

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

Relatrice: Annamaria Deagostino

Candidato: Lorenzo Castellino

Anno Accademico 2017-2018

Il Morbo d'Alzheimer è la prima causa di demenza a livello mondiale.

Malattia neurodegenerativa la cui incidenza aumenta con l'avanzare dell'età.

Stando al World Alzheimer Report del 2018:

Oggi: 50 milioni di pazienti.

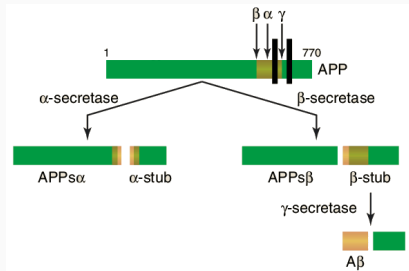
2050: 152 milioni di pazienti.

Risulta chiaro che la ricerca di una cura sia una delle sfide del millennio.

I β -Amiloidi e il loro Ruolo

Un β -amiloide ($A\beta$) è un particolare frammento proteico insolubile non ramificato.

Viene originato dall'azione congiunta di tre enzimi su di una proteina denominata Amyloid Precursor Protein (APP).



Si può presentare in due forme composte da 40 o 42 residui.

Il frammento $A\beta$ -42 se presente in grande quantità o in presenza di ioni metallici in concentrazioni anomale può dare origini a fenomeni d'aggregazione con conseguente sviluppo della patologia.

Come Intervenire?

Le metodologie d'intervento studiate nel panorama della ricerca biomedica sono molteplici.

Nel mio lavoro mi sono soffermato su:

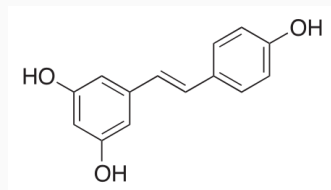
- Modulazione della neurotrasmissione.
- Mitigazione degli effetti di stress ossidativo.
- Limitazione dell'aggregazione dei $A\beta$.

Composti presi in considerazione:

- Resveratrolo
- Curcumina
- Biperidina

Resveratrolo: La Molecola

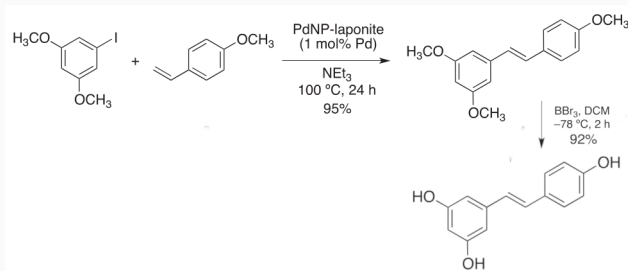
Polifenolo presente in molte piante, principalmente nella vite.



Potenziale candidato per il trattamento di malattie neurodegenerative viste le sue proprietà:

- Inibitore dell'enzima Acetilcolinesterasi (AChE).
- Riduzione delle specie ossidanti (ROI).
- Mitigazione della formazione di aggregati proteici.

Resveratrolo: Sintesi I



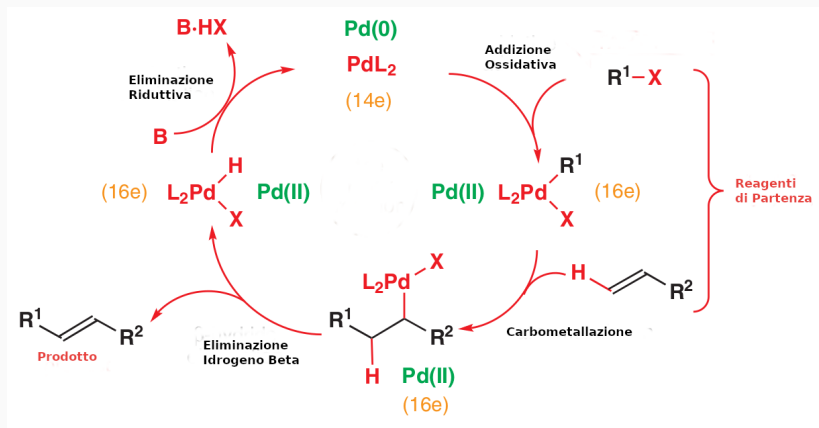
Sintesi mediante accoppiamento Heck-Mizoroki a partire dal 1-iodo-3,5-dimetossibenzene ed il 4-metossistirene.

Impiego di un catalizzatore al Palladio nanoparticellare disperso su di una argilla di Laponite.

Demetilazione per mezzo di BBr₃ per deproteggere i gruppi idrossilici.

Resveratrolo: Sintesi II

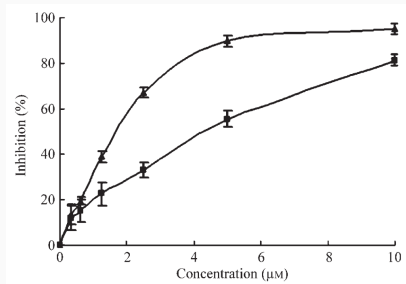
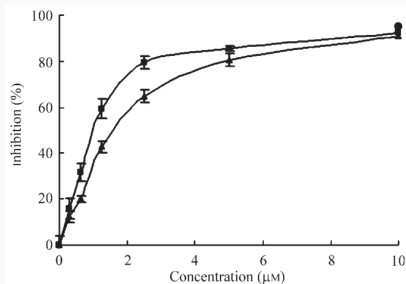
La reazione d'accoppiamento di Heck-Mizoroki è una reazione catalizzata da Palladio in grado di formare nuovi legami C-C a partire da un olefina e un alogenuro.



Resveratrolo: Effetti della Molecola I

L'azione farmacologica è stata valutata per quanto riguarda due tetrameri del Resveratrolo: Vitisina A e Heyanol A.

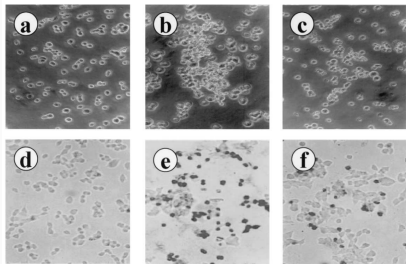
Tramite un biotest HPLC sono stati valutati l'efficacia dell'inibizione dell'enzima AChE e la selettività per lo stesso.



Percentuale d'inibizione dell'attività degli enzimi Acetilcolinesterasi e Butirilcolinesterasi (BuChE) per i composti Vitisina A (■) e Heyneanol A (▲)

Resveratrolo: Effetti della Molecola II

Diminuzione della mortalità cellulare e delle specie ROI in presenza di $A\beta$ in colture di cellule PC12 (feocromocitoma di ratto) opportunamente trattate.



Cellule tal quale, in presenza di $A\beta$ e con l'aggiunta del Resveratrolo.

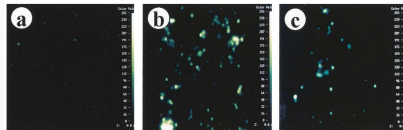
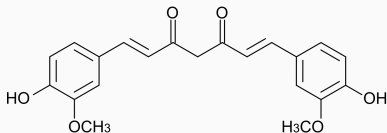


Immagine UV di cellule tal quale, in presenza di $A\beta$ e con l'aggiunta del Resveratrolo.

Curcumina: La Molecola I

Principale componente
polifenolica della Curcuma.

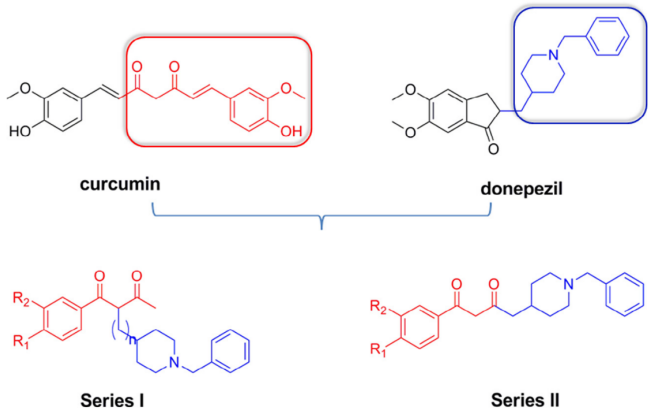


Usata già nell'antica medicina cinese. L'azione medica è del tutto simile a quella già descritta per il Resveratrolo.

Il principale pregio della Curcumina è la sua innata capacità di permeare la barriera emato-encefalica.

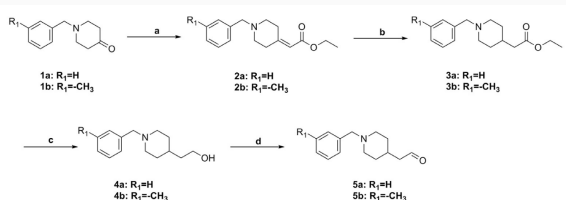
Si può sfruttare questa proprietà accoppiando la molecola con medicinali noti per la loro azione nei confronti dell'Alzheimer come ad esempio il Donepezil.

Curcumina: La Molecola II



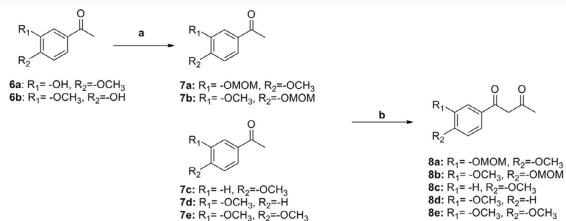
Curcumina: Sintesi I

A partire da reagenti commerciali sono sintetizzati i farmacofori corrispondenti per il Donepezil:



(a) $(EtO)_2POCH_2CO_2Et$, K_2CO_3 , THF; (b) Pd/C, H_2 , MeOH; (c) $LiAlH_4$, THF; (d) $(COCl)_2$, DMSO, $N(CH_2CH_3)_3$.

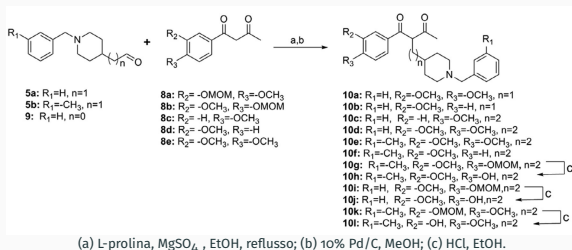
E per la Curcumina:



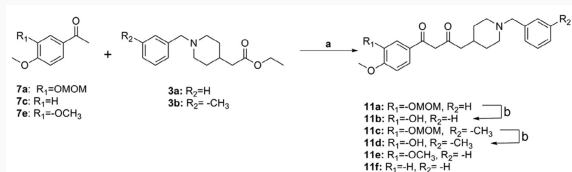
(a) MOMCl, DIPEA, DCM; (b) $NaNH_2$, EtOAc, 60 °C.

Curcumina: Sintesi II

I due farmacofori ottenuti vengono accoppiati per formare i composti desiderati della prima serie per mezzo di una condensazione aldolica:



E per la seconda serie grazie ad una condensazione di Claisen:



(a) $NaNH_2$, THF, $60^\circ C$; (b) HCl, EtOH.

Curcumina: Effetti delle Molecole I

Compound	IC ₅₀ ± SD ^a (μM) ^a		BuChE/AChE Selectivity ^d
	AChE ^b	BuChE ^c	
10a	2.547 ± 0.115	20.8 ± 1.82	7.90
10b	1.776 ± 0.132	14.4 ± 1.21	8.10
10c	0.517 ± 0.031	1.64 ± 0.07	3.2
10d	0.373 ± 0.002	2.82 ± 0.300	7.6
10e	0.263 ± 0.021	2.00 ± 0.200	7.6
10f	0.555 ± 0.018	1.85 ± 0.120	3.3
10g	0.340 ± 0.013	3.09 ± 0.080	9.1
10h	0.961 ± 0.065	3.36 ± 0.090	3.5
10j	2.046 ± 0.174	15.6 ± 1.00	7.6
10l	0.621 ± 0.010	16.6 ± 1.50	26.7
11b	0.187 ± 0.015	12.4 ± 1.03	66.3
11d	0.228 ± 0.027	9.78 ± 0.710	42.9
11e	0.149 ± 0.013	2.33 ± 0.180	15.6
Tacrine	0.109 ± 0.018	0.016 ± 0.001	0.15
Donepezil	0.037 ± 0.005	3.06 ± 0.503	85.4
Galantamine	0.623 ± 0.099	15.7 ± 0.787	25.3

Valutazione dell'azione nei confronti dell'AChE e selettività rispetto ad esso.

Compd.	11b	11d	11e	Curcumin
ORAC ^a	3.07 ± 0.04	2.49 ± 0.22	1.10 ± 0.09	2.52 ± 0.16

Proprietà antiossidante; valori espressi come equivalenti di Trolox.

Compd.	11b	11d	11e	Curcumin
Aβ-self aggregation inhibition% ^a	45.3 ± 3.58	30.4 ± 5.12	22.0 ± 1.20	54.9 ± 2.68

Mitigazione dell'aggregazione amiloidea.

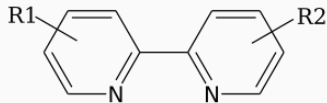
La permeazione della membrana emato-encefalica è risultata pressoché invariata rispetto alla Curcumina.

Jun Yan; Jinhui Hu; Anqiu Liu; Lin He; Xingshu Li; Hui Wei Bioorgan. Med. Chem. 2017, 25, 2946–2955.

Bipiridine: La Molecola I

Classe di composti particolarmente interessanti per il trattamento dell'Alzheimer per quanto riguarda la chelazione di metalli:

- Buona azione chelante.
- Costanti d'equilibrio alte per la forma complessata
- Buona solubilità in ambiente acquoso.
- Buona permeazione della barriera emato-encefalica.

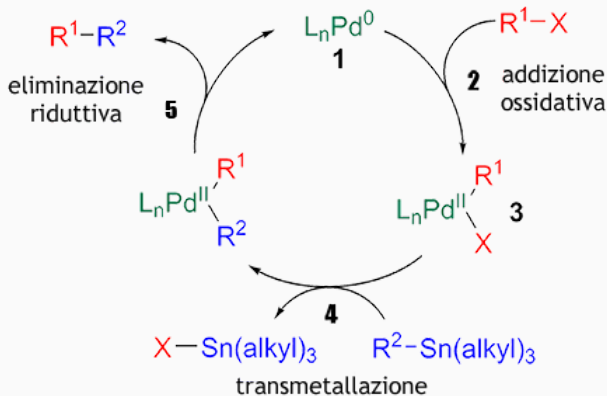


Introducendo funzionalità sullo scheletro molecolare l'intenzione è quella di ottenere molecole in grado di mitigare l'aggregazione in placche dei $A\beta$:

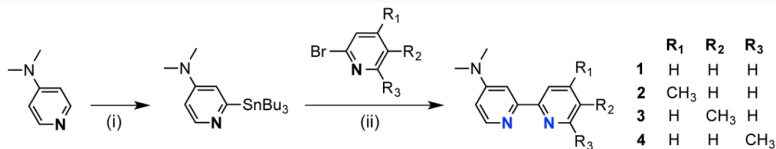
- Gruppo metilico, favorisce la chelazione.
- Gruppo dimetilamminico, interagisce con i $A\beta$ e favorisce la complessazione.

Bipiridine: Sintesi I

Il processo di sintesi delle biperidine può essere effettuato con una reazione di Stille.



Bipiridine: Sintesi II

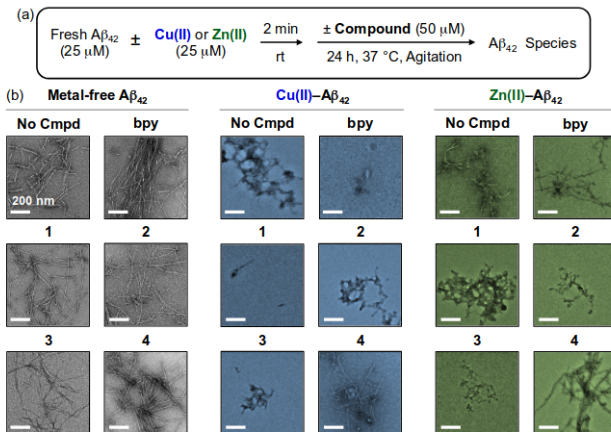


(i) $n\text{-BuLi}$, 2-Dimetilaminoetanolo, Esano, 0°C ; Bu_3SnCl , -78°C ; (ii) $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, LiCl , PPh_3 , Toluene, 110°C

- Si forma lo stannano a partire dalla 4-dimetilamminopiridina.
- Si effettua l'accoppiamento dello stannano ottenuto con la piridina bromurata tramite la reazione di Stille.

Bipiridine: Effetti della Molecola

L'azione di composti sintetizzati è stata valutata con esperimenti in vitro



Ad oggi una cura al Morbo d'Alzheimer non è ancora stata individuata.

La chimica organica può fornire a medici e biochimici gli strumenti per affrontare il problema:

- Attraverso la sintesi di composti ispirati a prodotti presenti in natura come visto nelle sezioni relative a Resveratrolo e Curcumina.
- Sintetizzando molecole ad hoc sulla base delle funzionalità richieste come nel caso delle biperidine.