

Sintesi di Composti d'Interesse Medico per il Trattamento del Morbo d'Alzheimer

Relatore: Annamaria DeAgostino

Candidato: Lorenzo Castellino

Anno Accademico 2018-2019

Indice

1	Introduzione al Morbo d'Alzheimer	1
1.1	L'Importanza della Ricerca	1
1.2	β -Amiloidi e Placche Amiloidiche	2
2	Strategie d'Intervento	6
3	Resveratrolo	7
3.1	La Molecola	7
3.2	Sintesi Mediante Accoppiamento Heck-Mizokori	8
3.2.1	Reazione di Accoppiamento	8
4	Curcumina	10
5	Leganti Bpiridinici	10
5.1	Le Molecole	10
5.2	Sintesi Mediante Reazione di Stille	12
5.2.1	Reazione di Formazione dello Stannano	13
5.2.2	Reazione di Stille per Formazione del Prodotto Finale .	13
5.3	Sintesi Mediante Accoppiamento di Negishi	15
5.3.1	Formazione del Precursore Organozincato	16
5.4	Effetti delle Molecole Sintetizzate sui $A\beta$	16

1 Introduzione al Morbo d'Alzheimer

La malattia di Alzheimer-Perusini, nota più comunemente come morbo d'Alzheimer (AD), è una tra le forme più diffuse al mondo di demenza senile. Dal punto di vista medico la patologia è definita come "disturbo neurocognitivo maggiore o lieve dovuto a malattia di Alzheimer".[1] I sintomi associati sono differenti da individuo ad individuo, in generale nei pazienti riconosciuti si sono osservate:

1. Perdita di memoria a breve termine.
2. Difficoltà a concentrarsi, organizzarsi e di pianificazione.
3. Difficoltà a seguire e/o formulare discorsi di senso compiuto.
4. Difficoltà a giudicare distanze e spazi.
5. Perdita di orientamento spaziale e temporale.
6. Cambi repentini dell'umore.
7. Allucinazioni visive.

La demenza è una patologia di tipo progressivo, ovvero si ha un peggioramento dei sintomi col passare del tempo. La velocità di tale processo varia da persona a persona, tendenzialmente l'aspettativa media di vita successiva alla diagnosi della condizione va dai 3 ai 10 anni. [21]

1.1 L'Importanza della Ricerca

L'incidenza dell'AD è in aumento tanto da individuare la ricerca di una cura come una delle sfide per il nuovo millennio: stando al World Alzheimer Report del 2018, stilato dall'Alzheimer's Disease International ovvero l'associazione

internazionale per la lotta all'Alzheimer in stretta collaborazione con la World Health Organization, si stima che nel mondo circa 50 milioni di persone siano affette da demenza. Ciò si traduce in una spesa annua per il trattamento dei malati che rasenta il miliardo di dollari.

Con l'aumento dell'aspettativa media di vita si prevede che nel 2050 il numero di casi sarà il triplo di quello odierno e si prospetta una spesa doppia rispetto a quella attuale.[3]

Stando a queste previsioni l'individuo su 85 nel 2050 sarà affetto da demenza.

L'individuazione delle cause che portano al presentarsi dell'AD è uno dei punti salienti della ricerca in campo medico e biochimico e molte sono state le ipotesi portate avanti a riguardo. Al momento una delle tesi più avvalorate e studiate è quella della formazione di aggregati proteici nel liquido cerebrospinale.

1.2 β -Amiloidi e Placche Amiloidiche

Con il termine β -amiloide ($A\beta$) si indica un frammento proteico insolubile non ramificato; tale nome è dovuto al fatto che al momento della scoperta, viste le sue proprietà si pensò in ad una similitudine con le molecole d'amido benchè dal punto di vista della composizione chimica non ci siano particolari somiglianze.[2]

L'origine di queste strutture è legata all'azione congiunta di tre enzimi (α -secretasi, β -secretasi e γ -secretasi) su di un substrato proteico noto come APP (Amyloid Precursor Protein). L'APP è una proteina trans-membrana di modeste dimensioni (circa 700 residui), viene trasportata lungo l'assone delle cellule neuronali ed il suo accumulo è focalizzato nei siti presinaptici. Il suo rilascio è regolato dall'attività elettrica cerebrale, si suppone infatti che

abbia un ruolo fondamentale nella regolazione dell'eccitabilità neuronale.[18]
 La porzione che interessa la formazione di $A\beta$ è situata nel dominio extracellulare dell'APP. Come si può osservare nella Figura 1 i tre enzimi sopracitati agiscono in punti ben definiti e tra loro differenti della proteina; in particolare si osserva come l'azione dell' α -secretasi non porti alla formazione del frammento βA mentre l'azione dell'enzima β in congiunzione all'enzima γ generi la particolare sequenza.[9]

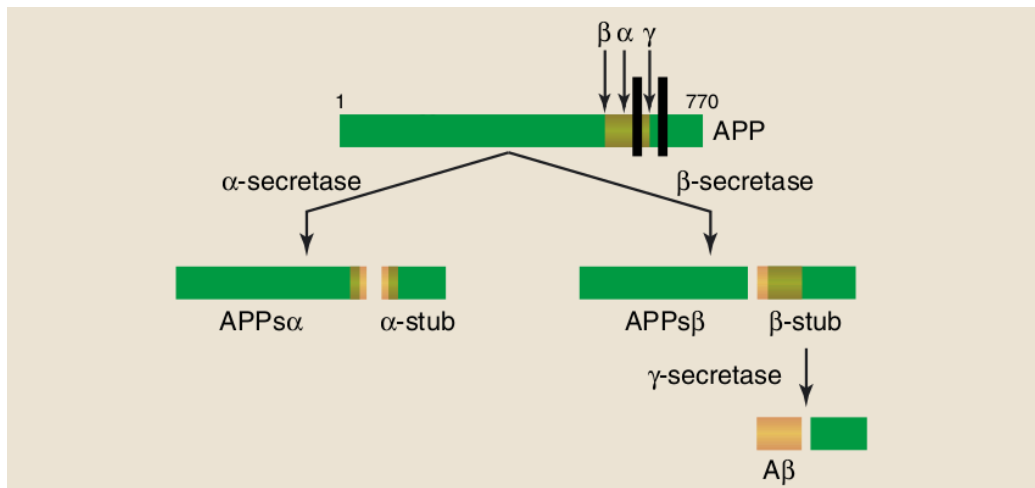


Figura 1: Azione degli enzimi $\alpha/\beta/\gamma$ -secretasi sul substrato APP.

I frammenti prodotti sono di due varietà che si differenziano per il numero di residui in essi contenuti, ecco quindi che possiamo distinguere i $A\beta$ -40 e i $A\beta$ -42 rispettivamente formati da 40 e 42 amminoacidi. Il rapporto tra le quantità prodotte delle due forme é di particolare importanza in quanto la βA -42 tende a formare oligomeri e fibrille più facilmente rispetto all' βA -40 molto probabilmente vista la minore solubilità data dai due residui idrofobici in più.[13, 10]

La produzione di β in piccole quantità é un processo normale; delle funzioni osservate citiamo: [4]

1. Funzione antibatterica, antifunginea e antivirale.
2. Soppressione tumorale.
3. Meccanismo di riparazione di falle nella barriera emato-encefalica (azione simile alle piastrine nel sangue).
4. Regolazione dell'attività sinaptica.

Malgrado i benefici per l'organismo una sovrapproduzione di $A\beta$ o una sproporzione verso la forma contenente 42 residui associata ad uno smaltimento non efficace sembra essere una causa sufficiente per lo sviluppo precoce del Morbo d'Alzheimer. [10] La demolizione avviene parzialmente direttamente nel cervello, come abbiamo infatti visto l' α -secretasi effettivamente rende innocui i frammenti amiloidici scindendoli in due porzioni inerti; ma una gran parte di essa è delegata ad enzimi demolitori presenti nel fegato. La diffusione del frammento proteico insolubile è regolata dal recettore proteico LRP1 il cui processo di endocitosi è contrastato dall'azione del recettore antagonista RAGE (Figura 2).[16, 8]

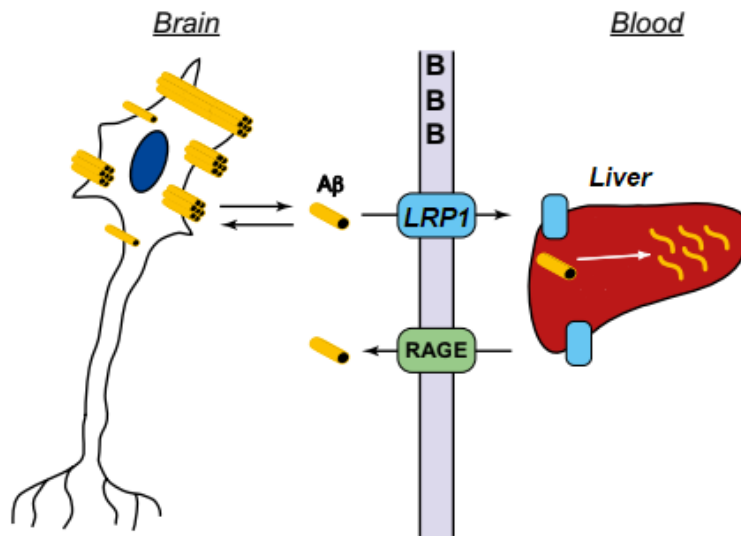


Figura 2: Fenomeno di migrazione dei $A\beta$ attraverso la barriera emato-encefalica (BBB) verso il fegato ed effetto inverso legato al recettore RAGE).

All'aumento della concentrazione di $A\beta$ nel liquido cerebrospinale è infatti associata la tendenza alla formazione di aggregati proteici più grandi ed insolubili detti comunemente "placche" o "fibrille". L'accumulo di queste altera la chimica delle sinapsi, rallentando la trasmissione tra neuroni fino al punto di impedirla, causando così infine la morte della cellula.

Altre evidenze sperimentali mostrano come l'organismo, a causa di invecchiamento o condizioni di stress, come ad esempio la mancanza di sonno, risulta meno efficiente nella demolizione, amplificando gli effetti di accumulo nel liquido cerebrospinale.

Gli scarsi risultati ottenuti seguendo la via della neurotossicità diretta dei $A\beta$ ha portato alla teorizzazione e in seguito all'osservazione di concentrazioni anormali di ioni metallici in pazienti affetti dall'AD. I metalli presi in esame sono Ferro, Rame e Zinco le cui concentrazioni, superato il valore di circa 10^{-7}

M diventano rilevanti per quanto riguarda la possibilità di essere complessati dai $A\beta$ causando una tossicità diretta o fungendo come centri iniziatori di polimerizzazione per le fibrille amiloidiche.[13]

2 Strategie d'Intervento

Visto il complesso sistema che regola la comparsa dei $A\beta$ vien da sè che anche i metodi per cercare di limitarne la presenza o gli effetti sull'organismo saranno altrettanto variegati.

Le metodologie d'intervento studiate nel panorama della ricerca biomedica sono le più disparate. Limitandoci solo a tecniche la cui azione è incentrata direttamente sui $A\beta$ o sui loro effetti sull'organismo possiamo citare:[14]

1. Mitigazione del trasporto dei $A\beta$ agendo sull'attività dei recettori LRP1 e RAGE.
2. Modulazione degli enzimi responsabili della formazione di $A\beta$, in particolare modulando la demolizione tramite l' α -secretasi o inibendo la produzione per mezzo della β -secretasi.
3. Limitazione dell'aggregazione dei $A\beta$ in oligomeri e placche.
4. Vaccinazione con oligomeri di $A\beta$, l'intento è quello di stimolare una risposta immunitaria all'accumularsi degli aggregati amiloidici.
5. Modulazione della neurotrasmissione in modo da limitare l'effetto d'inibizione delle sinapsi.
6. Mitigazione degli effetti da stress ossidativo.

Nella seguente trattazione ci limiteremo a presentarne alcuni con esempi di composti potenzialmente interessanti dal punto di vista farmacologico

soffermandoci infine in maniera più estesa su di un possibile processo di sintesi per ognuno di essi. La discussione verterà in particolare attorno a due composti la cui azione potrebbe limitare e rallentare la neurodegenerazione nelle Sezioni 3 e 4, per poi affrontare invece una possibile tecnica mirata a prevenire il presentarsi dell'AD nella Sezione 5

3 Resveratrolo

Il Resveratrolo (3,4,5'-triidrossil-trans-stilbene) è un polifenolo presente in molte piante, in particolare nella buccia e nei semi dell'uva. La sua funzione primaria nei vegetali è quella di fitoalessina, ovvero una risposta naturale nei confronti di infezioni batteriche e funginee. Alcuni studi hanno evidenziato anche diverse altre funzioni biologiche importanti come antiossidante, antinfiammatorio, fitoestrogeno e cardioprotettore.

Anche nel campo delle malattie neurodegenerative il Resveratrolo presenta alcune potenzialità; sono stati osservati effetti di riduzione dell'aggregazione dei $A\beta$ e una modulazione della neurotrasmissione mediata da Acetilcolina.

Dal punto di vista medico tale molecola è quindi un potenziale candidato per lo sviluppo di farmaci in grado di mitigare l'effetto della demenza. [11]

3.1 La Molecola

La molecola, la cui struttura è presentata in Figura 3, è presente in natura in quantità apprezzabili in una grande varietà di piante come ad esempio le già citate bucce degli acini d'uva, ma anche in frutti con guscio, arachidi e alcune bacche. L'estrazione dai vegetali che contengono il composto, per quanto di facile realizzazione, non è sufficiente a coprire la domanda che le

applicazioni in campo medico e di ricerca richiedono. Risulta quindi chiaro che lo sviluppo di un metodo di sintesi efficace e con bassi costi di realizzazione sia fondamentale per rendere economicamente valida la possibilità di impiego come medicinale della molecola.

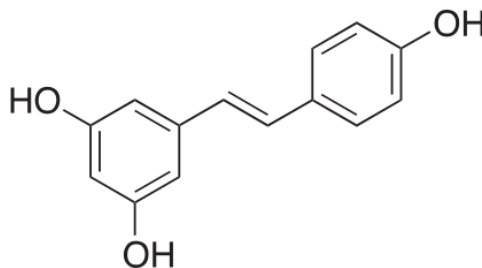


Figura 3: Struttura molecolare del Resveratrolo.

Oltre alla sintesi del Resveratrolo verranno presentate anche modifiche strutturali la cui presenza sembra avere un impatto positivo sull'azione del composto in casi di AD.

3.2 Sintesi Mediante Accoppiamento Heck-Mizokori

Uno dei metodi più semplici ed efficaci per sintetizzare la molecola di Resveratrolo può essere realizzato mediante un accoppiamento Heck-Mizokori. La sintesi a partire da reagenti commerciali è scomponibile in due passaggi sintetici.

3.2.1 Reazione di Accoppiamento

I reagenti di partenza utilizzati per l'accoppiamento sono lo 1-iodio-3,5-dimetossibenzene ed il 4-metossistirene. Il catalizzatore impiegato è un catalizzatore di palladio nanoparticellare disperso su di un supporto di argilla laponite.

La preparazione di tale dispersione viene effettuata riducendo il H_2PdCl_4 con etanolo in presenza di polivinilpirrolidone (PVP), il ruolo del polimero è quello di permettere una migliore dispersione degli atomi di Palladio al fine di ottenere una migliore dispersione delle dimensioni delle nanoparticelle desiderate.

Le nanoparticelle di Palladio stabilizzate sul PVP sono quindi impregante sulla laponite lavorando in condizioni di atmosfera inerte ed utilizzando come solvente diclorometano. Il solvente viene allontanato mediante depressione; il risultato è una polvere grigia fine.[17]

Il catalizzatore così ottenuto può essere maneggiato ed utilizzato senza particolari precauzioni in reazioni atte a promuovere formazioni di legami carbonio-carbonio.

La reazione è riassunta nella Figura 4.

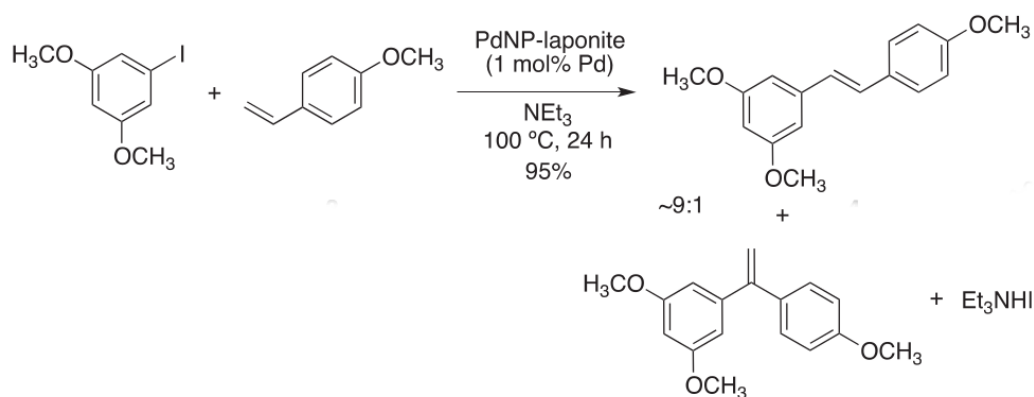


Figura 4: Reazione di accoppiamento tra lo 1-iodio-3,5-dimetossibenzene ed il 4-metossistirene.

Il ciclo catalitico è composto da quattro passaggi:

1. Il catalizzatore PdL_2 subisce addizione ossidativa da parte dello 1-iodio-3,5-dimetossibenzene passando da stato $\text{Pd}(0)$ a $\text{Pd}(\text{II})$, ovvero da un

complesso metallico a 14 elettroni ad uno a 16 elettroni.

2. Il 4-metossistirene da carbometallazione legandosi al complesso metallico, si osserva l'inserimento del dimetossibenzene.
3. Eliminando l'idrogeno β i due isomeri ottenibili originati dal nuovo legame carbonio-carbonio vengono allontanati dal catalizzatore.
4. La base forte in soluzione, in questo caso la NEt_3 , ripristina il catalizzatore con $\text{Pd}(0)$ restituendo come prodotto il composto Et_3NHI .

4 Curcumina

5 Leganti Bpiridinici

Andiamo ora a considerare una classe di composti la cui azione non è legata alla regolazione dell'attività ormonale ma ad una mitigazione del fenomeno d'aggregazione in placche dei $\text{A}\beta$. Come presentato nella Sezione 1.2 uno dei meccanismi di aggregazione considerati alla base della formazione degli agglomerati proteici neurotossici prevede che il formarsi di un complesso tra metalli in concentrazioni sopra la norma nel liquido cerebrospinale e i $\text{A}\beta$ stessi.

L'idea alla base di un trattamento agente su questo meccanismo prevede una diminuzione dei metalli biodisponibili attraverso una chelazione degli stessi per mezzo di leganti organici.

5.1 Le Molecole

Per progettare una molecola in grado di svolgere il compito appena descritto occorrerà che questa soddisfi alcuni criteri:

1. Capacità di complessare il metallo d'interesse.
2. Costanti d'equilibrio elevate per quanto riguarda la forma complessata.
3. Buona solubilità in ambiente acquoso, in modo da permettere la diffusione del composto all'interno del corpo.
4. Buona permeabilità della barriera emato-encefalica; un composto che non soddisfi questo criterio avrà difficoltà ad essere trasferito nel liquido cerebrospinale.

Una classe di composti le cui proprietà soddisfano i criteri appena presentati è quella dei derivati bipyridinici (Figura 5). Questi presentano una chelazione rapida, ovvero con k_f nei confronti dei metalli d'interesse (Cu(II) e Zn(II)) di circa 7.0, grazie alla chelazione dell'atomo metallico da parte degli atomi d'azoto nei due eterocicli. Inoltre la solubilità in medium acquosi è relativamente buona, stiamo parlando di circa 5,9 mg/mL; infine le dimensioni ridotte permettono una buona diffusione nel sistema nervoso permeando attraverso la barriera emato-encefalica con discreta facilità (i valori di permeabilità possono essere stimati attraverso le regole empiriche di Lipinski o attraverso test in vitro[7]).

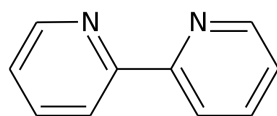


Figura 5: Un generico composto appartenente alla classe delle Bipyridine.

Lo scheletro bipyridinico ben si presta ad un approccio razionale nella sintesi di composti interessanti dal punto di vista biomedico. L'introduzione di gruppi dimetilamminici favorisce un'interazione con i $A\beta$ e per la sua

influenza sul legame metallico come suggerito da alcune evidenze sperimentali. Similmente l'uso di un sostituito metilico permette un migliore effetto elettrodonatore da parte degli eteroatomi nei cicli e un controllo sterico sui possibili orientamenti con cui la molecola bipyridinica può interagire con il metallo. [6, 20]

Ai fini di dimostrare l'effetto di queste modificazioni a partire dalla struttura di base sull'azione di inibizione alla formazione e disfacimento di placche amiloidiche useremo quattro prodotti di sintesi, presentati nella loro struttura in Figura 6; nella sezione successiva andremo quindi a presentare un possibile processo sintetico per essi.

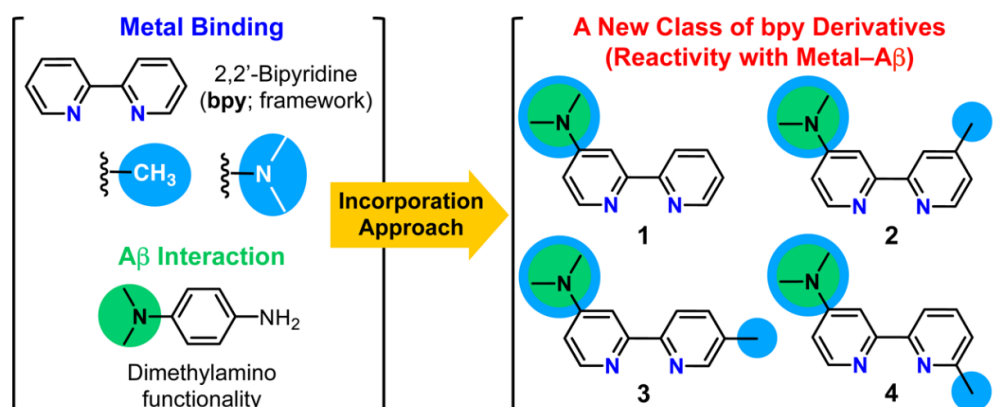


Figura 6: Funzionalità introdotte sullo scheletro bipyridinico ai fini di ottenere i composti d'interesse 1-4

5.2 Sintesi Mediante Reazione di Stille

Il processo di sintesi utilizzato è riassunto in maniera sintetica nella Figura 7; a partire da una 4-amminopiridina si ottiene un composto organometallico allo stagno; successivamente per mezzo di una reazione di Stille si aggiunge il primo anello al secondo ottenendo il prodotto desiderato.

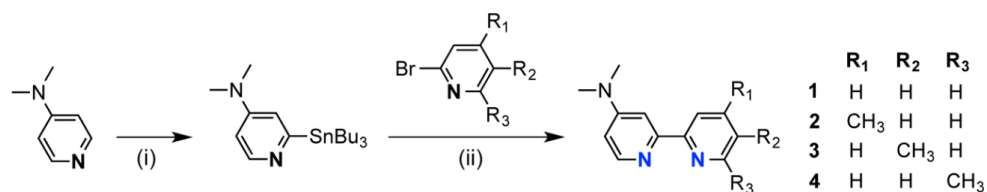


Figura 7: Reazione generale per l'ottenimento dei composti d'interesse 1-4. (i) n-BuLi, 2-Dimetilaminoetanolo, Esano, 0 °C; Bu₃SnCl, -78 °C; (ii) PdCl₂(PPh₃)₂, LiCl, PPh₃, Toluene, 110 °C

5.2.1 Reazione di Formazione dello Stannano

Il reagente di partenza, ovvero la 4-dimetilamminopiridina, viene trattata con n-BuLi al fine di deprotonare il protone in posizione orto rispetto all'atomo di azoto presente nell'anello, il processo è noto con il nome di orto-litiazione. Lo stannano è ottenuto per transmetalazione dell'organolitio; il Bu₃SnCl reagisce con il substrato sostituendosi all'atomo di Li il quale si lega al Cl.

È importante notare come la soluzione venga mantenuta a basse temperature (-78 °C) affinché la reazione di deprotonazione abbia luogo nel sito desiderato e che il composto organolitio ottenuto sia sufficientemente stabile in modo tale da permettere la sostituzione con lo Stagno.

5.2.2 Reazione di Stille per Formazione del Prodotto Finale

Il secondo step per l'ottenimento dei composti bipiridinici d'interesse prevede una reazione di Stille, ovvero una reazione di cross-coupling palladio-catalizzata, nel caso particolare preso in esame, tra lo stannano ottenuto come prodotto dello step di reazione precedente e un alogenuro alchilico piridinico.[5]

Il processo catalitico generale è riportato in maniera schematica in Figura 8.

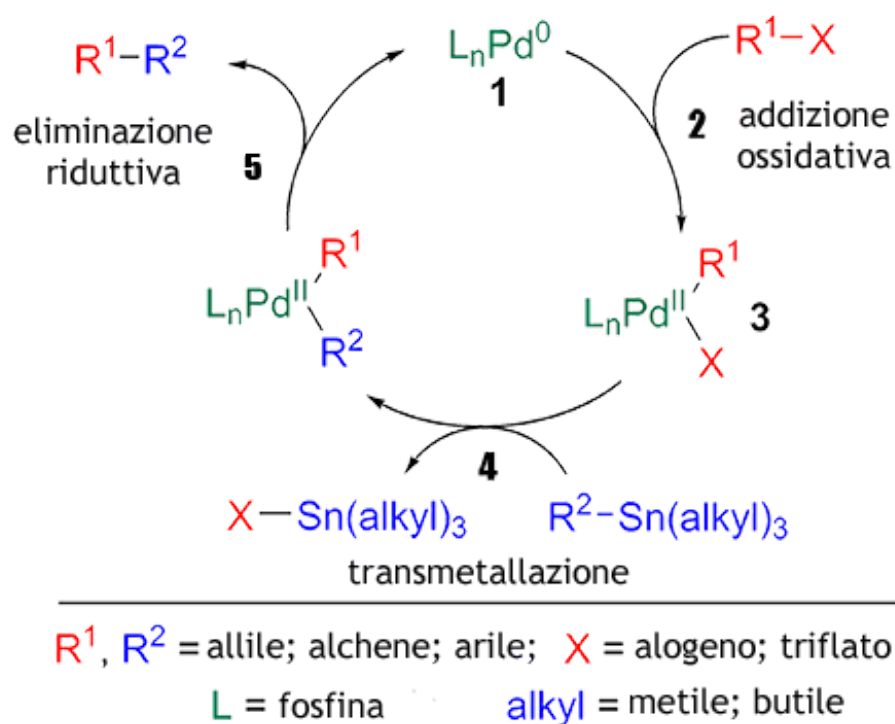


Figura 8: Rappresentazione schematica del ciclo catalitico coinvolto in una reazione di Stille. Nel caso in esame $\text{R}^1 = 2\text{-bromopiridina}$, $2\text{-bromo-4-metilpiridina}$, $2\text{-bromo-5-metilpiridina}$, $2\text{-bromo-6-metilpiridina}$, $\text{R}^2 = \text{N,N-dimetil-2-(tributilstannil)-piridin-4-ammina}$.

In Toluene sono introdotti lo stannano, prodotto di reazione del passaggio sintetico precedente, il catalizzatore al palladio $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, Trifenilfosfina e Cloruro di Litio. A seconda del composto biperidinico desiderato come prodotto finale viene infine introdotta l'appropriata piridina bromurata.

Il ciclo catalitico può essere riassunto in cinque step:

1. Il catalizzatore $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ viene ridotto a $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2$, un complesso a 14 elettroni in cui il Pd ha stato d'ossidazione 0.
2. Il complesso subisce addizione ossidativa da parte dell'alogenuro: si

tratta di un processo concertato che forma un complesso a 16 elettroni con i due nuovi leganti in posizione cis.

3. Si osserva un equilibrio d'isomerizzazione tra la forma cis e trans del complesso organometallico. La forma trans è favorita dal punto di vista termodinamico visto l'ingombro sterico originato dai leganti PPh_3 .
4. Si ha transmetallazione tra lo stannano in soluzione ed il complesso; il risultato è il trasferimento del composto arilico sul complesso con allontanamento dell'alogenuro.
5. Un processo di eliminazione riduttiva libera il composto bipyridinico ripristinando il catalizzatore; da qui il ciclo ricomincia.

La reazione viene condotta sotto atmosfera inerte d'Azoto per evitare che il catalizzatore possa essere alterato dalle componenti dell'aria.

5.3 Sintesi Mediante Accoppiamento di Negishi

Un metodo alternativo per la sintesi dei bipyridinici d'interesse sfrutta la reazione di accoppiamento di Negishi. Si tratta di una reazione di accoppiamento tra un composto organozincato e un alogenuro, nel nostro caso una piridina alogenata. [5]

A differenza della Reazione di Stille proposta nella Sezione 5.2 in cui l'accoppiamento viene promosso da un composto organostannato l'uso di Zinco, la cui tossicità è nota per essere inferiore rispetto a quella dello Stagno. Il maggiore inconveniente della reazione di accoppiamento di Negishi è la sensibilità all'esposizione all'aria e all'acqua oltre ad una minore tolleranza circa il tipo di gruppi funzionali con cui è possibile lavorare.[19]

5.3.1 Formazione del Precursore Organozincato

Come per la formazione dello stannano il processo

5.4 Effetti delle Molecole Sintetizzate sui $A\beta$

L'efficacia dei composti ottenuti rispetto all'aggregazione dei $A\beta$ è stata quantificata attraverso esperimenti in vitro. I risultati sono riportati nella Figura 9 per quanto riguarda l'azione in presenza di $A\beta$ -40 e nella Figura 10 per il caso di $A\beta$ -42.

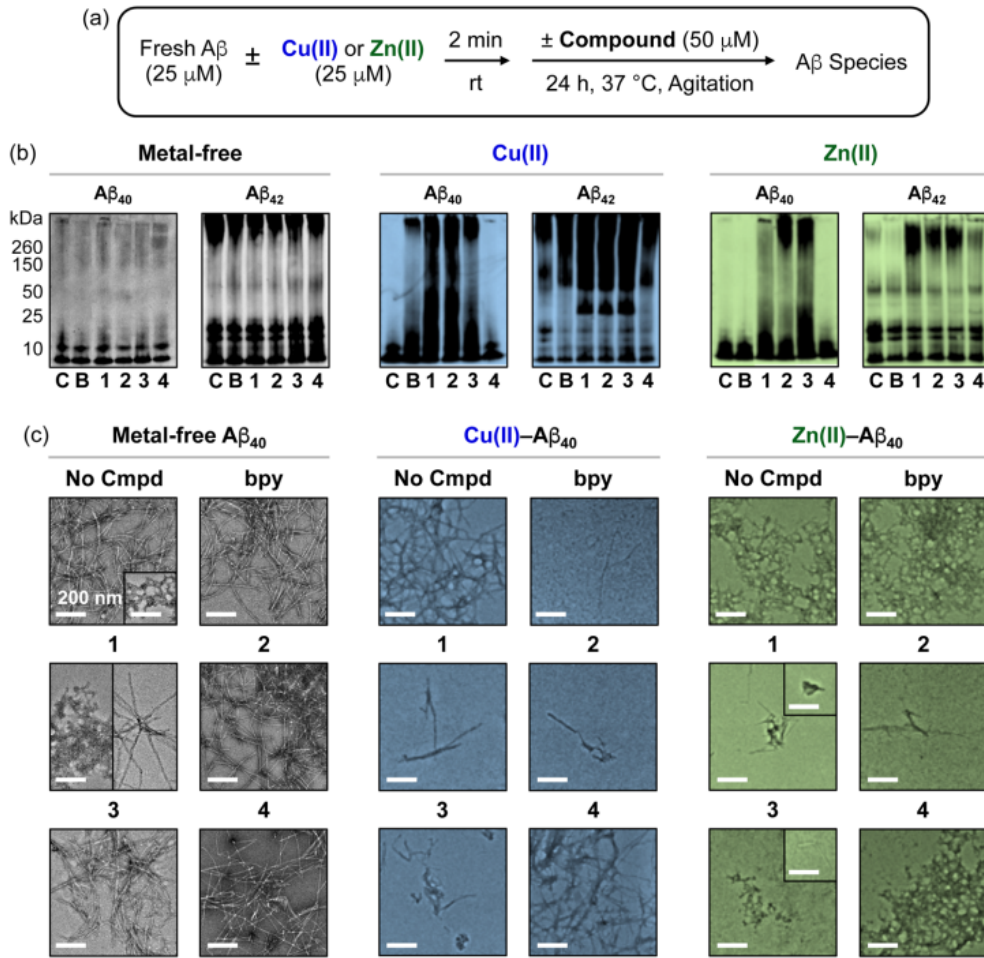


Figura 9: (a) schematica rappresentazione della metodologia di sperimentazione; (b) corse elettroforetiche per la visualizzazione della dimensionalità delle specie A β 40 e A β 42 per mezzo di tecnica immunofissativa [15]; (c) immagini ottenute al microscopio elettronico a trasmissione (TEM) dai campioni incubati per 24 ore. C=A β +M, B=C+bpy, 1=C+1, 2=C+2, 3=C+3, 4=C+4

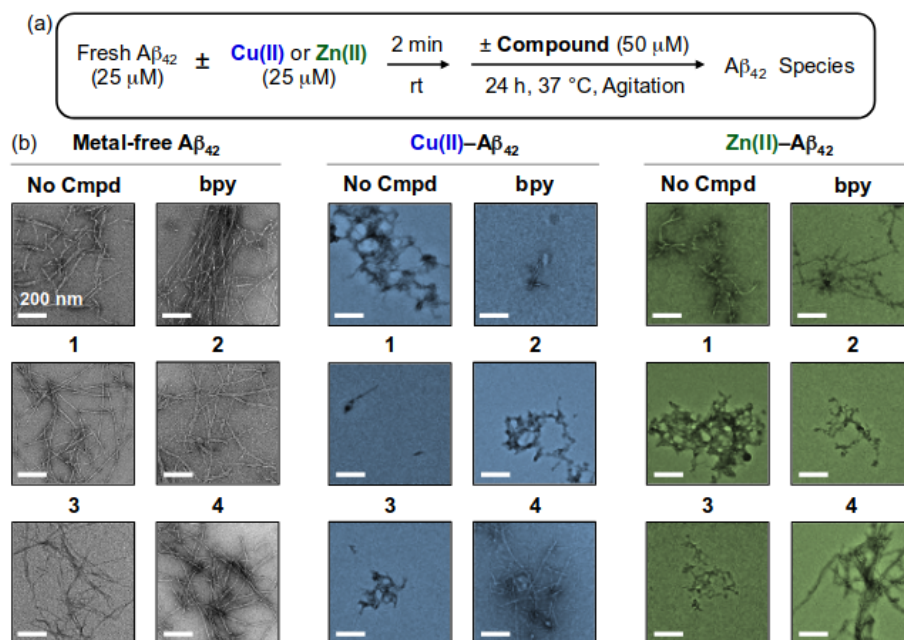


Figura 10: (a) schematica rappresentazione della metodologia di sperimentazione; (b) immagini ottenute al microscopio elettronico a trasmissione (TEM) dai campioni incubati per 24 ore. $C=A\beta+M$, $B=C+bpy$, $1=C+1$, $2=C+2$, $3=C+3$, $4=C+4$

Nalle corse elettroforetiche mostrate in Figura 9, sezione (b), si osserva come la dimensione degli aggregati proteici tenda a diminuire in presenza dei composti sintetizzati agenti su soluzioni contenenti ioni metallici, mentre in assenza di centro di nucleazione metallico non vi siano apprezzabili effetti di mitigazione dell'accrescimento della placca. Questo è un dato atteso, i composti progettati hanno infatti lo specifico compito di chelare metalli per diminuire il fenomeno d'aggregazione, logico quindi osservare come in assenza di ioni non vi siano benefici evidenti.

Soffermandoci sulle immagine ottenute al TEM possiamo vedere come l'azione del semplice scheletro bipyridinico (bpy) modifichi l'aggregazione in

presenza di Cu(II) ma non abbia evidenti effetti se confrontata con il campione C in presenza di Zn(II). I composti sintetizzati senza gruppo metilico (1) e quelli con il gruppo metilico in posizioni Meta o Para (2 e 3) hanno invece inibito la formazione di conglomerati di A β 40 e A β 42 sia in presenza di Cu(II) sia di Zn(II).

Il composto 4, ovvero quello con il gruppo metilico in posizione Orto non ha alterato l'aggregazione dei filamenti proteici in nessuna delle situazioni ricreate in vitro. Si tratta di un risultato atteso in quanto l'ingombro sterico del gruppo CH₃ impedisce la chelazione del metallo libero che può quindi risulta disponibile come centro di nucleazione.

Benché le molecole sintetizzate risultino efficaci nella chelazione dei metalli liberi responsabili dell'accrescimento dei grumi di A β e che la loro capacità di permeare la barriera necessaria per entrare in circolazione nel liquido cerebrospinale sia confermata da evidenze scientifiche (come già evidenziato nella Sezione 5.1), un test della tossicità su cellule di tipo Y5 ha evidenziato livelli notevoli di citotossicità in situazioni di concentrazioni millimolari di Rame(II), stimolando quindi Apoptosi neuronale e vanificando quindi la possibilità di un'azione diretta come farmaco dei composti in questione.

È comunque importante considerare i risultati ottenuti, si è infatti osservato come la diminuzione degli ioni metalli biodisponibili sia un metodo efficace (almeno in vitro) per limitare l'aggregazione in fibrille dei A β e che quindi la ricerca di composti la cui tossicità per l'organismo sia inferiore pur mantenendo simili proprietà possa essere una via promettente per il futuro.

[12]

Riferimenti bibliografici

- [1] Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.
- [2] Encyclopedia of biological chemistry.
- [3] World alzheimer report 2018 | alzheimer's disease international.
- [4] BROTHERS, H. M., GOSZTYLA, M. L., AND ROBINSON, S. R. The physiological roles of amyloid-beta peptide hint at new ways to treat alzheimer's disease. 118. WOS:000430859600001.
- [5] CLAYDEN, J., GREEVES, N., AND WARREN, S. G. *Organic chemistry*, 2nd ed ed. Oxford University Press.
- [6] DERRICK, J. S., KERR, R. A., KORSHAVN, K. J., MCLANE, M. J., KANG, J., NAM, E., RAMAMOORTHY, A., RUOTOLO, B. T., AND LIM, M. H. Importance of the dimethylamino functionality on a multi-functional framework for regulating metals, amyloid-beta, and oxidative stress in alzheimer's disease. 5000–5013. WOS:000376144000035.
- [7] DI, L., KERNS, E. H., FAN, K., MCCONNELL, O. J., AND CARTER, G. T. High throughput artificial membrane permeability assay for blood-brain barrier. 223–232. WOS:000182417600001.
- [8] DRIES, D. R., YU, G., AND HERZ, J. Extracting beta-amyloid from alzheimer's disease. 3199–3200. WOS:000300828200011.
- [9] GOEDERT, M., AND SPILLANTINI, M. G. A century of alzheimer's disease. 777–781. WOS:000241729800034.

- [10] IRVINE, G. B., EL-AGNAF, O. M., SHANKAR, G. M., AND WALSH, D. M. Protein aggregation in the brain: The molecular basis for alzheimer's and parkinson's diseases. 451–464. WOS:000257727000012.
- [11] JABIR, N. R., KHAN, F. R., AND TABREZ, S. Cholinesterase targeting by polyphenols: A therapeutic approach for the treatment of alzheimer's disease. 753–762.
- [12] JI, Y., LEE, H. J., KIM, M., NAM, G., LEE, S. J. C., CHO, J., PARK, C.-M., AND LIM, M. H. Strategic design of 2,2-bipyridine derivatives to modulate metal-amyloid- aggregation. 6695–6705.
- [13] KEPP, K. P. Bioinorganic chemistry of alzheimer's disease. 5193–5239.
- [14] KUMAR, A., SINGH, A., AND EKAVALI. A review on alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. 195–203. WOS:000350611900004.
- [15] KURIEN, B. T., AND SCOFIELD, R. H. Western blotting. 283–293. WOS:000236599100006.
- [16] LILLIS, A. P., MIKHAILENKO, I., AND STRICKLAND, D. K. Beyond endocytosis: LRP function in cell migration, proliferation and vascular permeability. 1884–1893. WOS:000230776000039.
- [17] MARTÍNEZ, A. V., LEAL-DUASO, A., GARCÍA, J. I., AND MAYORAL, J. A. An extremely highly recoverable clay-supported pd nanoparticle catalyst for solvent-free heck-mizoroki reactions. 59983–59990.
- [18] MATTSON, M. P. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. 1081–1132.

- [19] NICOLAOU, K. C., BULGER, P. G., AND SARLAH, D. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions in total synthesis. 4442–4489.
- [20] SVELIEFF, M. G., DETOMA, A. S., DERRICK, J. S., AND LIM, M. H. The ongoing search for small molecules to study metal-associated amyloid-beta species in alzheimer’s disease. 2475–2482. WOS:000340702000025.
- [21] TODD, S., BARR, S., ROBERTS, M., AND PASSMORE, A. P. Survival in dementia and predictors of mortality: a review. 1109–1124. WOS:000325368600002.