyto receptory patří ionotropní glutamátové receptory (iGluR) spřažené s iontovým kanálem a metabotropní glutamátové receptory (mGluR) spřažené s G-proteinem. iGluR, které lze klasifikovat do tří skupin, nesou pojmenování dle nejspecifičtějšího agonisty. Jedná se o receptory **AMPA** (AMPA, zkratka AMPA je odvozena od syntetického agonisty tohoto receptoru, tedy α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionová kyselina), **kainátové receptory** a **N-methyl-D-aspartátové receptory** (NMDAR) [70]. Naproti tomu existuje 8 typů mGluR, které se účastní modulace neuronální excitability, synaptického přenosu a plasticity v CNS [71].

2.3.6.1 N-methyl-D-aspartátové receptory

NMDAR jsou glutamátem aktivované iontové kanály, které jsou klíčové pro procesy učení a paměti. Jejich narušená funkce vede k závažným neurologickým, neurovývojovým a psychiatrickým chorobám, jakými jsou např. schizofrenie, poruchy autistického spektra, epilepsie či PD a AD. Pro účinný vývoj nových léčiv zaměřených na cílenou modulaci NMDAR je nezbytné porozumět jejich struktuře. [70]

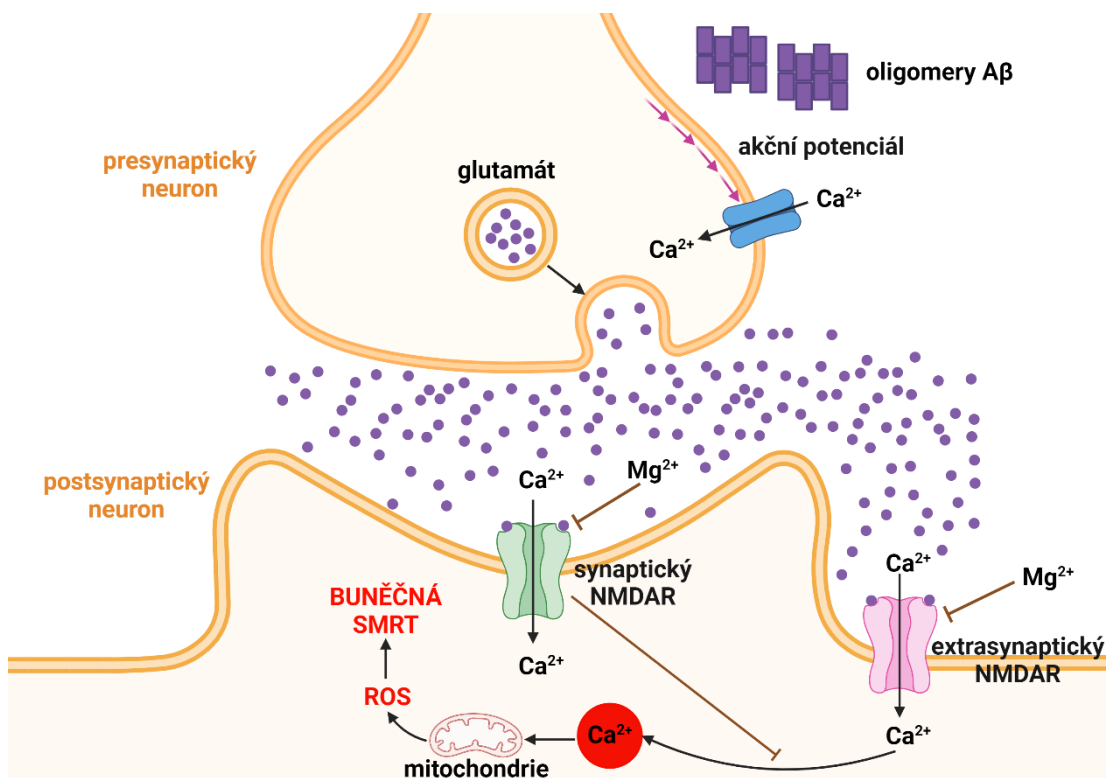
Receptor je složen ze dvou podjednotek **GluN1** a dvou podjednotek buď **GluN2** (GluN2A – D) nebo **GluN3** (GluN3A, GluN3B). Aktivace receptoru vyžaduje obsazení minimálně dvou glycinových a dvou glutamátových míst. Vazebné místo pro koagonistu glycin se nachází na podjednotkách GluN1 a GluN3, zatímco vazebné místo pro agonistu glutamát se vyskytuje na podjednotce GluN2. [72, 73]

V kontextu s neurodegenerativními procesy, které se vyskytují u pacientů s PD, AD nebo Huntingtonovou chorobou, je spojována nadměrná aktivace podjednotky **GluN1/GluN2B** NMDAR. Tato podjednotka má tzv. ifenprodilové vazebné místo na rozhraní amino-termální domény mezi podjednotkou GluN1 a GluN2B NMDAR a spojuje subdoménu GluN2B R1 se subdoménou GluN2B R2 [54, 72, 73]. Selektivní modulátory NMDAR, které cílí na podjednotku GluN1/GluN2B, proto představují slibnou možnost pro další výzkum a potenciální léčbu těchto onemocnění [72].

2.3.6.2 Glutamatergní neurotransmise a excitotoxicita

Glutamatergní neurotransmise (**obrázek 10**) je proces řízený neurotransmiterem glutamátem stimuluujícím glutamátové receptory. Po navázání agonisty a koagonisty na receptor dochází k depolarizaci membrány, uvolnění Mg^{2+} a aktivaci NMDAR vstupem Ca^{2+} do buňky. [74, 75]

Při nadměrné nebo prodloužené aktivitě extrasynaptických NMDAR dochází k trvalému influxu Ca^{2+} do neuronů. To má za následek dysfunkci mitochondrií, nadprodukcí ROS, neuronální dysfunkci a apoptózu buněk. Tento jev je označován jako **excitotoxicita**. Naproti tomu aktivace synaptických NMDAR působí převážně neuroprotektivním účinkem [74, 76]. Jednou z příčin nadměrné aktivace receptorů jsou oligomery $A\beta$, které snižují zpětné vychytávání glutamátu a dochází tím k patologicky zvýšeným hladinám tohoto neurotransmiteru [77].



Obrázek 10 Znárodnění glutamatergní neurotransmise a excitotoxicity.

2.3.6.3 Antagonisté NMDAR

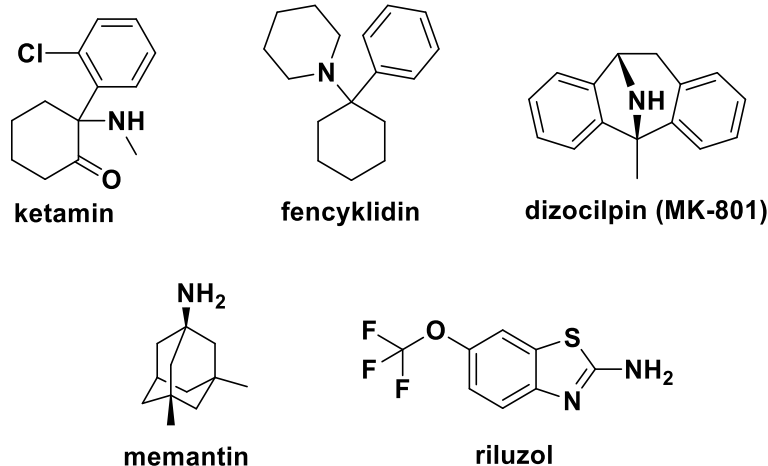
Antagonisté NMDAR (**obrázek 11**) se mohou využít jako léčiva při onemocněních CNS souvisejících s excitotoxicitou vyvolanou glutamátem. Mezi nejznámější antagonisty NMDAR používající se při léčbě AD patří **memantin** [78]. Bližší pojednání o této sloučenině je uvedeno v kapitole 2.4.2.1.

Dalším známým antagonistou NMDAR je **fencyklidin**, který se používal jako silné analgetikum a anestetikum. Jeho podávání je spojeno s výskytem nežádoucích účinků (těžké kognitivní a smyslové poruchy, agitovanost a agresivní a bizarní chování), kvůli kterým se přestal fencyklidin jako léčivo používat. [79]

Dizocilpin (MK-801) je vysokoafinitním antagonistou NMDAR, který byl původně testován jako antikonvulzivum s potenciálními anxiolytickými účinky a také jako neuroprotektivum v modelu mozkové ischemie. Avšak kvůli svým nežádoucím účinkům nebyl nikdy zaveden do praxe. Hlavním nežádoucím účinkem po jeho podání je hyperlokomoce. Ta se ovšem stala cennou vlastností pro farmakologický model schizofrenie, kde navozuje pozitivní a kognitivní symptomy nemoci. Správným dávkováním MK-801 a jeho derivátů dochází ke zlepšení kognitivních funkcí, které se testují k potenciálnímu využití při léčbě AD. [80–82]

Ketamin se používá zejména pro anestezii, analgezi, sedaci a léčbu syndromů chronické bolesti. Díky jeho jedinečným farmakodynamickým vlastnostem se začal uplatňovat i v léčbě deprese [83]. Ketamin by mohl být i vhodným kandidátem pro léčbu AD, jelikož nedávné studie naznačují, že toto léčivo vykazuje neuroprotektivní a protizánětlivé účinky a zlepšuje kognitivní funkce. Přesto je nezbytné zdůraznit, že před jeho uplatněním v léčbě AD je třeba najít řešení pro jeho nežádoucí účinky zahrnující např. úzkost, zvýšenou podrážděnost a agresivitu [84–86].

Slibnou molekulou ze skupiny antagonistů NMDAR v léčbě AD se jeví již známý a používaný **riluzol**. Riluzol je benzothiazolový derivát, který má v současnosti schválenou indikaci k léčbě ALS [87]. Několik studií na potkanech uvádí, že riluzol lze využít pro léčbu patologických stavů spojených s AD. Bylo prokázáno, že při léčbě potkanů v pokročilém věku riluzolem nedocházelo k poklesu kognitivních funkcí, který se objevil u neléčených jedinců [87–89].



Obrázek 11 Vybrané struktury antagonistů NMDAR.

2.3.7 Monoaminergní systém

Monoaminergní systém je řízen dvěma flavoenzymy, jmenovitě **monoaminoxidázou A (MAO-A)** a **monoaminoxidázou B (MAO-B)** [90]. Mezi základní neurotransmitery monoaminergního systému patří monoaminy serotonin, dopamin, epinefrin (adrenalin) a norepinefrin (noradrenalin). Tyto monoaminy hrají významnou roli v komplexním chování jedince, kognitivních funkcích (učení a formování paměti) a v základních procesech lidského organismu, jako je spánek a přijímání potravy [91].

2.3.7.1 MAO-A, MAO-B

Obě izofomy MAO představují klíčové enzymy, které katabolizují monoaminy jak v CNS, tak i v periferní nervové soustavě. V CNS je MAO-A přítomna zejména v dopaminergních, adrenergních a noradrenergních neuronech, zatímco MAO-B se primárně nachází v gliích a serotoninergních neuronech [2]. Obě izofomy MAO se vyskytují též v různých poměrech v periferních tkáních, jako jsou střeva, játra, plíce a placenta [92].

U pacientů s AD byly prokázány změny v aktivitě obou izoforem MAO. Aktivita MAO-B je zvýšená v krevních destičkách a v některých oblastech mozku, zejména v hipokampu a mozkové kůře. K nárůstu hladin MAO-B dochází zejména v gliích obsahujících neuritické plaky. Tato změna může přispět k OS a progresi AD [2, 93]. Zvýšená aktivita MAO-A je též pozorován v několika oblastech mozku pacientů

s AD, např. v bazálních gangliích nebo thalamu. Nadměrná aktivita enzymu způsobuje vysoké hladiny toxických metabolitů, zejména 3,4-dihydroxyfenylglykolaldehydu a peroxidu vodíku jako zdroje hydroxylových radikálů [2, 94].

2.3.7.2 Inhibitory MAO

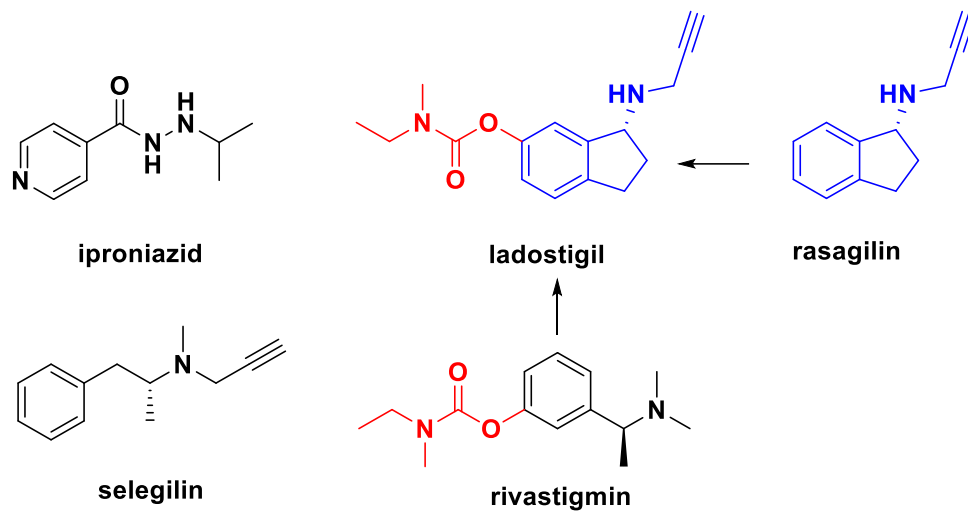
Inhibitory MAO (IMAO) (**obrázek 12**) byly připraveny přibližně před 50 lety a patří mezi první schválená antidepresiva [92]. Prvním zástupcem ze skupiny IMAO byl **iproniazid**, původně vyvinutý pro léčbu tuberkulózy. Následoval vývoj dalších IMAO jako antidepresiv ze skupiny derivátů hydrazinu (fenelzin). Avšak kvůli výskytu nežádoucích účinků (jaterní toxicita, hypertenzní krize, krvácení) bylo mnoho léčiv na bázi IMAO staženo z klinické praxe [92, 95].

Některé IMAO mají potenciál pozitivně ovlivňovat symptomy neurodegenerativních onemocnění, jako je AD nebo PD. Sloučeniny, které ve své molekule obsahují *N*-propargylaminový nebo *N*-methylpropargylaminový řetězec, vykazují vysokou selektivitu k enzymům MAO-A/B. Prokázalo se, že alifatické aminy s přímým řetězcem jsou snadno metabolizovány enzymy MAO s poměrně vysokou afinitou [92, 96, 97]. Prvním zástupcem těchto léčiv s *N*-methylpropargylaminovým řetězcem je **selegilin**. Jedná se o selektivní ireverzibilní IMAO-B, který se používá v monoterapii nebo v kombinaci s levodopou u pacientů s PD. Dle dostupných údajů selegilin poskytuje pouze mírné, krátkodobé zlepšení kognitivních funkcí [98–103].

Další ireverzibilní IMAO-B **rasagilin** obsahuje ve své molekule *N*-propargylaminový zbytek a používá se v monoterapii k léčbě příznaků časné PD, či jako doplňková terapie v pokročilejších stádiích onemocnění [104]. Potvrdilo se, že u pacientů s PD a schizofrenií léčenými rasagilinem dochází též k zlepšení kognitivních funkcí [105–107]. Několik studií uvádí, že rasagilin je vhodný do kombinace s již používanými IChE nebo antagonisty NMDAR při léčbě AD [105–109].

V neposlední řadě je nutné zmínit i sloučeninu **ladostigil**, která inhibuje selektivně MAO-A/B a zároveň i obě ChE v CNS [110]. Molekula ladostigilu vznikla strukturálním překryvem rivastigminového a rasagilinového skeletu. Tato sloučenina jako jediná z multipotentních sloučenin (MTDL, z angl. multi-target directed ligand) určená pro léčbu AD postoupila až do druhé fáze klinického hodnocení [110–112].

Testování však bylo ukončeno kvůli nedostatečné klinické účinnosti. Přesto vývoj ladostigilu naznačil nový směr v přístupu k léčbě AD [111, 113].

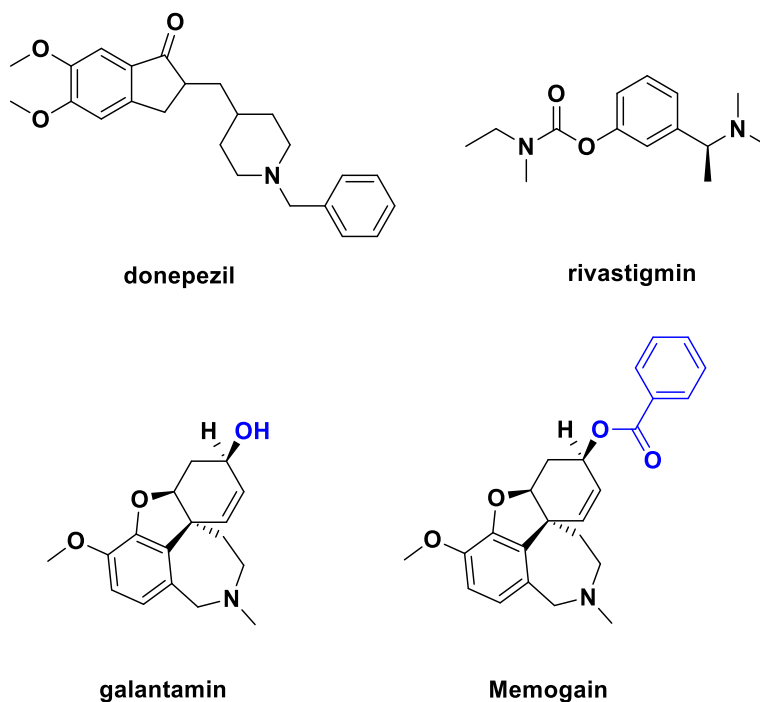


Obrázek 12 Vybrané struktury IMAO (selegilin, ladostigil, rasagilin, iproniazid) a struktura IChE (rivastigmin).

2.4 LÉČIVA V TERAPII AD

2.4.1 Inhibitory cholinesteráz

Pro symptomatickou léčbu AD je z řad IChE schválen donepezil, rivastigmin, galantamin a jeho proléčivo Memogain (**obrázek 13**). Takrin je uveden s ohledem historického vývoje IChE a v návaznosti na návrh chinazolinových derivátů v rámci experimentální části této diplomové práce.



Obrázek 13 Struktury IChE používaných při léčbě AD.

2.4.1.1 Takrin

THA je prvním IChE, který byl v roce 1993 schválen pro symptomatickou léčbu AD. Tato sloučenina reverzibilně inhibuje AChE, ale i BChE a vyznačuje se dobrou dostupností do CNS [114, 115]. Mechanismus účinku THA vykazuje komplexnější charakter, neboť kromě ovlivnění cholinergní transmise, byl popsán i napětově závislý účinek THA s afinitou k NMDAR. Avšak v porovnání s jinými validovanými léčivy ovlivňující NMDAR je tento účinek nižší [115, 116]. Řada studií rovněž poukazuje na schopnost této molekuly inhibovat obě izoformy enzymu MAO

[116–119]. Z důvodů nežádoucích účinků (hepatotoxicita, gastrotoxicita), však byla tato sloučenina v roce 2013 definitivně stažena z trhu [114].

2.4.1.2 Donepezil

Donepezil je vysoce selektivní reverzibilní IChE. První schválení pro symptomatickou léčbu AD proběhlo v roce 1996 v USA. Donepezil získal schválení například v USA, Kanadě nebo Japonsku i pro pacienty v těžkém stádiu AD, avšak v Evropské unii je používán pouze pro léčbu mírné až středně těžké formy AD [120, 121]. Nežádoucí účinky při používání tohoto léčiva bývají obvykle mírné, přechodné a vymizí během pokračující léčby bez nutnosti úpravy dávky. Týká se to především gastrointestinálních nežádoucích účinků, jako je nevolnost, průjem nebo zvracení. Dále se může objevit nespavost, únava, anorexie, závratě, ztráta hmotnosti, úzkost, synkopa či svalové křeče [122, 123].

2.4.1.3 Rivastigmin

Rivastigmin patří do skupiny karbamátů. Jedná se o účinný pseudo-ireverzibilní nekompetitivní inhibitor AChE i BChE. Do klinického užívání byl poprvé uveden v roce 2000 (FDA) pro léčbu mírné až středně těžké formy AD [124]. Vývoj rivastigminu vzešel z nutnosti vývoje nového IChE, který bude mít vyšší klinickou účinnost a lepší farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti ve srovnání s předchozími sloučeninami. Včasné podání tohoto léčiva maximalizuje pozitivní vliv na kognitivní funkce [124–127]. Nejvýraznějšími nežádoucími účinky rivastigminu jsou gastrointestinální příhody, které postupně vymizí při titrování dávky a užívání léčiva s jídlem [125].

2.4.1.4 Galantamin

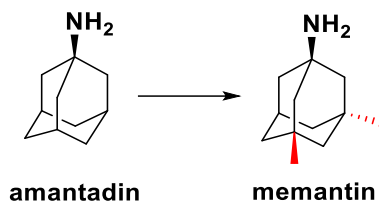
Galantamin je selektivní reverzibilní IChE. Poprvé byl izolován z cibulek a květů *Galanthus woronowii*. Poprvé byl schválen v USA ve stejném roce jako rivastigmin, a to pro symptomatickou léčbu lehké až středně těžké formy AD [114]. Zajímavá biologická aktivita tohoto léčiva v kombinaci s jeho omezenou dostupností z přírodních zdrojů vedla ke zvýšenému zájmu o syntézu této sloučeniny. Za tímto účelem bylo vyvinuto proléčivo galantaminu známé jako **Memogain** (Gln-1062).

Memogain se v mozku enzymaticky štěpí na galantamin a jeho biologická dostupnost v CNS je až 15krát vyšší než u ekvivalentní dávky galantaminu. Díky tomu dochází k výraznějšímu kognitivnímu zlepšení u pacientů trpících AD. Dále použití tohoto proléčiva vede k nižšímu výskytu gastrointestinálních nežádoucích účinků, které jsou spojovány s podáváním ostatních IChE [114, 128, 129].

2.4.2 Antagonisté NMDAR

2.4.2.1 Memantin

Memantin (**obrázek 14**), derivát amantadinu, byl poprvé schválen v Evropské unii v roce 2002 pro pacienty trpícími AD [130, 131]. Memantin účinkuje jako nekompetitivní, neselektivní, napětově řízený antagonist NMDAR s nízkou až střední afinitou. Přednostně se váže na kalciové kanály ovládané NMDAR. Memantin blokuje účinek dlouhodobě patologicky zvýšených hladin glutamátu, který může vést k neuronální dysfunkci [132].



Obrázek 14 Struktura amantadinu a memantinu.

Memantin se používá u pacientů se středně těžkou až těžkou formou AD. Pokud je memantin indikován a pacient již užívá IChE, je doporučeno pokračovat v podávání obou léčiv. Kombinační terapie IChE společně s memantinem vede k výraznějšímu zlepšení kognitivních funkcí než při samostatném užití jednotlivých léčiv. K dispozici je také fixní kombinace obsahující memantin a donepezil v jednom léčivém přípravku. Léčba memantinem je většinou dobře snášena. Nejčastějšími nežádoucími účinky bývá bolest hlavy a zácpa, a proto se pro zmírnění obtíží doporučuje pomalá titrace dávkování po dobu 4 týdnů k dosažení cílové dávky. [133, 134]

2.4.3 Monoklonální protilátky

V USA je z řad monoklonálních protilátek schválen adukanumab a lekanemab. V České republice v současné době tento typ léčiv není používán.

2.4.3.1 Adukanumab

Adukanumab, monoklonální protilátka (mAb, z angl. monoclonal antibody) lidského imunoglobulinu gamma 1 (IgG1), selektivně cílí na agregovaný A β , včetně neuritických plaků. Adukanumab byl v červnu 2021 v USA schválen jako první kauzální léčivo AD a je používán pro terapii mírné kognitivní poruchy nebo mírného stadia demence [135, 136]. Nicméně začátkem roku 2024 společnost Biogen, výrobce této mAb, oznámila ukončení výroby. Důvodem bylo rozhodnutí společnosti přeorientovat své zdroje na strategické zdroje pro léčbu AD [137]. I přesto je úspěšný vývoj adukanumabu považován za milník v léčbě AD a v tuto chvíli léčivo prochází schvalovacím procesem v Japonsku a Evropské unii [135, 136].

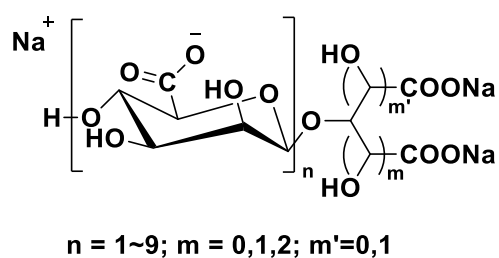
2.4.3.2 Lekanemab

Lekanemab je humanizovaný IgG1, který působí proti agregovaným rozpustným a nerozpustným formám A β peptidu. Pro indikaci AD byl schválen v USA v lednu 2023. Léčba touto mAb je obdobně jako u adukanumabu zahájena u pacientů s mírnou kognitivní poruchou nebo mírným stadiem demence a s potvrzenou přítomností patologie A β . Lekanemab prochází schvalovacím procesem v Evropské unii, Japonsku a Číně, přičemž klinický vývoj probíhá v několika dalších zemích po celém světě. [138]

2.4.4 Oligomanát sodný

Sloučenina GV-971, též známá jako **oligomanát sodný (obrázek 15)**, je oligosacharid získaný z mořských řas, který byl schválen v Číně v listopadu 2019 pro léčbu mírného až středně těžkého stadia AD. Pro schválení léčiva v USA, potažmo v Evropské unii, musí být proveden další výzkum, aby byla definitivně potvrzena jeho účinnost pro terapii AD. Jedna ze studií již probíhá a třetí fáze klinického hodnocení by měla být dokončena roku 2026. [139]

Oligomanát sodný cílí na střevní mikrobiom, avšak úplný mechanismus účinku zůstává stále nejasný [140]. V poslední době stále více studií naznačuje souvislost mezi střevní dysbiózou a progresí AD. Pomocí AD myších modelů bylo zjištěno, že během progresse AD vede změna složení střevního mikrobiomu k periferní akumulaci fenylalaninu a izoleucinu, což stimuluje diferenciaci a proliferaci prozánětlivých T pomocných 1 buněk. Tyto buňky se následně v CNS podílejí na aktivaci mikroglíí. Tento proces pak může přispět k rozvoji neurozánětu spojenému s AD [141–143].



Obrázek 15 *Struktura oligomanátu sodného.*

3 CÍL PRÁCE

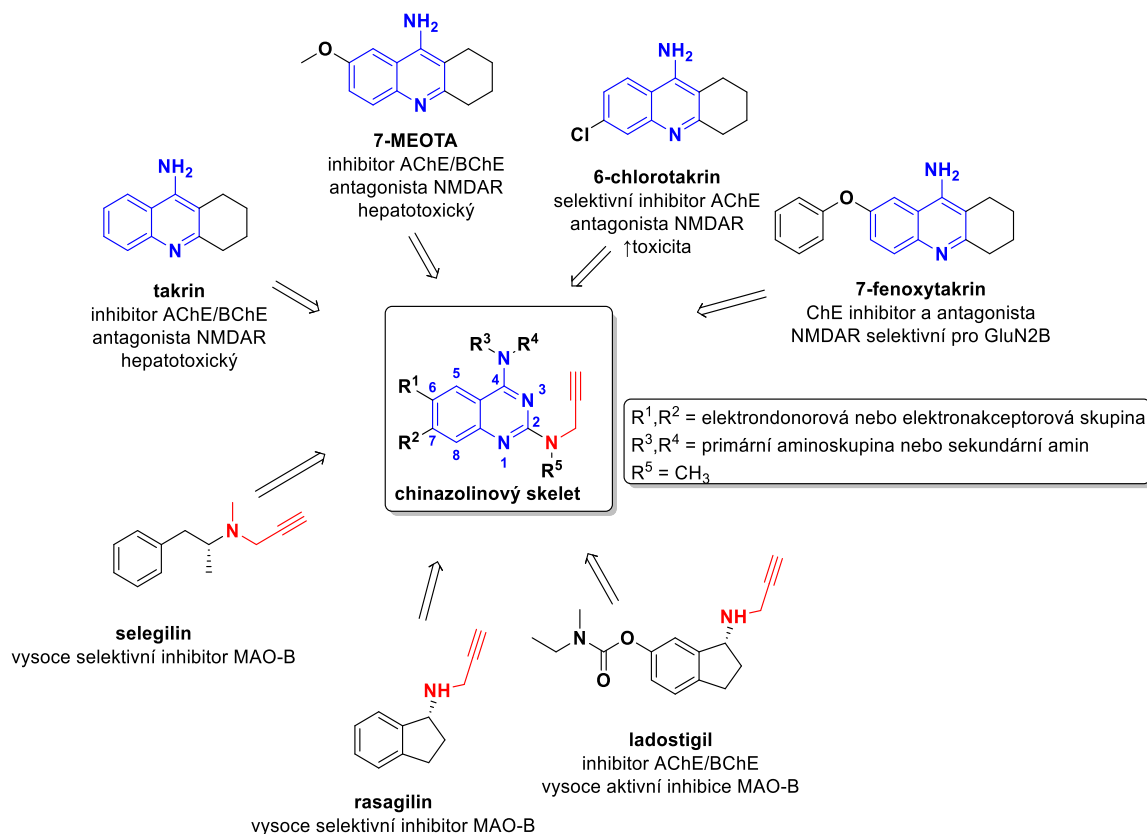
Cílem diplomové práce byla syntéza nových chinazolinových derivátů potenciálně využitelných jako terapeutika AD s inhibičním účinkem vůči ChE, NMDAR a MAO-A/B. Před vlastní experimentální prací byly *in silico* predikovány vlastnosti navržených molekul. Důraz byl kladen na ADME (absorpce, distribuce, metabolismus, exkrece) a fyzikálně-chemické vlastnosti. Vlastní práce zahrnovala chemickou syntézu. Připravené sloučeniny byly popsány dostupnými analytickými metodami jako je bod tání, NMR (nukleární magnetické resonance), HRMS (hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením, z angl. high resolution mass spectrometry) a LC-MS (kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, z angl. liquid chromatography–mass spectrometry). Práce zahrnuje též výsledky biologického testování, které bylo prováděno kolegy z Katedry toxikologie a vojenské farmacie (Vojenská lékařská fakulta, Univerzity obrany) a Centra biomedicínského výzkumu (Fakultní nemocnice Hradec Králové).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Návrh nových sloučenin kombinující afinity ChE, NMDAR a MAO-A/B

Podkladem pro syntézu nových molekul byl navržený skelet obsahující dva základní farmakofory (**obrázek 16**). Prvním je **4-aminochinazolin**, který určuje afinitu k enzymům ChE a NMDAR [144]. Druhým je **N-methylpropargylamin**, který umožňuje inhibici enzymů MAO-A/B [145].

4-Aminochinazolinový farmakofor byl strukturně odvozen od molekuly **THA**. Tato sloučenina reverzibilně inhibuje enzym AChE a BChE [114, 115], obě izoformy enzymu MAO [116] a vykazuje též nízkou afinitu k podjednotce GluN1/GluN2A a GluN1/GluN2B NMDAR [115, 116]. V současné době se **THA** již nepoužívá kvůli jeho hepatotoxicitě. **THA** podléhá prvnímu průchodu játry, kdy hlavní metabolickou cestou je hydroxylace prostřednictvím enzymu cytochromu P450. Dochází ke vzniku hydroxyderivátů, z nichž nejvíce toxickým metabolitem je **7-hydroxytakrin** (**7-OH-THA**), prekurzor chinon methidu. Chinon methid je vysoce reaktivní sloučenina, která vyvazuje glutathion, čímž snižuje odolnost vůči OS [146]. Po stažení **THA** z trhu byla snaha syntetizovat nové sloučeniny s takrinovým jádrem, avšak s vyšší účinností a lepším bezpečnostním profilem [114]. Na základě pozitivních výsledků připravených látek odvozených od struktury **THA** jak *in vitro*, tak *in vivo* [147–149] a vysoké účinnosti se prokázalo, že takrinový skelet je ideálním výchozím bodem pro navrhování a dosahování účinných a selektivních ligandů [114]. Mezi známé deriváty **THA** patří např. **7-methoxytakrin** (**7-MEOTA**), který účinně antagonizuje podjednotku GluN1/GluN2A NMDAR. Tato sloučenina byla považována za méně toxický derivát **THA**. Dle nedávných studií však bylo zjištěno, že metabolismem této látky vzniká toxický metabolit **7-OH-THA** v ještě větší míře než u **THA** [115, 119, 146, 150]. Dalším derivátem je **6-chlorotakrin**, který patří mezi nejaktivnější IChE [151]. Sloučenina **7-fenoxytakrin** též vykazuje silnou a vyváženou inhibici vůči AChE a selektivně antagonizuje účinek na podjednotce GluN1/GluN2B NMDAR [152].



Obrázek 16 Design nových sloučenin chinazolinového skeletu kombinující ChE, inhibiční vlastnosti vůči MAO-A/B a NMDAR antagonismus. Převzato a upraveno z literatury [54].

Vhodnou modifikací 4-aminochinazolinového skeletu lze docílit zvýšené aktivity směrem k ChE či NMDAR. Ze zvažovaných obměn se jedná o oblast v aromatické části v poloze 6 nebo 7 chinazolinového jádra elektrondonorovými (EDG, z angl. electron-donating group), nebo elektronakceptorovými skupinami (EWG, z angl. electron-withdrawing group). Další možností je substituce halogenu na primární amin v poloze 4 základního skeletu. Aromatická substituce má zásadní vliv na aktivitu ChE, selektivitu (AChE vs. BChE) a profil toxicity [119, 151, 153]. Jedná se například o zavedení methoxy skupiny do pozice 6 chinazolinového heterocyklu, která odpovídá 7-MEOTA [119]. Dalším příkladem aromatické substituce je zavedení atomu chloru do polohy 7 chinazolinového jádra, která je analogická 6-chlorotakrinu [151]. Dále se mohou místo substituovaného chloru na aminoskupině v pozici 4 chinazolinového skeletu připojit krátké alifatické řetězce nebo alicyklické substituenty, které by měly zvýšit aktivitu vůči ChE [154]. K návrhu nových molekul

také přispěly výsledky z nedávné studie, kdy substitucí v aromatické oblasti, například připojením objemných skupin na pozici 7 takrinového skeletu (analogické k pozici 6 chinazolinové struktury), byla zvýšena jak afinita k NMDAR, tak selektivita k podjednotce GluN1/GluN2B oproti GluN1/GluN2A [152].

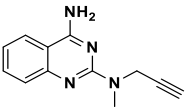
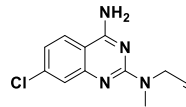
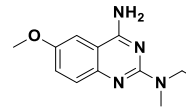
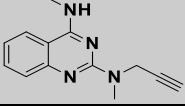
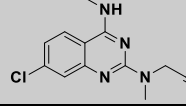
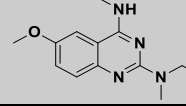
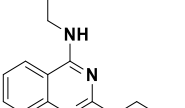
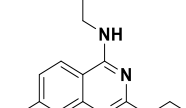
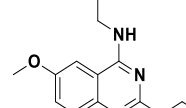
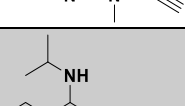
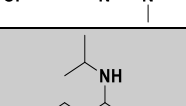
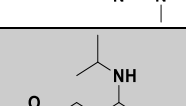
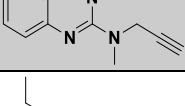
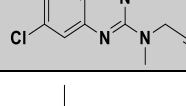
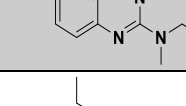
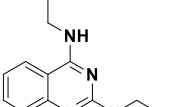
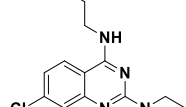
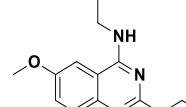
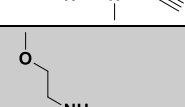
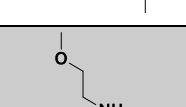
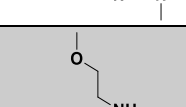
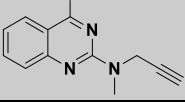
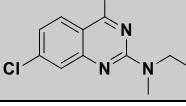
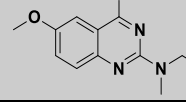
Naproti tomu léčiva obsahující *N*-propargylaminový (rasagilin, ladostigil) či *N*-methylpropargylaminový (selegilin) fragment se uplatňují jako vysoce účinné a selektivní ireverzibilní IMAO-A/B. Bylo prokázáno, že alifatické aminy s přímým řetězcem jsou snadno metabolizovány enzymy MAO s poměrně vysokou afinitou [96, 97]. V rámci předložené diplomové práce byla do výsledných molekul zavedena *N*-methylpropargylaminová skupina do polohy 2 chinazolinového skeletu. Tato pozice je vhodná pro substituci alifatickými skupinami, jako jsou například bicyklické kruhy typické pro vysoce aktivní a AChE selektivní huprinové deriváty [155] nebo chirální terpenické sloučeniny [157].

4.2 *In silico* predikce farmakokinetických a fyzikálně-chemických vlastností

Nově navržené sloučeniny byly nejprve hodnoceny z pohledu jejich perorální a CNS dostupnosti. Tyto vlastnosti jsou důležité pro navrhování nových léčiv jako potenciálních terapeutik při léčbě AD. Za tímto účelem byly u navržených chinazolinových derivátů **I-III/6a-6h** (tabulka 1) *in silico* predikovány ADME vlastnosti a podobnost léčiv, která kvalitativně hodnotí perorální biodostupnost na základě podobnosti strukturních nebo fyzikálně-chemických vlastností s referenčními sloučeninami [157, 158]. Jako referenční léčiva s prokázanou dostupností do CNS a známým profilem ADME byly použity THA a memantin [119, 159, 160]. U navržených derivátů byla popsána lipofilita, velikost, polarita, rozpustnost, nasycenost a počet volných rotovatelných vazeb sloučeniny. K predikci gastrointestinální absorpce a prostupu přes HEB byla použita metoda BOILED-Egg. Bylo také vypočítáno tzv. HEB skóre, které předpovídá potenciální prostup přes HEB [119]. Dále byl aplikován screening k vyloučení tzv. PAINS (angl. pan-assay interference compounds). PAINS je skupina chemických sloučenin, které mají schopnost nescificky interagovat s různými biologickými cíli. Z této definice vyplývá, že takové sloučeniny mohou mít řadu nežádoucích účinků. Včasné odhalení takovýchto molekul je klíčové v raných fázích vývoje léčiv [161].

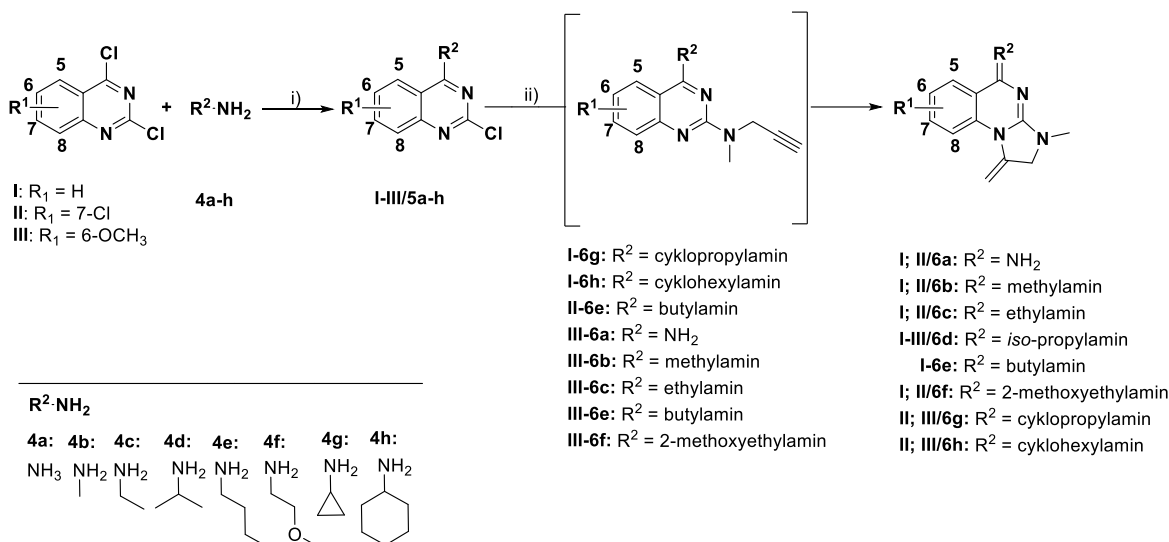
S výjimkou sloučenin **I-6a** a **II-6a** lze usuzovat, že deriváty **I-III/6a-6h** jsou vhodné pro syntézu a biologické stanovení. Látky *in silico* vykazují dobrou rozpustnost ve vodě, vysokou perorální biologickou dostupnost, vhodnou absorpci a distribuci přes HEB. Navržené sloučeniny nespádají do kategorie PAINS.

Tabulka 1 Souhrnný přehled navržených chinazolinových derivátů **I-III/6a-6h**

I-6a		II-6a		III-6a	
I-6b		II-6b		III-6b	
I-6c		II-6c		III-6c	
I-6d		II-6d		III-6d	
I-6e		II-6e		III-6e	
I-6f		II-6f		III-6f	
I-6g		II-6g		III-6g	
I-6h		II-6h		III-6h	

4.3 Syntéza nových chinazolinových derivátů

Navrhované deriváty **I-III/6a-6h** byly připraveny dvoukrokovou syntézou podle schématu zobrazeného na **obrázku 17**.



Obrázek 17 Syntéza chinazolinových derivátů **I-III/6a-h**. i) acetonitril (10 ml), DIPEA (2 ekv.), $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $p = 101\ 325\ \text{Pa}$, 30 minut až 5 dní. ii) *N*-methylpropargylamin (6 ekv.), acetonitril (5 ml), $t = 130\text{ }^{\circ}\text{C}$, $p = 101\ 325\ \text{Pa}$, 60 minut až 4 dny.

4.3.1 Příprava meziproductů I-III/5a-5h

První krok zahrnoval nukleofilní substituci komerčně dostupných aromaticky substituovaných dichlorchinazolinů (**I-III**) v přítomnosti primárního aminu (**4a-h**). Do 50ml baňky byl vložen derivát dichlorchinazolinu (**I-III**) (2,5 mmol; 1,0 ekv.). Poté bylo přidáno rozpouštědlo acetonitril (10 ml) a DIPEA (N, N-diisopropylethylamin) (2,0 ekv.). Následně byl k reakční směsi přidán primární amin (**4a-h**) (2,7 mmol; 1,1 ekv.). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny až 5 dnů v závislosti na reaktivitě výchozích látek. Reakce proběhla selektivně do polohy 4 chinazolinového skeletu. Po dokončení reakce, která byla pozorována pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC, z angl. thin layer chromatography), bylo na vakuové odparce odpařeno rozpouštědlo. Surový meziproduct **I-III/5a-h** byl přečištěn pomocí flash chromatografie s použitím mobilní fáze petrolether : ethylacetát v poměru 7 : 3. Získané sloučeniny byly charakterizovány pomocí ¹H a ¹³C NMR. Charakterizace jednotlivých sloučenin je uvedena v kapitole 6.1.

4.3.2 Příprava finálních sloučenin I-III/6a-6h

V druhém kroku byl vzniklý meziprodukt **I-III/5a-5h** (1,0 ekv.) vložen do 50ml baňky a rozpuštěn v acetonitrilu (10 ml). Následně byl přidán *N*-methylpropargylamin (6 ekv.). Reakční směs byla zahřívána na 130 °C po dobu 1 hodiny až 4 dnů v závislosti na reaktivitě výchozích látek. Reakce též probíhala mechanismem nukleofilní aromatické substituce. Na vakuové odparce bylo odpařeno rozpouštědlo a surový produkt **I-III/6a-h** byl přečištěn pomocí flash chromatografie za použití mobilní fáze dichlormethan : methanol : 25% vodný amoniak v poměru 20 : 1 : 0,1. Substituované deriváty **I-III/6a-h** byly získány jako volné báze ve výtěžcích 21–87 % a následně charakterizovány pomocí ¹H a ¹³C NMR a HRMS. Na základě charakterizace derivátů **I-III/6a-h**, uvedené v kapitole 6.2., bylo potvrzeno, že u všech sloučenin, s výjimkou **I-6g; I-6h; II-6e; III/6a-6c; III/6e-6f**, docházelo k intramolekulární cyklizaci příslušného *N*-methylpropargylamino-chinazolinového derivátu. Tvorba vzniklého tricyklického produktu byla ověřena pomocí pokročilých 2D NMR technik. Deriváty **II-6b, II-6f, III-6a, III-6b, III-6d a III-6e** byly izolovány jako směsi produktů v různých poměrech, které měly stejný retenční faktor. V kapitole 6.2 jsou uvedeny záznamy ¹H a ¹³C NMR spekter pro majoritní produkty vzniklé v těchto směsích.

4.4 Biologické testování

4.4.1 Stanovení inhibiční aktivity enzymů AChE a BChE *in vitro*

U nově syntetizovaných chinazolinových derivátů **I-III/6a-6h**, s výjimkou **II-6b** a **II-6f** (deriváty nebyly směsí zacyklených a nezacyklených produktů), byla testována inhibiční aktivita vůči enzymům AChE a BChE. Hodnoty IC₅₀ (polovina maximální inhibiční koncentrace) však nebyly stanoveny, protože testované sloučeniny při koncentraci 1 μM inhibovaly enzymy maximálně z 15 %. Metodika, jakou byla data měřena, je popsána v literatuře [162–164].

4.4.2 Stanovení inhibiční aktivity NMDAR *in vitro*

Dále byl zkoumán antagonistický účinek nových derivátů na NMDAR konkrétně na podjednotku GluN1/GluN2B [165]. Deriváty **I-III/6a-6h**, s výjimkou **II-6b** a **II-6f**, byly testovány v koncentraci 10 μ M v přítomnosti agonisty a koagonisty (L-glutamát a glycin) NMDAR a jako referenční sloučeniny byly použity memantin a 7-MEOTA. Všechny testované deriváty vykazovaly antagonistickou aktivitu vůči podjednotce GluN1/GluN2B NMDAR. Tato aktivita je vyjádřena jako relativní inhibice (RI), tedy jako procentuální míra, jakou daná sloučenina inhibuje aktivitu receptoru. RI pro jednotlivé deriváty se pohybovala v rozmezí od \sim 18 do \sim 63 % a nejúčinnějším z nich byl **II-6h** (tabulka 2). Memantin za těchto podmínek vykazoval \sim 95% a 7-MEOTA \sim 60% RI. Nově připravené chinazolinové deriváty mají dobrou inhibiční aktivitu vůči NMDAR, avšak v menší míře oproti referenční látce. Metodika, jakou byla data měřena, je popsána v literatuře [166–168].

Tabulka 2 Relativní inhibice (RI, %) nejúčinnějších chinazolinových derivátů a referenčních sloučenin vůči podjednotce GluN1/GluN2B NMDAR.

Sloučenina (10 μ M)	RI, % \pm SEM ^a (n = 5-6)
I-6e	30,10 \pm 3,13
I-6h	49,34 \pm 1,16
II-6e	33,80 \pm 2,56
II-6h	63,48 \pm 3,46
III-6a	18,07 \pm 5,75
Memantin	94,63 \pm 1,07
7-MEOTA	59,98 \pm 2,04

podjednotka GluN1/GluN2B, -60 mV, 100% = plná inhibice; ^a střední chyba průměru.

4.4.3 Stanovení inhibiční aktivity a mechanismu inhibice enzymů MAO-A/B *in vitro*

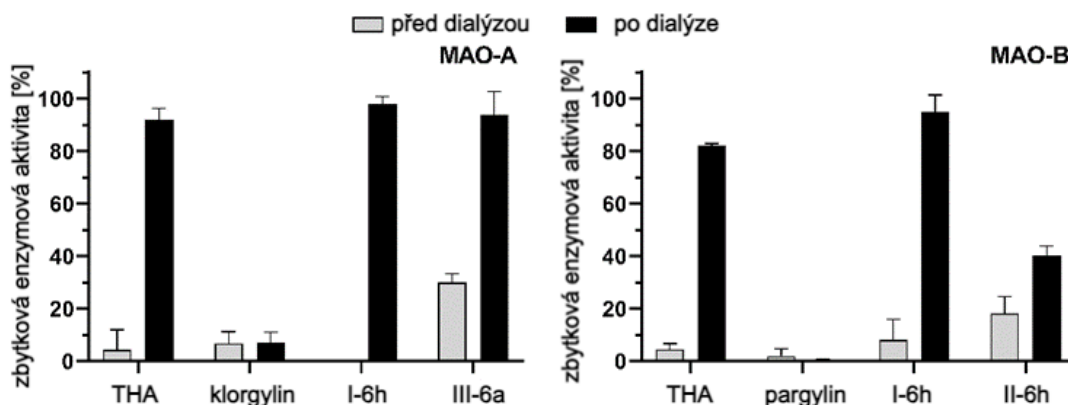
U finálních sloučenin **I-III/6a-6h**, s výjimkou **II-6b** a **II-6f**, byla dále testována inhibiční aktivita vůči enzymům MAO-A a MAO-B ve dvou různých koncentracích (1 a 10 μM). Hodnoty IC_{50} byly stanoveny pro pět nejaktivnějších sloučenin, a to pro **I-6e**, **I-6h**, **II-6e**, **II-6h** a **III-6a** (tabulka 3). Jako standardy byly použity klorgylin (ireverzibilní a selektivní IMAO-A) a pargylin (ireverzibilní a selektivní IMAO-B). Enzym MAO-A byl inhibován deriváty **I-6h**, **I-6e**, **III-6a**, a to v mikromolárních až submikromolárních koncentracích s hodnotami IC_{50} v rozmezí 0,62 – 2,60 μM . I přesto nedosahovaly inhibiční účinnosti klorgylinu ($\text{IC}_{50} = 0,05 \mu\text{M}$). Z hlediska inhibice MAO-B byly nejaktivnějšími sloučeninami **I-6h**, **II-6e** a **II-6h**, avšak též nedosahovaly účinnosti referenčního léčiva pargylinu. Z pohledu profilu selektivity lze sloučeniny **I-6e** a **III-6a** řadit jako selektivní IMAO-A. Naproti tomu deriváty **II-6e** a **II-6h** byly selektivními IMAO-B a sloučenina **I-6h** jako jediná inhibovala obě izoformy MAO s preferencí k enzymu MAO-B. Celkově se jako nejúčinnější inhibitor MAO-A profiloval derivát **III-6a** ($\text{IC}_{50} = 0,62 \mu\text{M}$) a nejvyšších inhibičních hodnot MAO-B dosahoval derivát **II-6h** ($\text{IC}_{50} = 0,33 \mu\text{M}$). K inhibici MAO-B pravděpodobně přispívají objemnější, nepolární skupiny, jako jsou *n*-butylové nebo cyklohexylové substituenty připojené k aminoskupině v poloze 4 chinazolinového skeletu. Tento předpoklad je potvrzen skutečností, že z vybraných derivátů je 4-aminochinazolin **III-6a** jediný, který nemá substituci na aminoskupině v pozici 4 a inhibuje enzym MAO-A.

Tabulka 3 Inhibiční aktivita testovaných derivátů a referenčních léčiv vůči oběma izoformám enzymu MAO

Sloučenina	IC ₅₀ (μM) ± SD		SI pro MAO-B ^b
	MAO-A ^a	MAO-B ^a	
I-6e	2,60 ± 0,23	– ^c	– ^c
I-6h	0,90 ± 0,17	8,69 ± 0,12	0,10
II-6e	– ^c	3,65 ± 0,14	– ^c
II-6h	– ^c	0,33 ± 0,02	– ^c
III-6a	0,62 ± 0,04	– ^c	– ^c
Klorgylin	0,05 ± 0,00	– ^c	– ^c
Pargylin	– ^c	0,08 ± 0,01	– ^c

^a Každá hodnota IC₅₀ je průměr ± směrodatná odchylka minimálně tří nezávislých experimentů; ^b SI = index selektivity, určena jako IC₅₀(MAO-A)/IC₅₀(MAO-B); ^c neurčeno.

Dále byl zkoumán mechanismus inhibice enzymu MAO-A u sloučenin **I-6h** a **III-6a** a enzymu MAO-B u **I-6h** a **II-6h**. Nejprve byla ověřena reverzibilita inhibice (obrázek 18). Jako referenční léčiva byly použity THA, klorgylin a pargylin [114]. Sloučeniny **I-6h** a **III-6a** působily jako reverzibilní IMAO, jelikož po dialýze těchto sloučenin došlo k plnému obnovení enzymové aktivity [169]. Naproti tomu látka **II-6h** vykazovala pouze částečnou obnovu původní aktivity enzymu MAO-B, kdy došlo ke zvýšení aktivity přibližně o 20 %. Tento výsledek naznačuje, že vazba mezi inhibitorem a enzymem u **II-6h** je silnější než u sloučenin **I-6h** a **III-6a**. Metodika jakou byla data měřena je popsána v literatuře [170].



Obrázek 18 Testování reverzibility inhibice MAO-A/B u sloučenin **I-6h**, **III-6a** a **II-6h**

4.4.4 Predikce prostupu přes HEB

U vybraných sloučenin **I-6e**, **I-6h**, **II-6e**, **II-6h**, **III-6a** byla predikována schopnost pronikat přes HEB. K predikci byl použit test propustnosti přes semipermeabilní membránu, tzv. PAMPA test, s referenčními látkami (THA, donepezil, rivastigmin, ibuprofen, chlorothiazid, furosemid, ranitidin, sulfasalazin), jejichž CNS dostupnost je experimentálně známá za podmínek *in vivo* [171–174] (**tabulka 4**). Na základě získaných hodnot mají sloučeniny **I-6e**, **I-6h** a **II-6h** vysokou pravděpodobnost prostupu pasivní difúzí přes HEB, zatímco deriváty **III-6a** a **II-6e** nikoliv, protože neprošly umělou bariérou simulující HEB.

Tabulka 4 Výsledky stanovení prostupu přes HEB u vybraných derivátů a referenčních léčiv vyjádřeného jako $Pe \pm SEM$.

Sloučenina	$Pe \pm SEM$ ($\times 10^{-6}$ cm/s)	n	CNS (+/-)
I-6e	7,37 \pm 1,22	2	CNS (+)
I-6h	5,61 \pm 1,01	3	CNS (+)
II-6e	0,90 \pm 0,43	2	CNS (-)
II-6h	9,39 \pm 1,17	2	CNS (+)
III-6a	0	2	CNS (-)
THA	5,90 \pm 0,67	8	CNS (+)
Donepezil	21,9 \pm 2,06	6	CNS (+)
Rivastigmin	18,7 \pm 2,03	4	CNS (+)
Ibuprofen	18,0 \pm 4,32	3	CNS (+)
Chlorothiazid	1,14 \pm 0,54	3	CNS (-)
Furosemid	0,19 \pm 0,07	3	CNS (-)
Ranitidin	0,04 \pm 0,02	2	CNS (-)
Sulfasalazin	0,09 \pm 0,05	2	CNS (-)

n = počet měření; CNS (+) (vysoká predikce prostupnosti skrz HEB): $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm/s}) > 4,0$; CNS (-) (nízká predikce prostupnosti skrz HEB): $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm s}^{-1}) < 2,0$; CNS (+/-) (nejistá prostupnost skrz HEB) $Pe (\times 10^{-6} \text{ cm/s})$ od 4,0 do 2,0.

4.4.5 *In vitro* antiproliferativní vlastnosti

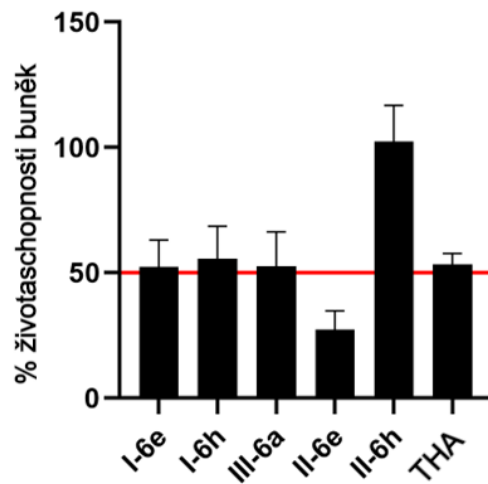
U vybraných derivátů **I-6e**, **I-6h**, **II-6e**, **II-6h** a **III-6a** byly *in vitro* zkoumány antiproliferativní vlastnosti na nediferencovaných i diferencovaných buněčných liniích SH-SY5Y (Evropská sbírka ověřených buněčných kultur, z angl. European Collection of Authenticated Cell Cultures, 94030304) za použití MTT testu (MTT: (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazolium bromid; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) [175–177]. Jako referenční sloučenina byl použit THA. Vůči nediferencovaným buňkám vykazovaly všechny testované sloučeniny v mikromolárních koncentracích antiproliferativní účinky. Tyto koncentrace byly výrazně nižší oproti standardu THA. Nejméně cytotoxické deriváty byly **I-6e** a **II-6e** (tabulka 5).

Tabulka 5 Antiproliferativní aktivita testovaných sloučenin na nediferencovaných buňkách SH-SY5Y vyjádřená jako $IC_{50} \pm SEM$.

Sloučenina	$IC_{50} \pm SEM$ (μM) ^a
I-6e	67,95 \pm 0,22
I-6h	53,23 \pm 3,03
II-6e	67,13 \pm 3,81
II-6h	34,96 \pm 1,53
III-6a	38,58 \pm 0,82
THA	122,11 \pm 0,02

^a Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr tří nezávislých měření.

Pro testování antiproliferativního účinku na diferencované kultuře SH-SY5Y byla použita koncentrace sloučeniny odpovídající hodnotě IC_{50} , která byla zjištěna pro nediferencovanou linii. Výsledky jsou vyjádřeny procenty viability buněk (obrázek 19). Deriváty **I-6e**, **I-6h** a **III-6a** prokázaly shodný účinek na diferencované buňky jako na buňky nediferencované. Sloučenina **II-6e** měla zvýšenou cytotoxicitu, zatímco u látky **II-6h** byl efekt na diferencované buňky nižší.



Obrázek 19 Životaschopnost diferencovaných buněk SH-SY5Y inkubovaných s testovanými sloučeninami v koncentraci odpovídající hodnotám IC_{50} (červená linie) získaných z nediferencovaných buněk SH-SY5Y.

5 ZÁVĚR

AD je multifaktoriální onemocnění, na jehož vzniku se podílí mnoho vnějších i vnitřních faktorů. Dosud vyvinutá léčiva se zaměřují především na ovlivnění jednoho patologického mechanismu, což je přístup, který stále dominuje ve vývoji léčiv. Avšak řada komplexních onemocnění, jako jsou hypertenze, nádorová onemocnění, schizofrenie, AD a další, nelze adekvátně léčit pouze cílenou léčbou zaměřenou na jednu patologickou deficienci. Proto byl definován pojem MTDL jako nový směr ve vývoji léčiv pro AD. MTDL představuje jedinou účinnou látku, která je schopna ovlivňovat více patologických aspektů současně. Cílem syntézy nových MTDL je nejen zvýšit účinnost léčby, ale také snížit riziko nežádoucích účinků. Nevhodné kombinace léků často vedou k mnoha interakcím, které mohou způsobit hospitalizaci nebo dokonce úmrtí pacienta. [27, 178, 179]

Cílem předkládané diplomové práce byla syntéza nových chinazolinových derivátů potenciálně využitelných jako terapeutika AD s inhibičním účinkem vůči AChE, BChE, NMDAR a MAO-A/B [1, 2]. V rámci experimentální části byla pro syntézu nových molekul navržena základní struktura obsahující farmakofor 4-aminochinazolin, který určuje afinitu k enzymům ChE a NMDAR [144], a *N*-methylpropargylamin, který umožňuje inhibici enzymů MAO-A/B [145]. Navržené deriváty **I-III/6a-6h**, s výjimkou **I-6a** a **II-6a**, se *in silico* vyznačovaly dobrou rozpustností ve vodě, vysokou perorální biologickou dostupností, optimální absorpcí a distribucí přes HEB a nespádaly do kategorie PAINS. Chemickou syntézou byla připravena série nových chinazolinových derivátů s výtěžností 21–87 %. V průběhu druhého kroku syntézy docházelo u většiny derivátů k intramolekulární cyklizaci na tricyklické produkty. Tento jev byl pravděpodobně způsoben různou reaktivitou výchozích látek a odlišnými reakčními podmínkami v jednotlivých případech (avšak nespécificky v návaznosti na reakční čas a teplotu). Celkem bylo izolováno **pět** *N*-methylpropargylamino-chinazolinových derivátů a **třináct** tricyklických produktů. Ostatních **šest** látek byly izolovány jako směs produktů. Produkt **II-6b** byl získán jako směs zacykleného produktu a výchozí látky; produkt **II-6f** byl izolován jako směs zacykleného produktu a pravděpodobně demethoxyethylového zacykleného vedlejšího produktu; ostatní čtyři látky (**III-6a,6b,6d,6e**) byly připraveny jako směs nezacyklených a zacyklených derivátů v různých poměrech. Nově připravené

sloučeniny, s výjimkou **II-6b** a **II-6f**, byly *in vitro* testovány vůči AChE, BChE a NMDAR. U nejúčinnějších látek (**I-6e**, **I-6h**, **II-6e**, **II-6h** a **III-6a**) byla stanovena IC₅₀ vůči MAO-A/B. Dále byl hodnocen prostup těchto molekul přes HEB a úroveň antiproliferativního účinku na diferencované i nediferencované buněčné linii SH-SY5Y. Celkové výsledky vyzdvihly sloučeninu **II-6h** jako nejlepší chinazolinový derivát s inhibičním účinkem vůči MAO s preferencí k MAO-B, antagonismem NMDAR, přijatelným profilem antiproliferativního účinku a potenciálem pronikat přes HEB. Tato diplomová práce zdůrazňuje potenciál MTDL a představuje nové možnosti pro další výzkum v této oblasti.

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Všechna chemická rozpouštědla a činidla byla použita v nejvyšší dostupné čistotě bez dalšího čištění a byla zakoupena od Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika) nebo FluoroChem (Hadfield, Velká Británie). Reakce byly sledovány pomocí TLC na silikagelových deskách (60 F254, Merck, Praha, Česká republika) a skvrny byly vizualizovány ultrafialovým světlem (254 nm). Čištění surových produktů bylo provedeno 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). NMR spektra byla zaznamenána v deuterovaném chloroformu, deuterovaném methanolu, a deuterovaném dimethylsulfoxidu (DMSO- d_6) na spektrometru Bruker Avance NEO 500 MHz (499,87 MHz pro ^1H NMR a 125,71 MHz pro ^{13}C NMR). Chemické posuny (δ) 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 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). Teploty tání byly měřeny pomocí automatického zapisovače teploty tání M-565 (Buchi, Švýcarsko).

6.1 Charakteristika meziproduktů I-III/5a-5h

2-chlorochinazolin-4-amin (I-5a)

Výtěžek: 95 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,32 (bs, 2H); 8,23 (dd, $J = 8,2; 1,4$ Hz; 1H); 7,83 – 7,76 (m, 1H); 7,61 (dd, $J = 8,4; 1,2$ Hz; 1H); 7,55 – 7,48 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 164,12; 157,48; 151,30; 134,38; 126,99; 126,39; 124,36; 113,48 ppm.

2-chloro-*N*-methylchinazolin-4-amin (I-5b)

Výtěžek: 89 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,86 – 8,75 (m, 1H); 8,22 (dd, $J = 8,3; 1,3$ Hz; 1H); 7,85 – 7,77 (m, 1H); 7,64 (dd, $J = 8,4; 1,2$ Hz; 1H); 7,58 – 7,51 (m, 1H); 3,03 (d, $J = 4,0$ Hz; 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz,

DMSO-*d*₆): δ 161,99; 157,56; 150,50; 133,95; 127,09; 126,53; 123,39; 114,13; 28,43 ppm.

2-chloro-*N*-ethylchinazolin-4-amin (I-5c)

Výtěžek: 93 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,67 (t, *J* = 5,5 Hz; 1H); 8,18 (dd, *J* = 8,3; 1,3 Hz; 1H); 7,72 (ddd, *J* = 8,4; 7,0; 1,3 Hz; 1H); 7,54 (dd, *J* = 8,4; 1,2 Hz; 1H); 7,46 (ddd, *J* = 8,3; 6,9; 1,2 Hz; 1H); 3,51 – 3,43 (m, 2H); 1,17 (t, *J* = 7,2 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 161,34; 157,56; 150,68; 133,97; 127,08; 126,43; 123,53; 114,04; 36,21; 14,44 ppm.

2-chloro-*N*-(propan-2-yl)chinazolin-4-amin (I-5d)

Výtěžek: 75 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,39 (d, *J* = 7,6 Hz; 1H); 8,34 (dd, *J* = 8,3; 1,4 Hz; 1H); 7,81 – 7,72 (m, 1H); 7,60 (dd, *J* = 8,3; 1,2 Hz; 1H); 7,55 – 7,48 (m, 1H); 4,52 – 4,36 (m, 1H); 1,27 (d, *J* = 6,6 Hz; 6H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,66; 157,55; 150,81; 133,96; 127,05; 126,28; 123,77; 113,97; 43,06; 22,23 ppm.

***N*-buthyl-2-chlorochinazolin-4-amin (I-5e)**

Výtěžek: 96 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,69 (t, *J* = 5,5 Hz; 1H); 8,27 (dd, *J* = 8,3; 1,4 Hz; 1H); 7,78 (ddd, *J* = 8,3; 7,0; 1,3 Hz; 1H); 7,61 (dd, *J* = 8,4; 1,2 Hz; 1H); 7,53 (ddd, *J* = 8,3; 7,0; 1,3 Hz; 1H); 3,54 – 3,47 (m, 2H); 1,69 – 1,60 (m, 2H); 1,46 – 1,30 (m, 2H); 0,93 (t, *J* = 7,4 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 161,53; 157,56; 150,72; 133,96; 127,09; 126,42; 123,56; 114,03; 40,98; 30,82; 20,13; 14,19 ppm.

2-chloro-*N*-(2-methoxyethyl)chinazolin-4-amin (I-5f)

Výtěžek: 98 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,81 (t, *J* = 5,6 Hz; 1H); 8,29 (dd, *J* = 8,2; 1,3 Hz; 1H); 7,80 (ddd, *J* = 8,3; 7,0; 1,3 Hz; 1H); 7,62 (dd, *J* = 8,3; 1,2 Hz; 1H); 7,54 (ddd, *J* = 8,2; 7,0; 1,3 Hz; 1H); 3,69 (q, *J* = 5,6 Hz; 2H); 3,59 (t, *J* = 5,6 Hz; 2H); 3,29 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 161,68; 157,37; 150,75; 134,10; 127,12; 126,55; 123,61; 114,02; 70,13; 58,46; 41,01 ppm.

2-chloro-*N*-cyklopropylchinazolin-4-amin (I-5g)

Výtěžek: 94 %. Hnědý viskózní olej. Produkt (I-5g) byl použit přímo pro další krok syntézy.

2-chloro-*N*-cyklohexylchinazolin-4-amin (I-5h)

Výtěžek: 91 %. Hnědý viskózní olej. Produkt (**I-5h**) byl použit přímo pro další krok syntézy.

2,7-dichlorochinazolin-4-amin (II-5a)

Výtěžek: 89 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,47 (bs, 2H); 8,26 (d, *J* = 8,8 Hz; 1H); 7,68 (d, *J* = 2,1 Hz; 1H); 7,58 (dd, *J* = 8,9; 2,1 Hz; 1H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 163,83; 158,65; 152,25; 139,04; 126,81; 126,50; 125,91; 112,22 ppm.

2,7-dichloro-*N*-methylchinazolin-4-amin (II-5b)

Výtěžek: 83 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,91 (q, *J* = 4,6 Hz; 1H); 8,21 (d, *J* = 8,8 Hz; 1H), 7,67 (d, *J* = 2,2 Hz; 1H); 7,58 (dd, *J* = 8,7; 2,2 Hz; 1H); 2,99 (d, *J* = 4,6 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 161,65; 158,70; 151,48; 138,58; 126,89; 126,00; 125,55; 112,89; 28,47 ppm.

2,7-dichloro-*N*-ethylchinazolin-4-amin (II-5c)

Výtěžek: 87 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,85 (t, *J* = 5,4 Hz; 1H); 8,27 (d, *J* = 8,8 Hz; 1H); 7,67 (d, *J* = 2,2 Hz; 1H), 7,58 (dd, *J* = 8,8; 2,1 Hz; 1H); 3,53 (m, *J* = 7.2, 2.7 Hz; 2H), 1.23 (t, *J* = 7.2 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 161,00; 158,70; 151,67; 138,62; 126,79; 125,85; 112,79; 36,34; 36,22; 14,32 ppm.

2,7-dichloro-*N*-(propan-2-yl)chinazolin-4-amin (II-5d)

Výtěžek: 92 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,07 – 8,02 (m, 1H); 7,46 – 7,42 (m, 1H); 7,35 (dd, *J* = 8,8; 2,1 Hz; 1H); 4,46 (hept, *J* = 6,6 Hz; 1H); 1,23 (d, *J* = 6,6 Hz; 6H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 160,29; 158,87; 151,02; 139,20; 126,27; 124,73; 124,33; 112,01; 43,15; 20,67 ppm.

***N*-butyl-2,7-dichlorochinazolin-4-amin (II-5e)**

Výtěžek: 96 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 7,95 (d, *J* = 8,8 Hz; 1H); 7,45 (d, *J* = 2,0 Hz; 1H); 7,34 (dd, *J* = 8,8; 2,1 Hz; 1H); 3,50 (t, *J* = 7,3 Hz; 2H); 1,63 – 1,56 (m, 2H); 1,34 (m, *J* = 7,4 Hz; 2H); 0,89 (t, *J* = 7,4 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 161,11; 158,86; 150,91; 139,21; 126,34; 124,78; 124,13; 112,02; 40,87; 30,56; 19,78; 12,76 ppm.

2,7-dichloro-*N*-(2-methoxyethyl)chinazolin-4-amin (II-5f)

Výtěžek: 94 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 7,98 (d, $J = 8,8$ Hz; 1H); 7,48 – 7,45 (m, 1H); 7,36 (dd, $J = 8,8$; 2,1 Hz; 1H); 3,70 (t, $J = 5,5$ Hz; 2H); 3,56 (t, $J = 5,5$ Hz; 2H); 3,29 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 161,30; 158,67; 150,97; 139,35; 126,45; 124,84; 124,22; 112,02; 69,95; 57,58; 40,73; ppm.

2,7-dichloro-*N*-cyklopropylchinazolin-4-amin (II-5g)

Výtěžek: 98 %. Hnědý viskózní olej. Produkt (II-5g) byl použit přímo pro další krok syntézy.

2,7-dichloro-*N*-cyklohexylchinazolin-4-amin (II-5h)

Výtěžek: 91 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,49 (d, $J = 7,8$ Hz; 1H); 8,38 (d, $J = 8,9$ Hz; 1H); 7,65 (d, $J = 2,2$ Hz; 1H); 7,57 (dd, $J = 8,8$; 2,2 Hz; 1H); 4,15 – 4,02 (m, 1H); 1,93 (m, $J = 9,3$; 3,3 Hz; 2H); 1,82 – 1,73 (m, 2H); 1,69 – 1,60 (m, 1H); 1,45 – 1,27 (m, 4H); 1,23 – 1,10 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 160,32; 158,70; 151,84; 138,62; 126,62; 126,00; 125,91; 112,72; 50,44; 32,16; 25,6; 25,33 ppm.

2-chloro-6-methoxychinazolin-4-amin (III-5a)

Výtěžek: 85 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,17 (s, 2H); 7,66 (d, $J = 2,8$ Hz; 1H), 7,56 (d, $J = 9,0$ Hz; 1H); 7,44 (dd, $J = 9,1$; 2,7 Hz; 1H); 3,87 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 163,47; 157,52; 155,29; 146,42; 128,50; 125,17; 114,03; 103,88; 56,34 ppm.

2-chloro-6-methoxy-*N*-methylchinazolin-4-amin (III-5b)

Výtěžek: 88 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,59 (q, $J = 4,6$ Hz; 1H); 7,63 (d, $J = 2,8$ Hz; 1H); 7,55 (d, $J = 9,0$ Hz; 1H); 7,41 (dd, $J = 9,0$; 2,7 Hz; 1H); 3,87 (s, 3H); 3,01 (d, $J = 4,5$ Hz; 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 161,43; 157,63; 155,39; 145,52; 128,8; 124,56; 114,66; 103,14; 56,30; 28,36 ppm.

2-chloro-*N*-ethyl-6-methoxychinazolin-4-amin (III-5c)

Výtěžek: 84 %. Hnědý viskózní olej. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 8,55 (t, $J = 5,5$ Hz; 1H); 7,67 (d, $J = 2,7$ Hz; 1H); 7,55 (d, $J = 9,0$ Hz; 1H); 7,41 (dd, $J = 9,1$; 2,7 Hz; 1H); 3,88 (s, 3H); 3,59 – 3,50 (m, 2H); 1,25 (t, $J = 7,2$ Hz; 3H) ppm; ^{13}C

NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,76; 157,62; 155,38; 145,74; 128,60; 124,63; 114,57; 103,23; 56,38; 36,19; 14,54 ppm.

2-chloro-6-methoxy-*N*-(propan-2-yl)chinazolin-4-amin (III-5d)

Výtěžek: 90 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,22 (bs, *J* = 6,0 Hz; 1H); 7,73 (t, *J* = 3,3 Hz; 1H); 7,54 (dd, *J* = 9,1; 3,5 Hz; 1H); 7,46 – 7,35 (m, 1H); 4,52 – 4,37 (m, 1H); 3,90 (s, 3H); 1,28 (dd, *J* = 6,4; 3,1 Hz; 6H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,06; 157,62; 155,35; 145,90; 128,59; 124,64; 114,50; 103,41; 56,51; 43,03; 22,37 ppm.

***N*-buthyl-2-chloro-6-methoxychinazolin-4-amin (III-5e)**

Výtěžek: 84 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,51 (t, *J* = 5,5 Hz; 1H); 7,68 (d, *J* = 2,8 Hz; 1H); 7,55 (d, *J* = 9,0 Hz; 1H); 7,41 (dd, *J* = 9,1; 2,7 Hz; 1H); 3,88 (s, 3H); 3,54 – 3,46 (m, 2H); 1,68 – 1,58 (m, 2H); 1,42 – 1,27 (m, 2H); 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,93; 157,63; 155,37; 145,76; 128,59; 124,59; 114,56; 103,26; 56,40; 40,99; 30,96; 20,18; 14,21 ppm.

2-chloro-6-methoxy-*N*-(2-methoxyethyl)chinazolin-4-amin (III-5f)

Výtěžek: 93 %. Hnědý viskózní olej. Produkt (III-5f) byl použit přímo pro další krok syntézy.

2-chloro-*N*-cyklopropyl-6-methoxychinazolin-4-amin (III-5g)

Výtěžek: 87 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,51 (d, *J* = 3,7 Hz; 1H); 7,65 (d, *J* = 2,7 Hz; 1H); 7,56 (d, *J* = 9,1 Hz; 1H); 7,41 (dd, *J* = 9,1; 2,7 Hz; 1H); 3,87 (s, 3H); 3,05 – 2,97 (m, 1H); 0,90 – 0,80 (m, 2H); 0,73 – 0,62 (m, 2H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 162,24; 157,64; 155,35; 145,68; 128,60; 124,78; 114,49; 103,21; 56,42; 24,86; 6,65 ppm.

2-chloro-*N*-cyklohexyl-6-methoxychinazolin-4-amin (III-5h)

Výtěžek: 91 %. Hnědý viskózní olej. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,17 (d, *J* = 7,8 Hz; 1H); 7,73 (d, *J* = 2,7 Hz; 1H); 7,54 (d, *J* = 9,0 Hz; 1H); 7,41 (dd, *J* = 9,1; 2,7 Hz; 1H); 4,16 – 4,08 (m, 1H); 3,89 (s, 3H); 1,99 – 1,92 (m, 2H); 1,83 – 1,75 (m, 2H); 1,71 – 1,64 (m, 1H); 1,46 – 1,30 (m, 4H); 1,23 – 1,13 (m, 1H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,03; 157,62; 155,36; 145,95; 128,59; 124,66; 114,50; 103,44; 56,52; 50,26; 32,47; 25,78; 25,48 ppm.

6.2 Charakteristika finálních produktů I-III/6a-6h

3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin (I-6a)

Výtěžek: 58 %. Hnědý krystalický prášek. Bod tání: 167 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,13 (dd, *J* = 8,2; 1,4 Hz, 1H), 7,99 (dd, *J* = 8,6; 1,0 Hz, 1H), 7,87 – 7,79 (m, 1H), 7,46 – 7,38 (m, 1H), 5,58 (dt, *J* = 4,1; 2,9 Hz, 1H), 5,04 (dt, *J* = 4,2; 2,5 Hz, 1H), 4,49 (t, *J* = 2,7 Hz, 2H), 3,12 (s, 3H) ppm. ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 164,16; 155,96; 137,65; 137,30; 136,12; 125,85; 124,97; 115,07; 110,54; 94,59; 52,77; 29,87 ppm. HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₂H₁₃N₄⁺ (m/z): 213,1135; nalezeno 213,1133. LC-UV čistota 98 %.

N-[(5*E*)-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]methanamin (I-6b)

Výtěžek: 33 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: 163 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,54 (dd, *J* = 8,1; 1,5 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 8,6; 1,0 Hz, 1H), 7,92 – 7,84 (m, 1H), 7,56 – 7,47 (m, 1H), 5,68 – 5,64 (m, 1H), 5,13 – 5,09 (m, 1H), 4,59 (t, *J* = 2,7 Hz, 2H), 3,17 (s, 3H), 3,14 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,65; 155,58; 137,69; 136,68; 136,19; 126,14; 125,35; 115,61; 111,49; 95,52; 53,33; 31,27; 29,00 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₃H₁₅N₄⁺ (m/z): 227.1292; nalezeno 227.1288. LC-UV čistota > 99 %.

N-[(5*E*)-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]ethan-1-amin (I-6c)

Výtěžek: 55 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 157 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,64 (dd, *J* = 8,2; 1,4 Hz; 1H); 8,08 (dd, *J* = 8,6; 1,0 Hz; 1H); 7,92 – 7,85 (m, 1H); 7,56 – 7,49 (m, 1H); 5,67 (q, *J* = 3,0 Hz, 1H); 5,13 – 5,10 (m, 1H); 4,59 (t, *J* = 2,7 Hz; 2H); 3,70 (q, *J* = 7,2 Hz; 2H); 3,16 (s, 3H); 1,29 (t, *J* = 7,2 Hz; 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 160,08; 155,63; 137,72; 136,84; 136,22; 126,38; 125,27; 115,60; 111,50; 95,48; 53,33; 37,12; 31,25; 14,10 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₄H₁₇N₄⁺ (m/z): 241.1448; nalezeno 241.1444. LC-UV čistota 99 %.

N-[(5*E*)-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]propan-2-amin (I-6d)

Výtěžek: 85 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 183 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,77 (dd, *J* = 8,2; 1,4 Hz, 1H), 8,08 (dd, *J* = 8,6; 1,0 Hz, 1H),

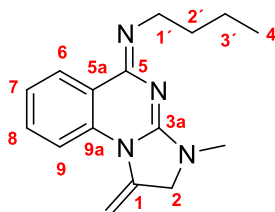
7,89 (ddd, $J = 8,5; 7,2, 1,4$ Hz, 1H), 7,52 (ddd, $J = 8,2; 7,2; 1,0$ Hz, 1H), 5,67 (dt, $J = 4,1; 2,9$ Hz, 1H), 5,12 (dt, $J = 4,0; 2,5$ Hz, 1H), 4,68 (h, $J = 6,7$ Hz, 1H), 4,58 (t, $J = 2,7$ Hz, 2H), 3,15 (s, 3H), 1,36 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 159,41; 155,62; 137,72; 136,92; 136,23; 126,69; 125,14; 115,54; 111,43; 95,50; 53,34; 44,72; 31,26; 21,78 ppm; HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4^+$ (m/z): 255,1605; nalezeno 255,1600. LC-UV čistota 94 %.

***N*-[(5*E*)-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]butan-1-amin (I-6e)**

Výtěžek: 71 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 135 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 8,15 (dd, $J = 8,2; 1,4$ Hz, 1H); 7,99 (dd, $J = 8,6; 1,0$ Hz, 1H), 7,84 – 7,77 (m, 1H), 7,46 – 7,39 (m, 1H); 5,57 (dt, $J = 4,1; 2,9$ Hz, 1H); 5,04 (dt, $J = 4,1; 2,5$ Hz, 1H); 4,51 (t, $J = 2,7$ Hz, 2H); 3,67 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H); 3,15 (s, 3H), 1,72 – 1,63 (m, 2H); 1,42 – 1,33 (m, 2H); 0,91 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 160,75; 155,74; 137,61; 136,86; 135,50; 124,99; 124,81; 115,15; 111,22; 94,53; 52,82; 41,68; 30,29; 29,90; 19,80; 12,71 ppm; HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4^+$ (m/z): 269,1761; nalezeno 269,1755. LC-UV čistota 99 %.

Potvrzení struktury I-6e 2D NMR technikou

I-6e



^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,27 (1H, dd, $J=8,4$ Hz, $J=1,2$ Hz, H6), 8,09 (1H, dd, $J=8,4$ Hz, $J=1,2$ Hz, H9), 7,91 (1H, ddd, $J=8,4$ Hz, $J=7,3$ Hz, $J=1,2$ Hz, H8), 7,53 (1H, ddd, $J=8,4$ Hz, $J=7,3$ Hz, $J=1,2$ Hz, H7), 5,68 (1H, td, $J=4,1$ Hz, $J=2,7$ Hz, CH_2), 5,15 (1H, td, $J=4,1$ Hz, $J=2,7$ Hz, CH_2), 4,62 (2H, t, $J=2,7$ Hz, H2), 3,78 (2H, t, $J=7,3$ Hz, H1'), 3,26 (3H, s, CH_3), 1,83-1,74 (2H, m, H2'), 1,53-1,42 (2H, m, H3'), 1,02 (3H, t, $J=7,3$ Hz, H4').

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 162,1 (C5), 157,1 (C3a), 139,0 (C1), 138,2 (C9a), 136,9 (C8), 126,4 (C7), 126,2 (C6), 116,5 (C9), 112,6 (C5a), 95,9 ($=\text{CH}_2$), 54,2 (C2), 43,1 (C1'), 31,7 (C2'), 31,3 (CH_3), 21,2 (C3'), 14,1(C4').

2-methoxy-*N*-[(5*E*)-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]ethan-1-amin (I-6f)

Výtěžek: 57 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 154 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8,67 – 8,63 (m, 1H); 8,09 (dd, $J = 8,6; 1,0$ Hz, 1H); 7,92 – 7,87 (m, 1H); 7,56 – 7,50 (m, 1H); 5,68 (dt, $J = 4,0; 2,9$ Hz, 1H); 5,12 (dt, $J = 4,1; 2,5$ Hz, 1H); 4,59 (t, $J = 2,7$ Hz, 2H); 3,85 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H); 3,68 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H); 3,31 (s, 3H); 3,16 (s, 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 160,69; 155,58; 137,71; 136,89; 136,37; 126,40; 125,34; 115,64; 111,41; 95,63; 69,61; 58,44; 53,37; 41,69; 31,27 ppm; HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}^+$ (m/z): 271,1481; nalezeno 271,1551. LC-UV čistota 95 %.

***N*4-cyklopropyl-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (I-6g)**

Výtěžek: 69 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 189 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*): δ 7,44 – 7,42 (m, 2H); 7,37 – 7,34 (m, 1H); 6,99 – 6,95 (m, 1H); 4,58 (d, $J = 2,4$ Hz; 2H); 3,24 (s, 3H); 2,92 – 2,87 (m, 1H); 2,09 (t, $J = 2,4$ Hz; 1H); 0,85 – 0,79 (m, 2H); 0,59 – 0,54 (m, 2H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*): δ 160,92; 159,01; 152,20; 132,41; 126,21; 121,00; 120,53; 113,36; 110,33; 80,88; 70,56; 38,30; 34,13; 24,13; 7,19 ppm; HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_4^+$ (m/z): 253,1448; nalezeno 253,1444. LC-UV čistota 99 %.

***N*4-cyklohexyl-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (I-6h)**

Výtěžek: 72 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: 174 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 8,09 (dd, $J = 8,2; 1,4$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H); 7,53 – 7,47 (m, 1H); 7,29 (dd, $J = 8,4; 1,2$ Hz, 1H); 7,10 – 7,03 (m, 1H); 4,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H); 4,10 – 4,02 (m, 1H); 3,13 (s, 3H); 3,05 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H); 2,06 – 1,99 (m, 2H); 1,84 – 1,75 (m, 2H); 1,69 – 1,62 (m, 1H); 1,40 – 1,33 (m, 4H); 1,25 – 1,14 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO): δ 159,44; 159,07; 152,20; 132,70; 125,55; 123,45; 120,84; 111,00; 81,54; 73,67; 50,30; 38,13; 34,34; 32,45; 25,95; 25,61 ppm. HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_4^+$ (m/z): 295,1918; nalezeno 295,1913. LC-UV čistota 98 %.

8-chlor-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin (II-6a)

Výtěžek: 29 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 169 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,04 (d, *J* = 8,6 Hz; 1H); 7,76 (d, *J* = 1,9 Hz; 1H); 7,29 (dd, *J* = 8,6; 1,9 Hz; 1H); 5,36 – 5,32 (m, 1H); 4,93 – 4,90 (m, 1H); 4,36 (t, *J* = 2,6 Hz; 2H); 3,03 (s, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 162,62; 154,68; 140,28; 137,70; 137,48; 127,90; 124,61; 114,25; 112,34; 92,82; 52,49; 29,77 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₂H₁₂ClN₄⁺ (m/z): 247,0745; nalezeno 247,0742. LC-UV čistota 96 %.

***N*-[(5*E*)-8-chlor-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]methanamin (II-6b)**

Výtěžek: 55 % jako směs s výchozí látkou. Hnědý krystalický prášek. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,16 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 7,53 (dd, *J* = 8,7; 1,9 Hz, 1H), 5,64 – 5,60 (m, 1H), 5,17 (dt, *J* = 4,4; 2,5 Hz, 1H), 4,61 (t, *J* = 2,7 Hz, 2H), 3,26 (s, 3H), 3,25 (s, 3H), ppm.

***N*-[(5*E*)-8-chlor-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]ethan-1-amin (II-6c)**

Výtěžek: 83 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 189 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,13 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,93 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,43 (dd, *J* = 8,7; 1,9 Hz, 1H), 5,52 (dt, *J* = 4,3; 2,9 Hz, 1H), 5,07 (dt, *J* = 4,4; 2,5 Hz, 1H), 4,51 (t, *J* = 2,7 Hz, 2H), 3,70 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,15 (s, 3H), 1,27 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 160,06; 155,72; 141,61; 137,70; 137,25; 126,56; 125,22; 114,85; 110,05; 94,96; 52,84; 37,07; 29,97; 12,49 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₄H₁₆ClN₄O⁺ (m/z): 275,1058; nalezeno 275,1054. LC-UV čistota 95 %.

***N*-[(5*E*)-8-chlor-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]propan-2-amin (II-6d)**

Výtěžek: 44 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: > 205 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,23 (d, *J* = 8,7 Hz; 1H); 7,92 (d, *J* = 2,0 Hz; 1H); 7,43 (dd, *J* = 8,7; 1,9 Hz; 1H); 5,52 (dt, *J* = 4,3; 2,9 Hz; 1H); 5,07 (dt, *J* = 4,3; 2,5 Hz; 1H); 4,65 (hept, *J* = 6,6 Hz; 1H); 4,51 (t, *J* = 2,7 Hz; 2H); 3,15 (s, 3H); 1,30 (d, *J* = 6,6 Hz; 6H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 159,31; 155,67; 141,58; 137,78; 137,25; 126,74; 125,14; 114,79; 110,07; 94,93; 52,83; 44,78; 29,96; 20,28 ppm;

HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₅H₁₈ClN₄⁺ (m/z): 289,1215; nalezeno 289,1211. LC-UV čistota 96 %.

N4-butyl-7-chloro-N2-methyl-N2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin(II-6e)

Výtěžek: 71 %. Bílý krystalický prášek; bod tání: 213 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,32 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 8,24 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 7,67 (dd, *J* = 8,8; 1,9 Hz, 1H); 7,25 (q, *J* = 1,3 Hz, 1H); 3,70 (s, 3H); 3,65 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H); 2,74 (d, *J* = 1,3 Hz, 3H); 1,73 – 1,65 (m, 2H); 1,43 – 1,35 (m, 2H); 0,93 (d, *J* = 7,4 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 156,57; 144,57; 140,26; 136,66; 127,32; 126,45; 122,38; 118,46; 116,63; 111,54; 41,39; 30,84; 30,27; 19,87; 12,76; 12,45 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₆H₂₀ClN₄⁺ (m/z): 303,1371; nalezeno 303,1367. LC-UV čistota 98 %.

N-[(5E)-8-chlor-3-methyl-1-methyliden-1H,2H,3H,5H-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]-2-methoxyethan-1-amin (II-6f)

Výtěžek: 65 % jako směs s demethoxyethylovým zacykleným derivátem. Hnědý krystalický prášek. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,11 (d, *J* = 8,7 Hz; 1H); 7,85 (d, *J* = 1,9 Hz; 1H); 7,37 (dd, *J* = 8,7; 1,9 Hz; 1H); 5,45 (dt, *J* = 4,2; 2,8 Hz; 1H); 5,01 (dt, *J* = 4,2; 2,4 Hz; 1H); 4,46 (t, *J* = 2,7 Hz; 2H); 3,82 (t, *J* = 5,6 Hz; 2H); 3,61 (t, *J* = 5,6 Hz; 2H); 3,30 (s, 3H); 3,11 (s, 3H) ppm.

(5E)-8-chlor-N-cyklopropyl-3-methyl-1-methyliden-1H,2H,3H,5H-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin (II-6g)

Výtěžek: 69 %. Žlutý krystalická prášek; bod tání: 195 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7,97 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 7,73 (d, *J* = 2,0 Hz; 1H); 7,22 (dd, *J* = 8,7; 2,0 Hz; 1H); 5,31 – 5,27 (m, 1H); 4,91 – 4,85 (m, 1H); 4,37 – 4,33 (m, 2H); 3,58 – 3,50 (m, 1H); 3,07 (s, 3H); 0,81 – 0,75 (m, 2H); 0,70 – 0,64 (m, 2H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 154,19; 137,61; 137,13; 127,07; 124,26; 113,96; 91,90; 82,93; 70,13; 52,42; 29,75; 27,68; 6,02; 5,47 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₅H₁₆ClN₄⁺ (m/z): 287,1058; nalezeno 287,1054. LC-UV čistota > 99 %.

(5E)-8-chlor-N-cyklohexyl-3-methyl-1-methyliden-1H,2H,3H,5H-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin (II-6h)

Výtěžek: 68 %. Žlutá krystalický prášek; bod tání: 191 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,23 (d, *J* = 8,8 Hz; 1H); 7,92 (d, *J* = 1,9 Hz; 1H); 7,43

(dd, $J = 8,7$; $1,9$ Hz; 1H); 5,51 (dt, $J = 4,3$; $2,9$ Hz; 1H); 5,07 (dt, $J = 4,3$; $2,5$ Hz; 1H); 4,51 (t, $J = 2,7$ Hz; 2H); 4,33 – 4,24 (m, 1H); 3,14 (s, 3H); 2,00 – 1,93 (m, 2H); 1,82 – 1,76 (m, 2H); 1,68 – 1,62 (m, 1H); 1,49 – 1,32 (m, 4H); 1,25 – 1,14 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 159,33; 155,68; 141,60; 137,79; 137,23; 126,75; 125,14; 114,78; 110,05; 94,94; 52,83; 52,14; 31,33; 29,96; 25,05; 24,92 ppm; HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClN}_4^+$ (m/z): 329,1528; nalezeno 329,1523. LC-UV čistota 99 %.

Směs 6-methoxy-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin a 7-methoxy-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-iminu (III-6a) v poměru 2:1

Výtěžek: 87 %. Tmavě hnědý krystalický prášek.

6-methoxy-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin

^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 8,36 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H); 7,86 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H); 7,62 (dd, $J = 9,4$; $2,8$ Hz, 1H); 3,99 (s, 3H); 3,78 (s, 3H); 2,83 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H) ppm.

7-methoxy-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin

^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 7,94 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 7,43 (dd, $J = 9,3$, $2,8$ Hz, 1H), 5,55-5,50 (m, 1H), 5,02-4,97 (m, 1H), 4,47 (t, $J = 2,7$, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,10 (s, 3H) ppm.

6-methoxy-*N*2,*N*4-dimethyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (III-6b)

Výtěžek: 61 %. Produkt znečištěn zacykleným derivátem. Hnědý krystalický prášek. ^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 8,23 (d, $J = 9,4$ Hz; 1H); 7,70 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H); 7,48 (dd, $J = 9,4$; $2,8$ Hz; 1H), 7,21 (q, $J = 1,3$ Hz; 1H); 3,89 (s, 3H); 3,71 (s, 3H); 3,15 (s, 3H); 2,72 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H) ppm.

***N*4-ethyl-6-methoxy-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (III-6c)**

Výtěžek: 48 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 198 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 8,34 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H); 7,88 (d, $J = 2,8$ Hz; 1H); 7,60 (dd, $J = 9,4$; $2,8$ Hz; 1H); 7,32 (q, $J = 1,3$ Hz; 1H); 4,02 (s, 3H); 3,84 – 3,79 (m, 5H); 2,83 (d, $J = 1,3$ Hz; 3H); 1,43 (t, $J = 7,2$ Hz; 3H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 158,39; 156,43; 143,48; 129,90; 122,78; 121,91; 118,21; 117,89; 114,00; 106,38;

55,42; 36,56; 30,72; 12,68; 12,61 ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₅H₁₉N₄O⁺ (m/z): 271,1554; nalezeno 271,1548. LC-UV čistota 96 %.

***N*-[(5*E*)-7-methoxy-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-yliden]propan-2-amin (III-6d)**

Výtěžek: 31 %. Produkt znečištěn *N*-methylpropargylaminovým derivátem. Hnědý krystalický prášek. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 7,94 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H); 7,77 (d, *J* = 2,8 Hz; 1H); 7,41 (dd, *J* = 9,3; 2,8 Hz; 1H); 5,52 (dt, *J* = 4,1; 2,9 Hz; 1H); 4,99 (dt, *J* = 4,1; 2,6 Hz; 1H); 4,48 (t, *J* = 2,7 Hz; 2H); 3,85 (s, 3H); 3,54 – 3,48 (m, 1H); 3,13 (s, 3H); 1,31 (d, *J* = 6,6 Hz; 6H) ppm.

***N*4-butyl-6-methoxy-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (III-6e)**

Výtěžek: 83 %. Produkt znečištěn zacykleným derivátem. Hnědý krystalický prášek. ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,25 (d, *J* = 9,4 Hz; 1H); 7,78 (d, *J* = 2,8 Hz; 1H); 7,50 (dd, *J* = 9,4; 2,8 Hz; 1H); 3,90 (s, 3H); 3,70 (s, 3H); 3,67 (t, *J* = 7,3 Hz; 2H); 2,72 (d, *J* = 1,3 Hz; 3H); 1,75 – 1,68 (m, 2H); 1,43 – 1,38 (m, 2H); 0,93 (t, *J* = 7,4 Hz; 3H) ppm.

6-methoxy-*N*4-(2-methoxyethyl)-*N*2-methyl-*N*2-(prop-2-yn-1-yl)chinazolin-2,4-diamin (III-6f)

Výtěžek: 28 %. Tmavě hnědý krystalický prášek; bod tání: 195 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 8,26 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H); 7,80 (d, *J* = 2,8 Hz; 1H); 7,51 (dd, *J* = 9,4; 2,8 Hz; 1H); 7,22 (q, 1H); 3,90 (s, 3H); 3,86 (t, *J* = 5,5 Hz; 2H); 3,70 (s, 3H); 3,67 (t, *J* = 5,5 Hz; 2H); 3,32 (s, 3H); 2,73 (d, *J* = 1,3 Hz, 3H) ppm; ¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄): δ 158,44; 156,87; 143,35; 130,03; 122,95; 122,04; 118,28; 117,98; 114,01; 106,43; 69,70; 57,65; 55,36; 41,28; 30,76; 20,65; ppm; HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺: vypočítáno pro C₁₆H₂₁N₄O₂⁺ (m/z): 301,1660; nalezeno 301,1655. LC-UV čistota 96 %.

(5*E*)-*N*-cyklopropyl-7-methoxy-3-methyl-1-methyliden-1*H*,2*H*,3*H*,5*H*-imidazo[1,2-*a*]chinazolin-5-imin (III-6g)

Výtěžek: 21 %. Hnědý krystalický prášek; bod tání: 187 °C (rozklad). ¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄): δ 7,58 (d, *J* = 9,2 Hz; 1H); 7,52 (d, *J* = 3,0 Hz; 1H); 7,03 (dd, *J* = 9,1; 3,0 Hz; 1H); 5,15 (q, *J* = 2,8 Hz; 1H); 4,68 – 4,63 (m, 1H); 4,23 (t, *J* = 2,5 Hz; 2H); 3,74 (s, 3H); 3,69 – 3,63 (m, 1H); 2,99 (s, 3H); 0,75 – 0,71 (m, 2H); 0,66

– 0,62 (m, 2H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 157,07; 156,20; 153,69; 138,23; 129,95; 119,04; 118,26; 115,27; 108,49; 89,13; 54,75; 52,29; 29,67; 28,71; 6,22; 5,47 ppm; HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}^+$ (m/z): 283,1554; nalezeno 283,1550. LC-UV čistota 99 %.

(5E)-N-cyklohexyl-7-methoxy-3-methyl-1-methyliden-1H,2H,3H,5H-imidazo[1,2-a]chinazolin-5-imin (III-6h)

Výtěžek: 66 %. Žlutý krystalický prášek; bod tání: 177 °C (rozklad). ^1H NMR (500 MHz, Methanol- d_4): δ 7,92 (d, $J = 9,3$ Hz; 1H); 7,78 (d, $J = 2,8$ Hz; 1H); 7,39 (dd, $J = 9,3$; 2,8 Hz, 1H); 5,51 (dt, $J = 4,1$; 2,9 Hz; 1H); 4,99 (dt, $J = 4,2$; 2,5 Hz; 1H); 4,48 (t, $J = 2,7$ Hz; 2H); 4,34 – 4,25 (m, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,13 (s, 3H); 2,02 – 1,95 (m, 2H), 1,83 – 1,77 (m, 2H); 1,69 – 1,62 (m, 1H); 1,52 – 1,43 (m, 2H); 1,42 – 1,32 (m, 2H); 1,24 – 1,15 (m, 1H) ppm; ^{13}C NMR (126 MHz, Methanol- d_4): δ 159,55; 156,96; 155,44; 137,84; 130,99; 123,34; 116,62; 112,23; 107,48; 93,75; 55,38; 52,77; 52,12; 31,40; 29,87; 25,11; 25,02 ppm; HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}]^+$: vypočítáno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}^+$ (m/z): 325,2023; nalezeno 325,2019. LC-UV čistota 97%.

7 LITERATURA

- [1] BENEK, Ondrej, Jan KORABECNY a Ondrej SOUKUP. A Perspective on Multi-target Drugs for Alzheimer's Disease. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 2020, **41**(7), 434–445. ISSN 1873-3735. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2020.04.008
- [2] KENNEDY, B. P., M. G. ZIEGLER, M. ALFORD, L. A. HANSEN, L. J. THAL a E. MASLIAH. Early and persistent alterations in prefrontal cortex MAO A and B in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission* [online]. 2003, **110**(7), 789–801. ISSN 0300-9564, 1435-1463. Dostupné z: doi:10.1007/s00702-003-0828-6
- [3] OKAMOTO, Shu-ichi, Mahmoud A. POULADI, Maria TALANTOVA, Dongdong YAO, Peng XIA, Dagmar E. EHRNHOFER, Rameez ZAIDI, Arjay CLEMENTE, Marcus KAUL, Rona K. GRAHAM, Dongxian ZHANG, H.-S. VINCENT CHEN, Gary TONG, Michael R. HAYDEN a Stuart A. LIPTON. Balance between synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor activity influences inclusions and neurotoxicity of mutant huntingtin. *Nature Medicine* [online]. 2009, **15**(12), 1407–1413. ISSN 1546-170X. Dostupné z: doi:10.1038/nm.2056
- [4] QUERFURTH, Henry W. a Frank M. LAFERLA. Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine* [online]. 2010, **362**(4), 329–344. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra0909142
- [5] KORÁBEČNÝ, Jan, Ondřej SOUKUP a Martin VALIŠ. *0. Alzheimerova nemoc: patofyziologie, klinika, farmakoterapie*. Praha: Maxdorf, 2020. ISBN 978-80-7345-643-6.
- [6] GOEDERT, M. Oskar Fischer and the study of dementia. *Brain* [online]. 2008, **132**(4), 1102–1111. ISSN 0006-8950, 1460-2156. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awn256
- [7] SPOLEČNOST, Česká alzheimerovská. Výroční zprávy. *Česká alzheimerovská společnost* [online]. [vid. 2023-11-11]. Dostupné z: <https://www.alzheimer.cz/cals/vyrocnizpravy/>
- [8] YIANNOPOULOU, Konstantina G a Sokratis G PAPAGEORGIOU. Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *Journal of Central Nervous System Disease* [online]. 2020, **12**, 1179573520907397. ISSN 1179-5735. Dostupné z: doi:10.1177/1179573520907397
- [9] 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. *The Lancet* [online]. 2020, **396**(10248), 413–446. ISSN 0140-6736, 1474-547X. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(20)30367-6
- [10] 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. 2023-10-08], Subcellular Biochemistry, s. 329–352. ISBN 978-94-007-5416-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-5416-4_14
- [11] DUBOIS, Bruno, Harald HAMPEL, Howard H. FELDMAN, Philip SCHELTENS, Paul AISEN, Sandrine ANDRIEU, Hovagim BAKARDJIAN, Habib BENALI, Lars BERTRAM, Kaj BLENNOW, Karl BROICH, Enrica CAVEDO, Sebastian CRUTCH, Jean-François DARTIGUES, Charles DUYCKAERTS, Stéphane EPELBAUM, Giovanni B. FRISONI, Serge GAUTHIER, Remy GENTHON, Alida A. GOUW, Marie-Odile HABERT, David M. HOLTZMAN, Miia KIVIPELTO, Simone LISTA, José-Luis MOLINUEVO, Sid E. O’BRYANT, Gil D. RABINOVICI, Christopher ROWE, Stephen SALLOWAY, Lon S. SCHNEIDER, Reisa SPERLING, Marc TEICHMANN, Maria C. CARRILLO, Jeffrey CUMMINGS, Cliff R. JACK JR, a PROCEEDINGS OF THE MEETING OF THE INTERNATIONAL WORKING GROUP (IWG) AND THE AMERICAN ALZHEIMER’S ASSOCIATION ON “THE PRECLINICAL STATE OF AD”; JULY 23, 2015; WASHINGTON DC, USA. Preclinical Alzheimer’s disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer’s & Dementia* [online]. 2016, **12**(3), 292–323. ISSN 1552-5279. Dostupné z: doi:10.1016/j.jalz.2016.02.002
- [12] KUMAR, Anil, Jaskirat SIDHU, Amandeep GOYAL a Jack W. TSAO. Alzheimer Disease. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023 [vid. 2023-10-08]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/>
- [13] WATTMO, Carina, Lennart MINTHON a Åsa K. WALLIN. Mild versus moderate stages of Alzheimer’s disease: three-year outcomes in a routine clinical setting of cholinesterase inhibitor therapy. *Alzheimer’s Research & Therapy* [online]. 2016, **8**(1), 7. ISSN 1758-9193. Dostupné z: doi:10.1186/s13195-016-0174-1
- [14] APOSTOLOVA, Liana G. Alzheimer Disease. *Continuum (Minneapolis, Minn.)* [online]. 2016, **22**(2 Dementia), 419–434. ISSN 1538-6899. Dostupné z: doi:10.1212/CON.0000000000000307
- [15] MCKHANN, G., D. DRACHMAN, M. FOLSTEIN, R. KATZMAN, D. PRICE a E. M. STADLAN. Clinical diagnosis of Alzheimer’s disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer’s Disease. *Neurology* [online].

- 1984, **34**(7), 939–939. ISSN 0028-3878, 1526-632X. Dostupné z: doi:10.1212/WNL.34.7.939
- [16] HOU, Yujun, Xiuli DAN, Mansi BABBAR, Yong WEI, Steen G. HASSELBALCH, Deborah L. CROTEAU a Vilhelm A. BOHR. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology* [online]. 2019, **15**(10), 565–581. ISSN 1759-4758, 1759-4766. Dostupné z: doi:10.1038/s41582-019-0244-7
- [17] KATZMAN, R., M. ARONSON, P. FULD, C. KAWAS, T. BROWN, H. MORGENSTERN, W. FRISHMAN, L. GIDEZ, H. EDER a W. L. OOI. Development of dementing illnesses in an 80-year-old volunteer cohort. *Annals of Neurology* [online]. 1989, **25**(4), 317–324. ISSN 0364-5134, 1531-8249. Dostupné z: doi:10.1002/ana.410250402
- [18] SEPULVEDA-FALLA, Diego, Lucia CHAVEZ-GUTIERREZ, Erik PORTELIUS, Jorge I. VÉLEZ, Simon DUJARDIN, Alvaro BARRERA-OCAMPO, Felix DINKEL, Christian HAGEL, Berta PUIG, Claudio MASTRONARDI, Francisco LOPERA, Bradley T. HYMAN, Kaj BLENNOW, Mauricio ARCOS-BURGOS, Bart de STROOPER a Markus GLATZEL. A multifactorial model of pathology for age of onset heterogeneity in familial Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica* [online]. 2021, **141**(2), 217. Dostupné z: doi:10.1007/s00401-020-02249-0
- [19] DUJARDIN, Simon, Caitlin COMMINS, Aurelien LATHUILIERE, Pieter BEEREPOOT, Analiese R. FERNANDES, Tarun V. KAMATH, Mark B. DE LOS SANTOS, Naomi KLICKSTEIN, Diana L. CORJUC, Bianca T. CORJUC, Patrick M. DOOLEY, Arthur VIODE, Derek H. OAKLEY, Benjamin D. MOORE, Kristina MULLIN, Dinorah JEAN-GILLES, Ryan CLARK, Kevin ATCHISON, Renee MOORE, Lori B. CHIBNIK, Rudolph E. TANZI, Matthew P. FROSCH, Alberto SERRANO-POZO, Fiona ELWOOD, Judith A. STEEN, Matthew E. KENNEDY a Bradley T. HYMAN. Tau molecular diversity contributes to clinical heterogeneity in Alzheimer's disease. *Nature medicine* [online]. 2020, **26**(8), 1256–1263. ISSN 1078-8956. Dostupné z: doi:10.1038/s41591-020-0938-9
- [20] EVANS, Denis A. Prevalence of Alzheimer's Disease in a Community Population of Older Persons: Higher Than Previously Reported. *JAMA* [online]. 1989, **262**(18), 2551. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.1989.03430180093036
- [21] BEKRIS, Lynn M., Chang-En YU, Thomas D. BIRD a Debby W. TSUANG. Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology* [online]. 2010, **23**(4), 213–227. ISSN 0891-9887, 1552-5708. Dostupné z: doi:10.1177/0891988710383571
- [22] KIM, Jungsu, Jacob M. BASAK a David M. HOLTZMAN. The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. *Neuron* [online]. 2009, **63**(3), 287–303. ISSN 08966273. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuron.2009.06.026

- [23] LAHOZ, Carlos, Ernst J. SCHAEFER, L. Adrienne CUPPLES, Peter W. F. WILSON, Daniel LEVY, Doreen OSGOOD, Stefanos PARPOS, Juan PEDRO-BOTET, Jennifer A. DALY a Jose M. ORDOVAS. Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* [online]. 2001, **154**(3), 529–537. ISSN 0021-9150. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9150(00)00570-0
- [24] VAN CAUWENBERGHE, Caroline, Christine VAN BROECKHOVEN a Kristel SLEEGERS. The genetic landscape of Alzheimer disease: clinical implications and perspectives. *Genetics in Medicine* [online]. 2016, **18**(5), 421–430. ISSN 1098-3600. Dostupné z: doi:10.1038/gim.2015.117
- [25] KHANAHMADI, Mohammad, Dariush D. FARHUD a Maryam MALMIR. Genetic of Alzheimer’s Disease: A Narrative Review Article. *Iranian Journal of Public Health*. 2015, **44**(7), 892–901. ISSN 2251-6085.
- [26] HENDERSON, A. S. The risk factors for Alzheimer’s disease: a review and a hypothesis. *Acta Psychiatrica Scandinavica* [online]. 1988, **78**(3), 257–275. ISSN 0001-690X, 1600-0447. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0447.1988.tb06336.x
- [27] LEÓN, Rafael, Antonio G. GARCIA a José MARCO-CONTELLES. Recent advances in the multitarget-directed ligands approach for the treatment of Alzheimer’s disease. *Medicinal Research Reviews* [online]. 2013, **33**(1), 139–189. ISSN 0198-6325, 1098-1128. Dostupné z: doi:10.1002/med.20248
- [28] OROBETS, Kseniia S. a Andrey L. KARAMYSHEV. Amyloid Precursor Protein and Alzheimer’s Disease. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2023, **24**(19), 14794. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms241914794
- [29] HABIB, Ahsan, Darrell SAWMILLER a Jun TAN. Restoring Soluble Amyloid Precursor Protein α Functions as a Potential Treatment for Alzheimer’s Disease. *Journal of Neuroscience Research* [online]. 2017, **95**(4), 973–991. ISSN 0360-4012, 1097-4547. Dostupné z: doi:10.1002/jnr.23823
- [30] CHEN, Guo-fang, Ting-hai XU, Yan YAN, Yu-ren ZHOU, Yi JIANG, Karsten MELCHER a H. Eric XU. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica* [online]. 2017, **38**(9), 1205–1235. ISSN 1745-7254. Dostupné z: doi:10.1038/aps.2017.28
- [31] ARMSTRONG, Richard A. The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer’s disease. *Folia Neuropathologica*. 2009, **47**(4), 289–299. ISSN 1509-572X.
- [32] DOI, Yukiko, Tetsuya MIZUNO, Yuki MAKI, Shijie JIN, Hiroyuki MIZOGUCHI, Masayoshi IKEYAMA, Minoru DOI, Makoto MICHIKAWA, Hideyuki TAKEUCHI a Akio SUZUMURA. Microglia Activated with the Toll-Like Receptor 9 Ligand CpG Attenuate Oligomeric Amyloid β Neurotoxicity in

- in Vitro* and *in Vivo* Models of Alzheimer's Disease. *The American Journal of Pathology* [online]. 2009, **175**(5), 2121–2132. ISSN 0002-9440. Dostupné z: doi:10.2353/ajpath.2009.090418
- [33] CHWALISZ, B. K. Cerebral amyloid angiopathy and related inflammatory disorders. *Journal of the Neurological Sciences* [online]. 2021, **424**, 117425. ISSN 0022-510X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jns.2021.117425
- [34] BUÉE, L., T. BUSSIÈRE, V. BUÉE-SCHERRER, A. DELACOURTE a P. R. HOF. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research. Brain Research Reviews* [online]. 2000, **33**(1), 95–130. Dostupné z: doi:10.1016/s0165-0173(00)00019-9
- [35] MERAZ-RÍOS, Marco A., Karla I. LIRA-DE LEÓN, Victoria CAMPOS-PEÑA, Martha A. DE ANDA-HERNÁNDEZ a Raúl MENA-LÓPEZ. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* [online]. 2010, **112**(6), 1353–1367. ISSN 1471-4159. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06511.x
- [36] SMALL, Scott A. a Karen DUFF. Linking A β and Tau in Late-Onset Alzheimer's Disease: A Dual Pathway Hypothesis. *Neuron* [online]. 2008, **60**(4), 534–542. ISSN 0896-6273. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuron.2008.11.007
- [37] HARDY, John a Dennis J. SELKOE. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 2002, **297**(5580), 353–356. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1072994
- [38] GUELA, Changiz, Chuang-Kuo WU, Daniel SAROFF, Alfredo LORENZO, Menglan YUAN a Bruce A. YANKNER. Aging renders the brain vulnerable to amyloid β -protein neurotoxicity. *Nature Medicine* [online]. 1998, **4**(7), 827–831. ISSN 1078-8956, 1546-170X. Dostupné z: doi:10.1038/nm0798-827
- [39] HENSLEY, Kenneth. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: Mechanisms, Pathologic Consequences, and Potential for Therapeutic Manipulation. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2010, **21**(1), 1–14. ISSN 18758908, 13872877. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-2010-1414
- [40] SOLER-LÓPEZ, Montserrat, Nahuai BADIOLA, Andreas ZANZONI a Patrick ALOY. Towards Alzheimer's root cause: ECSIT as an integrating hub between oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction: Hypothetical role of the adapter protein ECSIT in familial and sporadic Alzheimer's disease pathogenesis. *BioEssays* [online]. 2012, **34**(7), 532–541. ISSN 0265-9247, 1521-1878. Dostupné z: doi:10.1002/bies.201100193
- [41] WEINER, Howard L. a Dan FRENKEL. Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2006, **6**(5), 404–416. ISSN 1474-1733, 1474-1741. Dostupné z: doi:10.1038/nri1843

- [42] MILLS, Kingston H. G. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2011, **11**(12), 807–822. ISSN 1474-1741. Dostupné z: doi:10.1038/nri3095
- [43] MOULTON, Paula Valencia a Wei YANG. Air Pollution, Oxidative Stress, and Alzheimer's Disease. *Journal of Environmental and Public Health* [online]. 2012, **2012**, 1–9. ISSN 1687-9805, 1687-9813. Dostupné z: doi:10.1155/2012/472751
- [44] JEONG, Euy-Myoung, Jaehoon CHUNG, Hong LIU, Yeongju GO, Scott GLADSTEIN, Afshin FARZANEH-FAR, E. Douglas LEWANDOWSKI a Samuel C. DUDLEY. Role of Mitochondrial Oxidative Stress in Glucose Tolerance, Insulin Resistance, and Cardiac Diastolic Dysfunction. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease* [online]. 2016, **5**(5), e003046. ISSN 2047-9980. Dostupné z: doi:10.1161/JAHA.115.003046
- [45] BHATTI, Jasvinder Singh, Gurjit Kaur BHATTI a P. Hemachandra REDDY. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A Step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et biophysica acta* [online]. 2017, **1863**(5), 1066–1077. ISSN 0006-3002. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2016.11.010
- [46] JOMOVA, Klaudia, Renata RAPTOVA, Suliman Y. ALOMAR, Saleh H. ALWASEL, Eugenie NEPOVIMOVA, Kamil KUCA a Marian VALKO. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology* [online]. 2023, **97**(10), 2499–2574. ISSN 0340-5761. Dostupné z: doi:10.1007/s00204-023-03562-9
- [47] FINKEL, Toren a Nikki J. HOLBROOK. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* [online]. 2000, **408**(6809), 239–247. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/35041687
- [48] MASSOULIÉ, Jean, Joel SUSSMAN, Suzanne BON a Israel SILMAN. Chapter 15: Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. In: A. Claudio CUELLO, ed. *Progress in Brain Research* [online]. B.m.: Elsevier, 1993 [vid. 2024-01-06], Cholinergic Function and Dysfunction, s. 139–146. Dostupné z: doi:10.1016/S0079-6123(08)62391-2
- [49] TALESA, Vincenzo Nicola. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mechanisms of Ageing and Development* [online]. 2001, **122**(16), 1961–1969. ISSN 00476374. Dostupné z: doi:10.1016/S0047-6374(01)00309-8
- [50] 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), 10th International Meeting on Cholinesterases, 10–22. ISSN 0009-2797. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbi.2010.01.042

- [51] PATOČKA, Jiří, Kamil KUČA a Daniel JUN. Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase – Important Enzymes of Human Body. *Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)* [online]. 2018, **47**(4), 215–228. ISSN 1211-4286, 1805-9694. Dostupné z: doi:10.14712/18059694.2018.95
- [52] SCHWARZ, Mikael, David GLICK, Yael LOEWENSTEIN a Hermona 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
- [53] NACHON, Florian, Eugénie CARLETTI, Cyril RONCO, Marie TROVASLET, Yvain NICOLET, Ludovic JEAN a Pierre-Yves RENARD. Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and butyrylcholinesterase. *The Biochemical Journal* [online]. 2013, **453**(3), 393–399. ISSN 1470-8728. Dostupné z: doi:10.1042/BJ20130013
- [54] SVOBODOVÁ, Barbora. *Vývoj nových modulátorů cholinesteráz: disertační práce. Hradec Králové, 2023.* B.m., nedatováno. b.n.
- [55] 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
- [56] HUSSEIN, Weiam, Begüm Nurpelin SAĞLIK, Serkan LEVENT, Büşra KORKUT, Sinem ILGIN, Yusuf ÖZKAY a Zafer Asım KAPLANCIKLI. Synthesis and Biological Evaluation of New Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry* [online]. 2018, **23**(8), 2033. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23082033
- [57] MESULAM, -Marsel a Changiz GEULA. Butyrylcholinesterase reactivity differentiates the amyloid plaques of aging from those of dementia. *Annals of Neurology* [online]. 1994, **36**(5), 722–727. ISSN 0364-5134, 1531-8249. Dostupné z: doi:10.1002/ana.410360506
- [58] PASIEKA, Anna, Dawid PANEK, Paula ZARĘBA, Emilia SŁUGOCKA, Natalia GUCWA, Alba ESPARGARÓ, Gniewomir LATACZ, Nadia KHAN, Adam BUCKI, Raimon SABATÉ, Anna WIĘCKOWSKA a Barbara MALAWSKA. Novel drug-like fluorenyl derivatives as selective butyrylcholinesterase and β -amyloid inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [online]. 2023, **88–89**, 117333. ISSN 0968-0896. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmc.2023.117333
- [59] DARVESH, Sultan, Meghan K. CASH, George Andrew REID, Earl MARTIN, Arnold MITNITSKI a Changiz GEULA. Butyrylcholinesterase Is Associated

With β -Amyloid Plaques in the Transgenic APPSWE/PSEN1dE9 Mouse Model of Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* [online]. 2012, **71**(1), 2–14. ISSN 0022-3069. Dostupné z: doi:10.1097/NEN.0b013e31823cc7a6

- [60] 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, 1460-2156. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awy132
- [61] KÁSA, Peter, Zoltan RAKONCZAY a Karoly GULYA. The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* [online]. 1997, **52**(6), 511–535. ISSN 03010082. Dostupné z: doi:10.1016/S0301-0082(97)00028-2
- [62] PAKASKI, M a J KALMAN. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International* [online]. 2008, **53**(5), 103–111. ISSN 01970186. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuint.2008.06.005
- [63] GOTTI, Cecilia, Milena MORETTI, Iwo BOHR, Iryna ZIABREVA, Silvia VAILATI, Renato LONGHI, Loredana RIGANTI, Annalisa GAIMARRI, Ian G. MCKEITH, Robert H. PERRY, Dag AARSLAND, Jan Petter LARSEN, Emanuele SHER, Ruth BEATTIE, Francesco CLEMENTI a Jennifer A. COURT. Selective nicotinic acetylcholine receptor subunit deficits identified in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies by immunoprecipitation. *Neurobiology of Disease* [online]. 2006, **23**(2), 481–489. ISSN 09699961. Dostupné z: doi:10.1016/j.nbd.2006.04.005
- [64] LEBOIS, E. P., C. THORN, J. R. EDGERTON, M. POPIOLEK a S. XI. Muscarinic receptor subtype distribution in the central nervous system and relevance to aging and Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* [online]. 2018, **136**, Neuropharmacology on Muscarinic Receptors, 362–373. ISSN 0028-3908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2017.11.018
- [65] MA, Kai-Ge a Yi-Hua QIAN. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease. *Neuropeptides* [online]. 2019, **73**, 96–106. ISSN 0143-4179. Dostupné z: doi:10.1016/j.npep.2018.12.003
- [66] IBACH, Bernd a Ekkehard HAEN. Acetylcholinesterase Inhibition in Alzheimers Disease. *Current Pharmaceutical Design* [online]. 2004, **10**(3), 231–251. ISSN 13816128. Dostupné z: doi:10.2174/1381612043386509
- [67] COLOVIC, Mirjana B., Danijela Z. KRSTIC, Tamara D. LAZAREVIC-PASTI, Aleksandra M. BONDZIC a Vesna M. VASIC. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology* [online]. 2013, **11**(3), 315–335. ISSN 1570159X. Dostupné z: doi:10.2174/1570159X11311030006

- [68] PATOČKA, Jiří. *Vojenská toxikologie*. B.m.: Grada Publishing a.s., 2004. ISBN 978-80-247-0608-5.
- [69] WOREK, Franz, Horst THIERMANN, Ladislaus SZINICZ a Peter EYER. Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes. *Biochemical Pharmacology* [online]. 2004, **68**(11), 2237–2248. ISSN 0006-2952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2004.07.038
- [70] RIEDEL, G. Glutamate receptor function in learning and memory. *Behavioural Brain Research* [online]. 2003, **140**(1–2), 1–47. ISSN 01664328. Dostupné z: doi:10.1016/S0166-4328(02)00272-3
- [71] NISWENDER, Colleen M. a P. Jeffrey CONN. Metabotropic Glutamate Receptors: Physiology, Pharmacology, and Disease. *Annual review of pharmacology and toxicology* [online]. 2010, **50**, 295–322. ISSN 0362-1642. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533
- [72] SCHREIBER, Julian A., Dirk SCHEPMANN, Bastian FREHLAND, Simone THUM, Maia DATUNASHVILI, Thomas BUDDE, Michael HOLLMANN, Nathalie STRUTZ-SEEBOHM, Bernhard WÜNSCH a Guiscard SEEBOHM. A common mechanism allows selective targeting of GluN2B subunit-containing N-methyl-D-aspartate receptors. *Communications Biology* [online]. 2019, **2**(1), 420. ISSN 2399-3642. Dostupné z: doi:10.1038/s42003-019-0645-6
- [73] JEWETT, Benjamin E. a Bicky THAPA. Physiology, NMDA Receptor. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024 [vid. 2024-04-05]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519495/>
- [74] 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
- [75] KORÁBEČNÝ, Jan. Multipotentní sloučeniny v terapii Alzheimerovy choroby [online]. 2020 [vid. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/170984>
- [76] 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 1471-003X, 1471-0048. Dostupné z: doi:10.1038/nrn2911
- [77] WANG, Rui a P. Hemachandra REDDY. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2017, **57**(4), 1041–1048. ISSN 13872877, 18758908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-160763

- [78] LIU, Jinping, Lirong CHANG, Yizhi SONG, Hui LI a Yan WU. The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience* [online]. 2019, **13**, 43. ISSN 1662-453X. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2019.00043
- [79] WALLACH, Jason a Simon D. BRANDT. Phencyclidine-Based New Psychoactive Substances. In: Hans H. MAURER a Simon D. BRANDT, ed. *New Psychoactive Substances* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018 [vid. 2024-02-23], Handbook of Experimental Pharmacology, s. 261–303. ISBN 978-3-030-10560-0. Dostupné z: doi:10.1007/164_2018_124
- [80] JANUS, Anna, Klaudia LUSTYK a Karolina PYTKA. MK-801 and cognitive functions: Investigating the behavioral effects of a non-competitive NMDA receptor antagonist. *Psychopharmacology* [online]. 2023, **240**(12), 2435–2457. ISSN 0033-3158. Dostupné z: doi:10.1007/s00213-023-06454-z
- [81] COOMBS, Susan E., Sudeep BANJADE, Ksenia KRIKSUNOV, Nicolina CLEMENTE, Jing ZHAO, Chunyu WANG, Richard E. GILLILAN a Robert E. OSWALD. In Vitro Effects of (+)MK-801 (dizocilpine) and Memantine on β -Amyloid Peptides Linked to Alzheimer's Disease. *Biochemistry* [online]. 2020, **59**(48), 4517–4522. ISSN 1520-4995. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biochem.0c00813
- [82] BACHURIN, Sergey, Sergey TKACHENKO, Igor BASKIN, Nadegda LERMONTOVA, Tatyana MUKHINA, Lyudmila PETROVA, Anatolij USTINOV, Alexey PROSHIN, Vladimir GRIGORIEV, Nikolay LUKOYANOV, Vladimir PALYULIN a Nikolay ZEFIROV. Neuroprotective and Cognition-Enhancing Properties of MK-801 Flexible Analogs: Structure-Activity Relationships. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2001, **939**(1), 219–236. ISSN 0077-8923, 1749-6632. Dostupné z: doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb03629.x
- [83] MIHALJEVIĆ, Slobodan, Matko PAVLOVIĆ, Krešimir REINER a Marko ČAČIĆ. THERAPEUTIC MECHANISMS OF KETAMINE. *Psychiatria Danubina* [online]. 2020, **32**(3–4), 325–333. ISSN 0353-5053. Dostupné z: doi:10.24869/psyd.2020.325
- [84] WANG, Ruiwei, Zihao ZHANG, Mukesh KUMAR, Guangming XU a Mengyuan ZHANG. Neuroprotective potential of ketamine prevents developing brain structure impairment and alteration of neurocognitive function induced via isoflurane through the PI3K/AKT/GSK-3 β pathway. *Drug Design, Development and Therapy* [online]. 2019, **13**, 501–512. ISSN 1177-8881. Dostupné z: doi:10.2147/DDDT.S188636
- [85] SMALHEISER, Neil R. Ketamine: A Neglected Therapy for Alzheimer Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* [online]. 2019, **11**, 186. ISSN 1663-4365. Dostupné z: doi:10.3389/fnagi.2019.00186
- [86] PILOZZI, Alexander, Simmie FOSTER, David MISCHOULON, Maurizio FAVA a Xudong HUANG. A Brief Review on the Potential of Psychedelics for

- Treating Alzheimer's Disease and Related Depression. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2023, **24**(15), 12513. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms241512513
- [87] AL-HORANI, Rami A. Riluzole and its prodrugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Pharmaceutical Patent Analyst* [online]. 2023, **12**(2), 79–85. ISSN 2046-8962. Dostupné z: doi:10.4155/ppa-2023-0001
- [88] PEREIRA, Ana C., Hilary K. LAMBERT, Yael S. GROSSMAN, Dani DUMITRIU, Rachel WALDMAN, Sophia K. JANNETTY, Katina CALAKOS, William G. JANSSEN, Bruce S. MCEWEN a John H. MORRISON. Glutamatergic regulation prevents hippocampal-dependent age-related cognitive decline through dendritic spine clustering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 2014, **111**(52), 18733–18738. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1421285111
- [89] HUNSBERGER, Holly C., Daniel S. WEITZNER, Carolyn C. RUDY, James E. HICKMAN, Eric M. LIBELL, Rebecca R. SPEER, Greg A. GERHARDT a Miranda N. REED. Riluzole Rescues Glutamate Alterations, Cognitive Deficits, and Tau Pathology Associated with P301L Tau Expression. *Journal of neurochemistry* [online]. 2015, **135**(2), 381. Dostupné z: doi:10.1111/jnc.13230
- [90] BACH, A W, N C LAN, D L JOHNSON, C W ABELL, M E BEMBENEK, S W KWAN, P H SEEBURG a J C SHIH. cDNA cloning of human liver monoamine oxidase A and B: molecular basis of differences in enzymatic properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1988, **85**(13), 4934–4938. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.85.13.4934
- [91] GOULTY, Matthew, Gaele BOTTON-AMIOT, Ezio ROSATO, Simon G. SPRECHER a Roberto FEUDA. The monoaminergic system is a bilaterian innovation. *Nature Communications* [online]. 2023, **14**(1), 3284. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-023-39030-2
- [92] YODIM, Moussa B. H., Dale EDMONDSON a Keith F. TIPTON. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nature Reviews Neuroscience* [online]. 2006, **7**(4), 295–309. ISSN 1471-003X, 1471-0048. Dostupné z: doi:10.1038/nrn1883
- [93] NAKAMURA, S., T. KAWAMATA, I. AKIGUCHI, M. KAMEYAMA, N. NAKAMURA a H. KIMURA. Expression of monoamine oxidase B activity in astrocytes of senile plaques. *Acta Neuropathologica* [online]. 1990, **80**(4), 419–425. ISSN 0001-6322, 1432-0533. Dostupné z: doi:10.1007/BF00307697
- [94] BURKE, William J, Shu Wen LI, Catherine A SCHMITT, Ping XIA, Hyung D CHUNG a Kathleen N GILLESPIE. Accumulation of 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde, the neurotoxic monoamine oxidase A metabolite of norepinephrine, in locus ceruleus cell bodies in Alzheimer's

- disease: mechanism of neuron death. *Brain Research* [online]. 1999, **816**(2), 633–637. ISSN 00068993. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-8993(98)01211-6
- [95] CARRADORI, Simone, Daniela SECCI a Jacques P. PETZER. MAO inhibitors and their wider applications: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* [online]. 2018, **28**(3), 211–226. ISSN 1354-3776, 1744-7674. Dostupné z: doi:10.1080/13543776.2018.1427735
- [96] YU, Peter H. Pharmacological and clinical implications of MAO-B inhibitors. *General Pharmacology: The Vascular System* [online]. 1994, **25**(8), 1527–1539. ISSN 03063623. Dostupné z: doi:10.1016/0306-3623(94)90352-2
- [97] MATEEV, Emilio, Magdalena KONDEVA-BURDINA, Maya GEORGIEVA a Alexander ZLATKOV. Repurposing of FDA-approved drugs as dual-acting MAO-B and AChE inhibitors against Alzheimer’s disease: An in silico and in vitro study. *Journal of Molecular Graphics & Modelling* [online]. 2023, **122**, 108471. ISSN 1873-4243. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmglm.2023.108471
- [98] TÁBI, Tamás, László VÉCSEI, Moussa B. YODIM, Peter RIEDERER a Éva SZÖKŐ. Selegiline: a molecule with innovative potential. *Journal of Neural Transmission* [online]. 2020, **127**(5), 831–842. ISSN 0300-9564, 1435-1463. Dostupné z: doi:10.1007/s00702-019-02082-0
- [99] MANGONI, A., M.P. GRASSI, L. FRATTOLA, R. PIOLTI, S. BASSI, A. MOTTA, A. MARCONE a S. SMIRNE. Effects of a MAO-B Inhibitor in the Treatment of Alzheimer Disease. *European Neurology* [online]. 1991, **31**(2), 100–107. ISSN 0014-3022, 1421-9913. Dostupné z: doi:10.1159/000116655
- [100] FINALI, G., M. PICCIRILLI, C. OLIANI a G. L. PICCININ. Alzheimer-type dementia and verbal memory performances: influence of selegiline therapy. *The Italian Journal of Neurological Sciences* [online]. 1992, **13**(2), 141–148. ISSN 0392-0461, 1590-3478. Dostupné z: doi:10.1007/BF02226963
- [101] FILIP, V a E KOLIBÁS. Selegiline in the treatment of Alzheimer’s disease: a long-term randomized placebo-controlled trial. Czech and Slovak Senile Dementia of Alzheimer Type Study Group. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 1999, **24**(3), 234–243. ISSN 1180-4882.
- [102] TARIOT, P. N., T. SUNDERLAND, H. WEINGARTNER, D. L. MURPHY, J. A. WELKOWITZ, K. THOMPSON a R. M. COHEN. Cognitive effects of l-deprenyl in Alzheimer’s disease. *Psychopharmacology* [online]. 1987, **91**(4), 489–495. ISSN 1432-2072. Dostupné z: doi:10.1007/BF00216016
- [103] BURKE, William J., William H. ROCCAFORTE, Steven P. WENGEL, Barbara L. BAYER, Anthony E. RANNO a Nancy K. WILLCOCKSON. L-Deprenyl in the Treatment of Mild Dementia of the Alzheimer Type: Results of a 15-Month Trial. *Journal of the American Geriatrics Society* [online]. 1993, **41**(11), 1219–1225. ISSN 0002-8614, 1532-5415. Dostupné z: doi:10.1111/j.1532-5415.1993.tb07306.x

- [104] SIDDIQUI, M. Asif A. a Greg L. PLOSKER. Rasagiline. *Drugs & Aging* [online]. 2005, **22**(1), 83–91. ISSN 1179-1969. Dostupné z: doi:10.2165/00002512-200522010-00006
- [105] KRISHNA, Rakhee, Manal ALI a Ahmed A. MOUSTAFA. Effects of combined MAO-B inhibitors and levodopa vs. monotherapy in Parkinson's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* [online]. 2014, **6**, 180. ISSN 1663-4365. Dostupné z: doi:10.3389/fnagi.2014.00180
- [106] BIGLAN, Kevin M., Steven SCHWID, Shirley EBERLY, Karen BLINDAUER, Stanley FAHN, Tamar GOREN, Karl KIEBURTZ, David OAKES, Sandra PLUMB, Andrew SIDEROWF, Matthew STERN, Ira SHOULSON, a PARKINSON STUDY GROUP. Rasagiline improves quality of life in patients with early Parkinson's disease. *Movement Disorders* [online]. 2006, **21**(5), 616–623. ISSN 0885-3185, 1531-8257. Dostupné z: doi:10.1002/mds.20764
- [107] HANAGASI, Hasmet A., Hakan GURVIT, Pinar UNSALAN, Hilal HOROZOGLU, Nese TUNCER, Aynur FEYZIOGLU, Dilek Ince GUNAL, Gorsev G. YENER, Raif CAKMUR, Huseyin A. SAHIN a Murat EMRE. The effects of rasagiline on cognitive deficits in Parkinson's disease patients without dementia: A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study. *Movement Disorders* [online]. 2011, **26**(10), 1851–1858. ISSN 1531-8257. Dostupné z: doi:10.1002/mds.23738
- [108] MATTHEWS, Dawn C., Aaron RITTER, Ronald G. THOMAS, Randolph D. ANDREWS, Ana S. LUKIC, Carolyn REVTA, Jefferson W. KINNEY, Babak TOUSI, James B. LEVERENZ, Howard FILLIT, Kate ZHONG, Howard H. FELDMAN a Jeffrey CUMMINGS. Rasagiline effects on glucose metabolism, cognition, and tau in Alzheimer's dementia. *Alzheimer's & Dementia : Translational Research & Clinical Interventions* [online]. 2021, **7**(1), e12106. ISSN 2352-8737. Dostupné z: doi:10.1002/trc2.12106
- [109] SONG, In-Uk, Jooyeon Jamie IM, Hyeonseok JEONG, Seung-Hee NA a Yong-An CHUNG. Possible neuroprotective effects of rasagiline in Alzheimer's disease: a SPECT study. *Acta Radiologica* [online]. 2021, **62**(6), 784–790. ISSN 0284-1851, 1600-0455. Dostupné z: doi:10.1177/0284185120940264
- [110] WEINREB, Orly, Tamar AMIT, Orit BAR-AM a Moussa B. H. YODIM. A novel anti-Alzheimer's disease drug, ladostigil neuroprotective, multimodal brain-selective monoamine oxidase and cholinesterase inhibitor. *International Review of Neurobiology* [online]. 2011, **100**, 191–215. ISSN 2162-5514. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-386467-3.00010-8
- [111] SCHNEIDER, Lon S., Yona GEFFEN, Jonathan RABINOWITZ, Ronald G. THOMAS, Reinhold SCHMIDT, Stefan ROPELE, Marta WEINSTOCK, a LADOSTIGIL STUDY GROUP. Low-dose ladostigil for mild cognitive impairment: A phase 2 placebo-controlled clinical trial. *Neurology* [online].

2019, **93**(15), e1474–e1484. ISSN 1526-632X. Dostupné
z: doi:10.1212/WNL.00000000000008239

- [112] WEINREB, Orly, Tamar AMIT, Orit BAR-AM a Moussa B.H. YODIM. Ladostigil: A Novel Multimodal Neuroprotective Drug with Cholinesterase and Brain-Selective Monoamine Oxidase Inhibitory Activities for Alzheimer's Disease Treatment. *Current Drug Targets* [online]. 2012, **13**(4), 483–494. Dostupné z: doi:10.2174/138945012799499794
- [113] Ladostigil | ALZFORUM. *AlzForum Foundation Inc.* [online]. 13. září 2019 [vid. 2024-05-01]. Dostupné z: <https://www.alzforum.org/therapeutics/ladostigil>
- [114] MARUCCI, Gabriella, Michela BUCCIONI, Diego Dal BEN, Catia LAMBERTUCCI, Rosaria VOLPINI a Francesco AMENTA. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* [online]. 2021, **190**, 108352. ISSN 00283908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108352
- [115] 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 00283908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2018.08.010
- [116] HORAK, Martin, Kristina HOLUBOVA, Eugenie NEPOVIMOVA, Jan KRUSEK, Martina KANIAKOVA, Jan KORABECNY, Ladislav VYKLIČKY, Kamil KUČA, Ales STUČHLIK, Jan RICNY, Karel VALES a Ondrej SOUKUP. The pharmacology of tacrine at N -methyl- d -aspartate receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* [online]. 2017, **75**, 54–62. ISSN 02785846. Dostupné z: doi:10.1016/j.pnpbp.2017.01.003
- [117] LAHIRI, Debomoy K. Reversibility of the effect of tacrine on the secretion of the β -amyloid precursor protein in cultured cells. *Neuroscience Letters* [online]. 1994, **181**(1–2), 149–152. ISSN 03043940. Dostupné z: doi:10.1016/0304-3940(94)90581-9
- [118] TUMIATTI, V., A. MINARINI, M.L. BOLOGNESI, A. MILELLI, M. ROSINI a C. MELCHIORRE. Tacrine Derivatives and Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry* [online]. 2010, **17**(17), 1825–1838. Dostupné z: doi:10.2174/092986710791111206
- [119] SOUKUP, Ondrej, Daniel JUN, Jana ZDAROVA-KARASOVA, Jiri PATOCKA, Kamil MUSILEK, Jan KORABECNY, Jan KRUSEK, Martina KANIAKOVA, Vendula SEPŠOVA, 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*. 2013, **10**(8), 893–906.
- [120] SHIGETA, Masahiro a Akira HOMMA. Donepezil for Alzheimer's Disease: Pharmacodynamic, Pharmacokinetic, and Clinical Profiles. *CNS Drug Reviews* [online]. 2001, **7**(4), 353–368. ISSN 1080-563X, 1527-3458. Dostupné z: doi:10.1111/j.1527-3458.2001.tb00204.x
- [121] BOINPALLY, Ramesh, Laishun CHEN, Stephen R. ZUKIN, Natalie MCCLURE, Robert K. HOFBAUER a Antonia PERICLOU. A Novel Once-Daily Fixed-Dose Combination of Memantine Extended Release and Donepezil for the Treatment of Moderate to Severe Alzheimer's Disease: Two Phase I Studies in Healthy Volunteers. *Clinical Drug Investigation* [online]. 2015, **35**(7), 427–435. ISSN 1173-2563, 1179-1918. Dostupné z: doi:10.1007/s40261-015-0296-4
- [122] STAHL, Stephen M. *Essential Psychopharmacology: the Prescriber's Guide*. B.m.: Cambridge University Press, 2005. ISBN 978-0-521-01169-3.
- [123] MIMICA, Ninoslav a Paola PRESECKI. Side Effects of Approved Antidementives. *PSYCHIATRIA DANUBINA*. 2009, **21**(1), 108–113. ISSN 0353-5053.
- [124] BIRKS, Jacqueline S. a John Grimley EVANS. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. 2015, (4) [vid. 2024-03-03]. ISSN 1465-1858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD001191.pub3
- [125] 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, 1744-8360. Dostupné z: doi:10.1586/14737175.5.5.563
- [126] FARLOW, Martin R., Mary L. LILLY, a FOR THE ENA713 B352 STUDY GROUP. Rivastigmine: an open-label, observational study of safety and effectiveness in treating patients with Alzheimer's disease for up to 5 years. *BMC Geriatrics* [online]. 2005, **5**(1), 3. ISSN 1471-2318. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2318-5-3
- [127] SMALL, G. W., D. KAUFER, M. S. MENDIONDO, P. QUARG a R. SPIEGEL. Cognitive performance in Alzheimer's disease patients receiving rivastigmine for up to 5 years. *International Journal of Clinical Practice* [online]. 2005, **59**(4), 473–477. ISSN 1742-1241. Dostupné z: doi:10.1111/j.1368-5031.2005.00524.x
- [128] MAELICKE, Alfred, Anja HOEFFLE-MAAS, Juergen LUDWIG, Arno MAUS, Marek SAMOCHOCKI, Ulrich JORDIS a Andreas K. E. KOEPKE. Memogain is a galantamine pro-drug having dramatically reduced adverse effects and enhanced efficacy. *Journal of molecular neuroscience: MN* [online].

2010, **40**(1–2), 135–137. ISSN 1559-1166. Dostupné z: doi:10.1007/s12031-009-9269-5

- [129] BAKKER, Charlotte, Jasper VAN DER AART, Ellen P. HART, Erica S. KLAASSEN, Kirsten R. BERGMANN, Michiel J. VAN ESDONK, Denis G. KAY a Geert Jan GROENEVELD. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of Gln-1062, a prodrug of galantamine. *Alzheimer's & Dementia : Translational Research & Clinical Interventions* [online]. 2020, **6**(1), e12093. ISSN 2352-8737. Dostupné z: doi:10.1002/trc2.12093
- [130] HEINEN-KAMMERER, T., H. RULHOFF, S. NELLES a R. RYCHLIK. Added Therapeutic Value of Memantine in the Treatment of Moderate to Severe Alzheimer's Disease. *Clinical Drug Investigation* [online]. 2006, **26**(6), 303–314. ISSN 1179-1918. Dostupné z: doi:10.2165/00044011-200626060-00001
- [131] MA, Heather M. a Ross D. ZAFONTE. Amantadine and memantine: a comprehensive review for acquired brain injury. *Brain Injury* [online]. 2020, **34**(3), 299–315. ISSN 0269-9052, 1362-301X. Dostupné z: doi:10.1080/02699052.2020.1723697
- [132] KISHI, Taro, Shinji MATSUNAGA, Kazuto OYA, Ikuo NOMURA, Toshikazu IKUTA a Nakao IWATA. Memantine for Alzheimer's Disease: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2017, **60**(2), 401–425. ISSN 13872877, 18758908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-170424
- [133] BALÁZS, Nóra, Dániel BEREZKI a Tibor KOVÁCS. Cholinesterase inhibitors and memantine for the treatment of Alzheimer and non-Alzheimer dementias. *Ideggyogyaszati Szemle* [online]. 2021, **74**(11–12), 379–387. ISSN 0019-1442. Dostupné z: doi:10.18071/isz.74.0379
- [134] MATSUNAGA, Shinji, Taro KISHI a Nakao IWATA. Combination Therapy with Cholinesterase Inhibitors and Memantine for Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Neuropsychopharmacology* [online]. 2015, **18**(5) [vid. 2024-04-08]. ISSN 1469-5111, 1461-1457. Dostupné z: doi:10.1093/ijnp/pyu115
- [135] SHI, Mingchao, Fengna CHU, Feiqi ZHU a Jie ZHU. 8. Impact of Anti-amyloid- β 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
- [136] DHILLON, Sohita. Aducanumab: First Approval. *Drugs* [online]. 2021, **81**(12), 1437–1443. ISSN 1179-1950. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-021-01569-z
- [137] alzheimers-drug-aducanumab-aduhelm-discontinued. *Alzheimer's Disease and Dementia* [online]. [vid. 2024-04-19]. Dostupné

z: <https://alz.org/news/2024/alzheimers-drug-aducanumab-aduhelm-discontinued>

- [138] 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
- [139] 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
- [140] 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
- [141] 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. 10. 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
- [142] BERCIK, Premysl, Emmanuel DENOU, Josh COLLINS, Wendy JACKSON, Jun LU, Jennifer JURY, Yikang DENG, Patricia BLENNERHASSETT, Joseph MACRI, Kathy D. MCCOY, Elena F. VERDU a Stephen M. COLLINS. The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotropic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology* [online]. 2011, **141**(2), 599-609.e3. ISSN 0016-5085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2011.04.052
- [143] HEIJTZ, Rochellys Diaz, Shugui WANG, Farhana ANUAR, Yu QIAN, Britta BJÖRKHOLM, Annika SAMUELSSON, Martin L. HIBBERD, Hans FORSSBERG a Sven PETTERSSON. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2011, **108**(7), 3047–3052. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1010529108
- [144] CHEN, Yao, Yaoyao BIAN, Yuan SUN, Chen KANG, Sheng YU, Tingming FU, Wei LI, Yuqiong PEI a Haopeng SUN. Identification of 4-aminoquinoline core for the design of new cholinesterase inhibitors. *PeerJ* [online]. 2016, **4**, e2140. ISSN 2167-8359. Dostupné z: doi:10.7717/peerj.2140
- [145] ZINDO, Frank T, Jacques JOUBERT a Sarel F MALAN. Propargylamine as functional moiety in the design of multifunctional drugs for neurodegenerative disorders: MAO inhibition and beyond. *Future Medicinal Chemistry* [online]. 2015, **7**(5), 609–629. ISSN 1756-8919. Dostupné z: doi:10.4155/fmc.15.12

- [146] 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 1554-8937. Dostupné z: doi:10.1021/acscchembio.3c00219
- [147] SAMEEM, Bilgees, Mina SAEEDI, Mohammad MAHDAVI a Abbas SHAFIEE. A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer’s disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2017, **128**, 332–345. ISSN 02235234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2016.10.060
- [148] LIN, Hongzhi, Qi LI, Kai GU, Jie ZHU, Xueyang JIANG, Yao CHEN a Haopeng SUN. Therapeutic Agents in Alzheimer’s Disease Through a Multi-targetdirected Ligands Strategy: Recent Progress Based on Tacrine Core. *Current Topics in Medicinal Chemistry* [online]. 2017, **17**(27), 3000–3016. ISSN 1873-4294. Dostupné z: doi:10.2174/1568026617666170717114944
- [149] ISMAILI, Lhassane, Bernard REFOUVELET, Mohamed BENCHEKROUN, Simone BROGI, Margherita BRINDISI, Sandra GEMMA, Giuseppe CAMPIANI, Slavica FILIPIC, Danica AGBABA, Gerard ESTEBAN, Mercedes UNZETA, Katarina NIKOLIC, Stefania BUTINI a José MARCO-CONTELLES. Multitarget compounds bearing tacrine- and donepezil-like structural and functional motifs for the potential treatment of Alzheimer’s disease. *Progress in Neurobiology* [online]. 2017, **151**, Neurobiology and Neuropharmacology of Monoaminergic systems, 4–34. ISSN 0301-0082. Dostupné z: doi:10.1016/j.pneurobio.2015.12.003
- [150] 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 0731-7085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2022.115154
- [151] RECANATINI, Maurizio, Andrea CAVALLI, Federica BELLUTI, Lorna PIAZZI, Angela RAMPÀ, 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, 1520-4804. Dostupné z: doi:10.1021/jm990971t
- [152] 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
- [153] MISIK, Jan, Eugenie NEPOVIMOVA, Jaroslav PEJCHAL, Jiri KASSA, Jan KORABECNY a Ondrej SOUKUP. Cholinesterase Inhibitor 6-Chlorotacrine - In Vivo Toxicological Profile and Behavioural Effects. *Current Alzheimer Research* [online]. 2018, **15**(6), 552–560. Dostupné z: doi:10.2174/1567205015666171212105412
- [154] KORABECNY, Jan, Kamil MUSILEK, Ondrej HOLAS, Jiri BINDER, Filip ZEMEK, Jan MAREK, Miroslav POHANKA, Veronika OPLETALOVA, Vlastimil DOHNAL a Kamil KUCA. Synthesis and in vitro evaluation of N-alkyl-7-methoxytacrine hydrochlorides as potential cholinesterase inhibitors in Alzheimer disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [online]. 2010, **20**(20), 6093–6095. ISSN 1464-3405. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmcl.2010.08.044
- [155] MEZEIOVA, Eva, Martina HRABINOVA, Vendula HEPNAROVA, Daniel JUN, Jana JANOCKOVA, Lubica MUCKOVA, Lukas PRCHAL, Zdena KRISTOFIKOVA, Tomas KUCERA, Lukas GORECKI, Katarina CHALUPOVA, Jiri KUNES, Jana HROUDOVA, Ondrej SOUKUP a Jan KORABECNY. Huprine Y – Tryptophan heterodimers with potential implication to Alzheimer's disease treatment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [online]. 2021, **43**, 128100. ISSN 0960-894X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmcl.2021.128100
- [156] SANTOS PISONI, Diego dos, Jessie SOBIESKI DA COSTA, Douglas GAMBA, Cesar Liberato PETZHOLD, Antonio CÉSAR DE AMORIM BORGES, Marco Antonio CESCHI, Paula LUNARDI a Carlos Alberto SARAIVA GONÇALVES. Synthesis and AChE inhibitory activity of new chiral tetrahydroacridine analogues from terpenic cyclanones. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2010, **45**(2), 526–535. ISSN 0223-5234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2009.10.039
- [157] 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
- [158] 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

- [159] 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
- [160] LIU, Ming-Yan, Sheng-Nan MENG, Hui-Zhe WU, Shuang WANG a Min-Jie WEI. Pharmacokinetics of single-dose and multiple-dose memantine in healthy chinese volunteers using an analytic method of liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical Therapeutics* [online]. 2008, **30**(4), 641–653. ISSN 0149-2918. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinthera.2008.04.005
- [161] 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. In: Irina S. MOREIRA, Miguel MACHUQUEIRO a Joana MOURÃO, ed. *Computational Design of Membrane Proteins* [online]. New York, NY: Springer US, 2021 [vid. 2024-04-21], Methods in Molecular Biology, s. 263–271. ISBN 978-1-07-161467-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-0716-1468-6_15
- [162] ELLMAN, George L., K.Diane COURTNEY, Valentino ANDRES a Robert M. FEATHERSTONE. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* [online]. 1961, **7**(2), 88–95. ISSN 00062952. Dostupné z: doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9
- [163] SEPSOVA, Vendula, Jana KARASOVA, Jan KORABECNY, Rafael DOLEZAL, Filip ZEMEK, Brian BENNION a Kamil KUCA. 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
- [164] POHANKA, Miroslav, Jana Zdarova KARASOVA, Kamil KUCA, 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
- [165] TRAYNELIS, Stephen F., Lonnie P. WOLLMUTH, Chris J. MCBAIN, Frank S. MENNITI, Katie M. VANCE, Kevin K. OGDEN, Kasper B. HANSEN, Hongjie YUAN, Scott J. MYERS a Ray DINGLEDINE. Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacological Reviews* [online]. 2010, **62**(3), 405–496. ISSN 0031-6997, 1521-0081. Dostupné z: doi:10.1124/pr.109.002451
- [166] 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

- [167] 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 00283908. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuropharm.2021.108528
- [168] 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
- [169] FINBERG, John P. M. Inhibitors of MAO-B and COMT: their effects on brain dopamine levels and uses in Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission* [online]. 2019, **126**(4), 433–448. ISSN 1435-1463. Dostupné z: doi:10.1007/s00702-018-1952-7
- [170] MEZEIOVA, Eva, Jana JANOCKOVA, Rudolf ANDRYS, Ondrej SOUKUP, Tereza KOBRLOVA, Lubica MUCKOVA, Jaroslav PEJCHAL, Miriama SIMUNKOVA, Jiri HANDL, Petra MICANKOVA, Jan CAPEK, Tomas ROUSAR, Martina HRABINOVA, Eugenie NEPOVIMOVA, Jose Luis MARCO-CONTELLES, Marian VALKO a Jan KORABECNY. 2-Propargylamino-naphthoquinone derivatives as multipotent agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2021, **211**, 113112. ISSN 02235234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2020.113112
- [171] 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 1573-904X. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-006-9905-5
- [172] 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
- [173] 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. Dostupné z: doi:10.1002/jps.21580

- [174] 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
- [175] KARABANOVICH, Galina, Jaroslav ROH, Ondřej SOUKUP, Ivona PÁVKOVÁ, Markéta PASDIOROVÁ, Vojtěch TAMBOR, Jiřina STOLAŘÍKOVÁ, Marcela VEJSOVÁ, Kateřina VÁVROVÁ, Věra KLIMEŠOVÁ a Alexandr HRABÁLEK. Tetrazole regioisomers in the development of nitro group-containing antitubercular agents. *MedChemComm* [online]. 2015, **6**(1), 174–181. ISSN 2040-2503, 2040-2511. Dostupné z: doi:10.1039/C4MD00301B
- [176] MALINAK, David, Rafael DOLEZAL, Jan MAREK, Sarka SALAJKOVA, Ondrej SOUKUP, Marcela VEJSOVA, Jan KORABECNY, Jan HONEGR, Marek PENHAKER, Kamil MUSILEK a Kamil KUCA. 6-Hydroxyquinolinium salts differing in the length of alkyl side-chain: synthesis and antimicrobial activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [online]. 2014, **24**(22), 5238–5241. ISSN 1464-3405. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmcl.2014.09.060
- [177] RIEGEROVÁ, Petra, Jindřich BREJCHA, Dagmar BEZDĚKOVÁ, Tomáš CHUM, Eva MAŠÍNOVÁ, Nikola ČERMÁKOVÁ, Saak V. OVSEPIAN, Marek CEBECAUER a Martin ŠTEFL. Expression and Localization of A β PP in SH-SY5Y Cells Depends on Differentiation State. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* [online]. 2021, **82**(2), 485–491. ISSN 1875-8908. Dostupné z: doi:10.3233/JAD-201409
- [178] MORPHY, Richard a Zoran RANKOVIC. Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2005, **48**(21), 6523–6543. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm058225d
- [179] MORPHY, Richard, Corinne KAY a Zoran RANKOVIC. From magic bullets to designed multiple ligands. *Drug Discovery Today* [online]. 2004, **9**(15), 641–651. ISSN 1359-6446. Dostupné z: doi:10.1016/S1359-6446(04)03163-0