

ХОЛИНЕСТЕРАЗНИТЕ ИНХИБИТОРИ В ЛЕЧЕНИЕТО НА БОЛЕСТ НА АЛЦХАЙМЕР

Н. Йорданов, М. Атанасова, И. Димитров и И. Дойчинова
Катедра „Химия”, Фармацевтичен факултет,
Медицински университет – София

Резюме. Болестта на Алцхаймер (БА) е невродегенеративно заболяване, водещо до увреждане на когнитивните способности, с постепенно начало и необратима прогресия. Атрофията и дегенерацията на субкортикалните холинергични неврони водят до драстичен недостиг на ацетилхолин (ACh) в мозъка. Холинестеразните инхибитори блокират ензима ацетилхолинестераза (AChE) и забавят разграждането на ACh. Чрез поддържане нивата на ACh тези лекарства компенсират намалената холинергична функция и са широко използвани за симптоматично лечение на БА. В обзора са разгледани нови съединения, инхибитори на AChE, разработвани за лечение на болестта на Алцхаймер.

Ключови думи: болест на Алцхаймер, ацетилхолин, ацетилхолинестераза, холинестразни инхибитори

N. Yordanov, M. Atanasova, I. Dimitrov and I. Doytchinova. CHOLINESTERASE INHIBITORS IN THE TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

Summary. Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease resulting in cognitive impairment with gradual onset and irreversible progression. Atrophy and degeneration of subcortical cholinergic neurons lead to severe shortage of acetylcholine (ACh) in the brain. Cholinesterase inhibitors block the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and slow down the breakdown of ACh. By maintaining the levels of ACh these drugs compensate the reduced cholinergic function and are widely used for the treatment of AD. In this review we consider novel compounds, inhibitors of AChE, being under development for the treatment of AD.

Key words: Alzheimer's disease, acetylcholine, acetylcholinesterase, cholinesterase inhibitors

Невродегенеративните заболявания се характеризират с прогресивна и необратима загуба на неврони от специфични региони в нервната система. При болест на Алцхаймер (БА) се губят хипокампални и кортикални неврони и това води до нарушение на паметта и когнитивните способности. БА представлява значителен медицински и социален проблем, засягащ около 10% от населението на възраст над 65 год. В момента медикаментозното лечение на невродегенеративните заболявания е ограничено предимно до симптоматично, което не променя хода на заболяването. Лечението на БА е с много малка ефективност, нуждата от нови стратегии в тази насока е особено належаща.

1. Болест на Алцхаймер

1.1. История. През 1901 г. немският психиатър Алоис Алцхаймер наблюдава 51-годишна пациентка в клиника във Франкфурт, страдаща от загуба на краткосрочна памет и с други поведенчески симптоми, които го озадачават. Пет години по-късно, през април 1906 г., пациентката умира и д-р Алцхаймер изпраща мозъка ѝ и медицинското ѝ досие в лабораторията на д-р Емил Креплин в Мюнхен. Чрез оцветяване на секции от мозъка д-р Креплин идентифицира амилоидни плаки и неврофибриларни възли [33]. През 1907 г. д-р Алцхаймер публикува за първи път патологията и клиничните симптоми на заболяването, като ги нарича *пресенилна деменция* (Alzheimer, 1907). По-късно заболяването е наречено на неговото име – болест на Алцхаймер.

1.2. Етиология. Причината на заболяването не е напълно известна, но се смята, че включва генетични и фактори на околната среда (многофакторна). Повечето случаи на БА са спорадични, но има изследвания, регистриращи семейства с висока честота на заболяемост [20]. Идентифицирани са мутации на гени, кодиращи амилоид прекурсорен ензим (APE) и протеини, известни като пресенилини, за които се смята, че са отговорни за обработката на APE [51]. Аполипопротеин Е (apoE) е един от първите идентифицирани генетични рискови фактори за БА. Този ензим има четири изоформи, отговорни за транспорта на холестерол и липиди в кръвта. Въпреки че и четирите изоформи изпълняват функциите си в липидния метаболизъм еднакво добре, индивиди, които са хомозиготни по apoE4 алел, са с много по-голям риск от заболяване от тези, които са хомозиготни по apoE2 алел. Механизмът, по който apoE4 протеинът повишава риска от

БА не е открит, но се предполага, че участва в β -амилоидната агрегация или в обработката на A β [46].

Сред факторите на околната среда, отключващи БА, се считат повишеният прием на алуминий, травматичното увреждане на мозъка, вирусните инфекции и недохранването (ниски нива на желязо, фолиева киселина, В₁₂, калций и магнезий) [3].

1.3. Клинична картина. БА се характеризира с увреждане на когнитивните способности, постепенно начало и необратима прогресия. Увреждането на краткосрочната памет е първата клинична проява. Тъй като състоянието прогресира, започват да се засягат и други познавателни способности, като възможността за изчисление, уменията за различаване на обекти и използването на предмети и инструменти. Нивото на възбуда и бдителността на пациента не са повлияни в начален стадий. На по-късен етап БА се характеризира с мускулни контрактури и завършва със смърт на индивида.

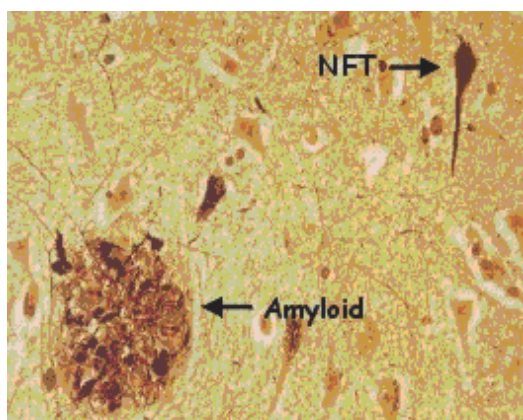
1.4. Патофизиология. БА засяга три процеса, които поддържат невроните здрави: комуникация, метаболизъм и регенерация. Определени неврони в мозъка спират работа, губят способност да комуникират с други неврони и накрая умират. Унищожението на тези нервни клетки води до засягане на паметовите функции, промяна в личността, проблеми при изпълнението на ежедневни дейности и до други черти на заболяването. Диагноза на БА се поставя при наличието на някои симптоми и като се докаже, че други причини за деменция не са налице (DMS-IV критерии). Единственият начин да се постави стопроцентова диагноза за БА е да се изследва мозъчната тъкан след смъртта. Следните промени са по-чести в мозъчната тъкан на хора с БА [1]:

- атрофия на неврони – 35-40% от мозъчните неврони са атрофирани;
- неврофибриларни възли (NFT) – усукани фрагменти от протеини в нервните клетки, които запушват неврона;
- сенилни плаки (SP) – екстрацелуларно натрупване на β -амилоиден пептид (A β);
- амилоидна ангиопатия – натрупване на A β в мозъчните съдове.

Въпреки че SP и NFT могат да бъдат наблюдавани и при когнитивно здрави индивиди, те са в много по-големи количества при пациенти с БА, като броят на NFT е пропорционален на тежестта на болестта [1]. При пациенти с напреднала БА, SP и NFT са най-често срещани в хипокампуса и асоциативните региони на кората на главния мозък, докато областите в кората, отговорни за

визуалните и моторните способности, са относително незасегнати. Това съответства на клиничните характеристики на значително влошаване на паметта и абстрактното мислене при запазено зрение и движение.

Когато невронът бъде унищожен, намаляват нивата на невротрансмитерите и връзката между области от мозъка, които работят заедно, се прекъсва. Здравите неврони са изградени от микротубули, по които преминават нутриенти и молекули от тялото на клетката към краищата на аксона и обратно. Специален вид протеин, наречен tau, се свързва с микротубулите и ги стабилизира. При БА tau се променя химически ц1;. Хиперфосфолирираният tau се натрупва в булбуса на големите и средните пирамидални неврони. Той се сдвоява с други нишки от tau протеини, като се образуват NFT, които водят до разпадане на микротубулите и колапс на транспортната система на неврона (фиг. 1). Образуването на NTF води първо до нарушаване на невроналната комуникация и по-късно до смърт на клетката.



Фиг. 1. Амилоидни плаки (SP) и неврофибриларни възли (NFT)
(<https://gbiomed.kuleuven.be>)

Патологията на БА включва и образуването на SP на микроскопско ниво (фиг. 1) и цереброкортикална атрофия на макроскопско ниво. Хипокампусът и медиалният темпорален дял са първите засегнати зони при образуването на плаки [5]. Това може да бъде видно при ядрено-магнитен резонанс в началото на БА. Натрупването на SP предхожда клиничната картина при БА. NFT, загубата на неврони и синапси съпътстват развитието на когнитивните дисфункции [52]. SP включва амилоидна субстанция,

позиционирана в центъра на лезиите. Амилоидната субстанция е заобиколена от слой дистрофични неврити и реактивна глия (астроцити и микроглия). Едно от най-важните постижения през последните десетилетия е изясняването на химичната структура на А β -пептид, (последователността на аминокиселините в него) и клонирането на гена, кодиращ неговия прекурсор APP [57]. Тези постижения позволиха събирането на богата информация за механизмите на амилоидните отлагания в мозъка.

1.5. Неврохимия. Неврохимичните смущения, които възникват при БА, са интензивно изследвани [26]. Анализ на невротрансмитерното съдържание в мозъчната кора показва намаление на много трансмитери, паралелно свързано със загубата на памет [9]. Налице е драстичен недостиг на ацетилхолин (ACh). В анатомичната основа на холинергичния дефицит са атрофия и дегенерация на субкортикални холинергични неврони, които осигуряват холинергичната медиация на цялата мозъчна кора. Селективният недостиг на ACh, както и наблюдението, че централните холинергични антагонисти, като атропин, могат да предизвикат състояние на обърканост, която прилича на деменцията при БА, са довели до създаването на *холинергичната хипотеза*. Според нея, дефицитът на ACh е в основата на симптомите при БА [38]. Важно е да се отбележи, че дефицитът при БА е свързан не само с ACh, а и с множество невротрансмитерни системи, включително серотонин, глутамат и неuropeптиди.

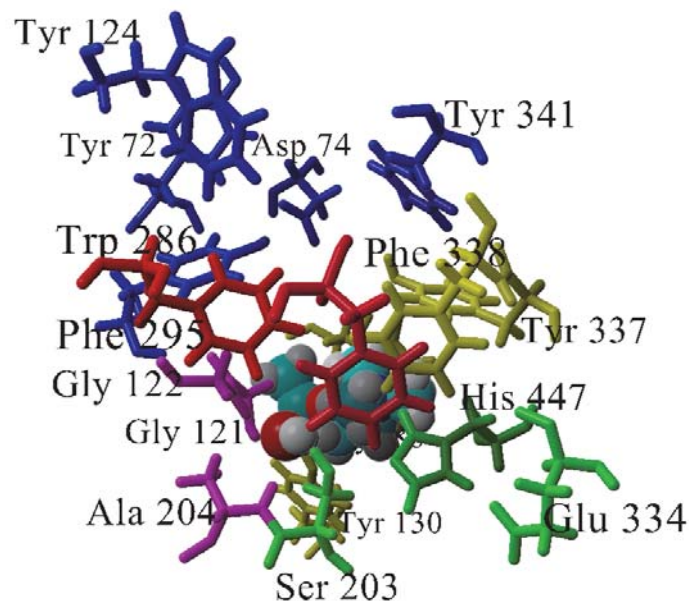
2. Холинестеразни инхибитори

Ацетилхолинестеразата (AChE) е серинова протеаза (ЕО 3.1.1.7). Тя катализира хидролизата на невротрансмитера ацетилхолин (ACh) в нервно-мускулни и мозъчни холинергични синапси. ACh играе ключова роля в работата на паметта и познавателната способност. Намаленото холинергично функциониране е свързано с развитие на деменция [6]. Деменцията може да бъде причинена от неврологични заболявания (болест на Алцхаймер и болест на Паркинсон) [7], съдови нарушения (инсулт, каротидна стеноза, аневризми) [45], наследствени заболявания (болест на Хънтингтън) [16] и инфекции (HIV) [34].

Мястото на свързване върху човешката AChE се състои от няколко домейна: каталитичен, анионен, ацилен, оксианионен и периферен анионен [22, 35, 36, 42, 53] (фиг. 2). Каталитичният домейн лежи на дъното на дълбоко 20Å и тясно гърлообразно

място на свързване. Състои се от каталитичната триада Ser203, Glu334 и His447. Анионният домейн свързва четвъртичния азотен атом на ACh. Въпреки името си той не съдържа анионни, а ароматни остатъци: Trp86, Tyr130, Tyr337 и Phe338. Те участват в катион – π взаимодействия с четвъртичния азот на ACh. Ацилният джоб се състои от два обемисти остатъка: Phe295 и Phe297, и определя селективното свързване на ACh чрез предотвратяване на достъпа на по-обемни естери на холина. Оксианионният домейн приема една молекула структурна вода и се състои от Gly121, Gly122 и Ala204. Молекулата вода участва в мрежа от водородни връзки с ензима и субстрата. Периферният анионен домейн (PAS) се намира на входа на гърлообразното място на свързване. Той се състои от пет остатъка: Tyr72, Asp74, Tyr124, Trp286 и Tyr341. PAS алостерично модулира каталитичния процес [28] и участва в нехолинергични функции като отлагане на амилоидни плаки (Johnson et Moore, 2004) и клетъчна адхезия [12].

AChE инхибиторите (AChEIs) блокират ензима и забавят разграждането на ACh. Чрез поддържане нивата на ACh тези лекарства компенсират намалената холинергична функция и са широко използвани за симптоматично лечение на БА.



Фиг. 2. Ацетилхолин (в сфери) и място на свързване върху AChE: каталитичен домейн, анионен домейн, ацилен джоб, оксианионен домейн и периферен анионен домейн

2.1. Стари холинестеразни инхибитори

Physostigmine (Eserine)

Physostigmine е първият АСhEI, изследван за лечението на БА. Изолиран е от семената на *Physostigma venenosum* като растителен алкалоид от групата на парасимпатомиметиците. Преминава през кръвно-мозъчната бариера (КМБ), има кратък полуживот, тесен терапевтичен индекс и много странични ефекти, като гадене, повръщане, главоболие, диария и виене на свят. Physostigmine е използван за лечение на миастения гравис (MG), глаукома и при забавено изпразване на стомаха. Въпреки това лекарството не е одобрено за лечение на БА поради множеството странични ефекти [37].

Tacrine

Tacrine е първото лекарство, одобрено за лечение на БА през 1993 [56]. Той е мощен инхибитор на АСhE. Одобрен е поради ефикасността, която показва по скалата ADAS-Cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale) спрямо плацебо във фаза II и фаза III в клинични проучвания при БА [29]. Въпреки това използването му е ограничено поради редица странични реакции, като гадене, повръщане, виене на свят, диария, припадъци, хепатотоксичност. Краткият му полуживот изисква 4-кратен дневен прием, което допълнително създава неудобство за пациента.

Donepezil

Donepezil е одобрен през 1996 г. за лечение на лека до умерена форма на БА. Rogers и кол. (1998) провеждат 12-седмично двойнослепо проучване върху 468 пациенти с БА, разделени в три групи: плацебо, ниска доза (5 mg/ден) и висока доза (5 mg/ден за 1 седмица и 10 mg/ден след това). Подобрене е отчетено на третата седмица, а клинично значими ефекти са наблюдавани на деветата седмица. Страничните ефекти са сравними с плацебо през по-голямата част от изследването. Някои от пациентите на висок дозоврежим понякога изпитвали леко гадене, диария и безсъние [44]. Смята се, че Donepezil има допълнителен механизъм на действие, различен от този на АСhEI. Предполага се, че той индуцира производство на невропротективни изоформи на АСhE, блокира каскадата, индуцирана от глутамат, смекчава ефектите на оксидативен стрес и намалява експресията на възпалителни цитокини [24]. Donepezil е одобрен за лечение на лека, средна и тежка форма на БА, но не и при други форми на деменция. Показва известна полза при леки когнитивни увреждания [39, 47], но не е одобрен за тези показания. Наскоро е одобрена по-висока доза

(23 mg) за лечение на умерена до тежка форма на БА. Donepezil се резорбира добре, достигайки пикови плазмени концентрации в рамките на 3 до 4 часа. Биологичният му полуживот е около 70 часа, свързва се в около 96% с плазмените протеини. Метаболизира се от CYP2D6 и CYP3A4 и се подлага на глюкорониране.

Rivastigmine

Rivastigmine е AChEI с малка молекулна маса и мощна инхибираща способност. През 2000 г. е одобрен за лечение на лека до умерена форма на БА и на Паркинсонова болест. Corey-Bloom и кол. (1998) провеждат клинично проучване върху 699 пациенти с БА, варираща от лека до умерено тежка. Пациентите са разделени в три групи: плацебо, ниска доза (1-4 mg/ден) и висока доза (6-12 mg/ден) за 26 седмици. Пациентите на висок дозов режим демонстрират значително подобрене в когнитивните функции, дейностите от ежедневието и менталното състояние [11]. Rivastigmine дава чести странични ефекти, като гадене, повръщане, анорексия и диария. От 2007 г. се предлага под формата на трансдермален пластир. Това води до значително по-редки гастроинтестинални странични ефекти в сравнение с оралната доза. Метаболизира се от CYP450, свързването му с плазмените протеини е слабо – около 40%. След приема на 6 mg продължителността на действие е приблизително 10 часа.

Galantamine

Терапевтичното действие на Galantamine се дължи както на инхибиране на ензима AChE, така и на взаимодействие с никотиновите холинергични рецептори (nAChRs). През февруари 2001 г. Galantamine е одобрен за лечение на лека до умерена форма на БА. Tariot и кол. (2000) провеждат рандомизирано клинично проучване на 978 пациенти с Galantamine и плацебо за 5 месеца. Терапията с Galantamine показва значително подобрене в поведенческите, когнитивните и функционалните симптоми на БА. Страничните ефекти са редки. Бавното повишаване на дозата увеличава поносимостта към лекарството [54]. Резорбцията е бърза и пълна, с абсолютна перорална бионаличност между 80 и 100%, полуживот 7 часа и линейно елиминиране. Максимален инхибиторен ефект на AChE се постига около 1 час след единична доза от 8 mg при здрави доброволци. Свързва се с плазмени протеини в около 18%.

Metrifonate

Metrifonate е дългодействащ необратим инхибитор на холинестеразата, първоначално използван за лечение на шистозомиаза. Въпреки че при краткосрочно използване има малък риск от

нежелани реакции, при продължителна употреба, причинява респираторна парализа и невромускулна дисфункция, наподобяваща *myasthenia gravis*. Поради това клиничните проучвания са прекратени по време на фаза III, въпреки че *Metrifonate* демонстрира стабилен терапевтичен ефект съгласно *ADAS-cog* [37].

2.2. Нови холинестеразни инхибитори

Phenserine

Phenserine е производно на *Physostigmine*, с двоен ефект: намалява концентрацията на бета-амилоид прекурсорния протеин (APP) и обратимо инхибира AChE. Има бърза резорбция и показва по-ниска токсичност от *Physostigmine* и *Tacrine*. Проучвания върху животни са показали, че *Phenserine* подобрява обучението и паметта [37]. През 2003-2004 г. са проведени клинични проучвания във фаза III върху 384 пациенти с БА. Опитите са проведени при режими на дозиране 10 mg и 15 mg два пъти дневно. Резултатите са показали, че терапията с *Phenserine* не е постигала значително подобряване на състоянието на пациентите, отчетено по скалата *ADAS-Cog*, и изпитванията са били прекратени [37].

Tolserine

Tolserine е метилово производно на *Phenserine*, по-активно и по-селективно от него при *in vitro* изследвания [37]. Няма данни за клинични изпитвания.

Esolinerine

Esolinerine е производно на *Tacrine* с мощен инхибиторен ефект и значителна селективност към AChE спрямо BChE [60]. Няма данни за клинични проучвания.

Tesofensine

Tesofensine инхибира обратното всмукване на серотонин, норадреналин и допамин в синаптичната цепка. Потенцира индиректно холинергичната невротрансмисия и намалява концентрацията на A β протеина. Поради недостатъчно подобрене при пациенти с БА клиничните проучвания са прекратени през 2008 г. В момента *Tesofensine* се продава като лекарство против затлъстяване [30].

2.3. Холинестеразни инхибитори с растителен произход

Huperzine A

Huperzine A (*HupA*) е алкалоид, изолиран от китайската билка *Huperzia serrata*, използвана при паметов дефицит. *HupA* е високоселективен, обратим и мощен AChE инхибитор [58]. Рацимичните смеси и синтетичните производни на *HupA* имат по-ниска инхибиторна активност от натуралния *HupA*. *HupA* е бил хибриди-

зиран с Tacrine и Donepezil. Хибридите с Tacrine са показали по-добра инхибираща активност и по-висока перорална бионаличност от изходните лекарства [37]. HupA е във фаза II клинични изпитвания в Европа [4]. В САЩ се предлага като хранителна добавка за подобрене на паметовите функции, но не конкретно за БА.

Huperzine B

Huperzine B (HupB) е по-слабо активен и селективен инхибитор от HupA, но има по-висок терапевтичен индекс. Синтезирани са производни на HupB с по-мощен ефект от натуралния HupB [49]. Поради по-слабата му *in vitro* активност не е изследван клинично.

Nulembo nucifera

Nulembo nucifera е водно растение с множество лечебни свойства, вкл. подобряване на паметта. Смята се, че механизмът на действието му е инхибиране на AChE. Съединенията, изолирани от *N. nucifera*, имат потенциал да бъдат използвани за лечение на БА [27]. Няма данни за предклинични и клинични проучвания.

Himatanthus lancifolius

Himatanthus lancifolius е растение, притежаващо редица лечебни свойства, като антимикробен ефект, гастропортективно действие, способност да влияе върху съдовата и несъдовата гладка мускулатура [50]. Фракции от растението показват значителен AChE инхибиторен ефект. Не са докладвани предклинични и клинични изпитвания за безопасност и токсичност.

Galangin

Guo и колеги (2010) са проучили 21 флавоноида за потенциални AChE инхибиторни свойства *in vitro*. Към флавоноидите има голям интерес като потенциални агенти в терапията на БА поради свойството им да се свързват със свободни радикали. Епидемиологични данни показват, че по-високият прием на флавоноиди е свързан с по-ниска честота на БА. Флавонол, изолиран от *Rhizoma Alpiniae officinarum* и наречен Galangin, демонстрира мощен инхибиторен ефект върху AChE. Няма данни дали Galangin се свързва директно с AChE [19]. Няма данни за предклинични и клинични изследвания.

Производни на Cardanol

De Paula и кол. (2009) са изследвали липиди от *Anacardium occidentale* и са установили, че тези съединения имат структурни, електростатични и хидрофобни свойства, релевантни за разпознаването им от AChE [13]. Няма данни за предклинични и клинични изследвания.

2.4. Хибриди

Тезата, че БА е многофакторно заболяване, ражда иноваторския модел *една молекула – много таргети*. В хибридите се комбинират молекули с различен, но синергичен механизъм на действие. Това дава възможност за постигане на по-добро действие при по-ниски концентрации на лекарствата и по-редки странични ефекти.

Donepezil и AP2238

AP2238 е първото съединение, което се свързва с двата анионни центъра на AChE. Активността му към AChE е сравнима с Donepezil, а способността му да инхибира агрегирането на A β пептид е по-висока. Rizzo и кол. (2010) съобщават за серия разработени хибриди на Donepezil и производни на AP2238, мощни инхибитори на AChE и на A β агрегирането от референтните съединения. Няма данни за предклинични и клинични изследвания.

Donepezil–Tacrine хибриди

Camps и кол. (2008) синтезират хибриди между Donepezil и Tacrine, които взаимодействат едновременно с няколко домейна на AChE. Новите хибриди показват мощно инхибиторно действие спрямо AChE и агрегирането на A β [10].

Tacrine-8-hydroxyquinoline хибриди

Tacrine и 8-хидроксихинолин са AChE инхибитори, намаляващи концентрацията на A β протеина. Fernandez-Bachiller и кол. (2010) установяват, че хибридите са по-ефективни от Tacrine спрямо AChE и BChE, има ниска клетъчна токсичност и преминава КМБ *in vitro*. В допълнение, демонстрира антиоксидантни свойства и способност да образува комплекси с Cu. Тези качества превръщат хибрида в потенциално лекарство против БА [15].

2.5. Синтетични аналози

Ladostigil

Ladostigil е ново лекарство срещу БА с невропротективно действие, неселективен инхибитор на MAO и AChE [59]. При клетъчни модели показва невропротективно и антиоксидантно действие в много по-ниски концентрации от тези, при които инхибира MAO или AChE. Предклинични изпитвания върху плъхове показват, че приемът на Ladostigil (1 mg/kg/ден) за период от 6 месеца има невропротективно действие върху мозъка и предотвратява намалението в активността на AChE, свързано с възрастта. Ladostigil е във фаза IIb

на клинично проучване и се смята, че може да се превърне в средство за лечение на БА и съпътстващи екстрапирамидни нарушения и депресия [59].

Производни на Galantamine

Сред всички прилагани AChE инхибитори, Galantamine притежава уникален двоен механизъм на действие върху холинергичната система. Той не само инхибира AChE, но и алостерично модулира никотиновия ацетилхолинов рецептор (nAChR). Galantamine показва по-малка токсичност от Tacrine, Rivastigmine и Donepezil. През последните няколко години различни галантаминови производни са синтезирани и тествани за антихолинестеразна активност [8, 18, 21, 23, 32, 41, 55]. Изследвания на връзката структура–активност (SAR) показват, че заместването при азотния атом на Galantamine е благоприятно за инхибиторната активност. Предполага се, че заместителите взаимодействат и с PAS [17, 40]. Целта на изследванията в тази насока е да се разработи нова серия производни на Galantamine, които да са способни да взаимодействат както с активния център, така и с периферния анионен център на AChE [14]. Синтезът на производни на Galantamine е в посока на удължаване и модифициране на заместителите при N-атом [48].

Библиография

1. Abdalla, B. et al. Traditional and modern medicine harmonizing the two approached in the treatment of neurodegeneration (Alzheimer's disease – AD). – In: Complementary Therapies for the Contemporary Healthcare. M. Saad et R. de Madeiros (Eds.), Intech, 2012.
2. Alzheimer, A. Uber eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. – Allgemeine Zeitschrift fur Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin, **64**, 1907, 146-148.
3. Armstrong, R. A. What causes Alzheimer's disease? – Folia Neuropathol., **51**, 2013, 169-188.
4. Bai, D. Development of huperzine A and B for treatment of Alzheimer's disease. – Pure Appl. Chem., **79**, 2007, 469-479.
5. Braak, H. et E. Braak. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. – Acta Neuropathol., **82**, 1991, 239-259.
6. Bierer, L. M. et K. L. Davis. Neurochemical Correlates of Dementia Severity in Alzheimer's Disease: Relative Importance of the Cholinergic Deficits. – J. Neurochem., **64**, 1995, 749–760.
7. Boller, F. et al. Parkinson disease, dementia, and alzheimer disease: clinicopathological correlations. – Ann. Neurol., **7**, 1980, 329–335.
8. Bores, G. M. et R.W. Kosley. Galanthamine derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. – Drugs Future, **21**, 1996, 621-635.

9. Bowen, D. M. et A. N. Davison. Biochemical changes in the cholinergic system of the aging brain and in senile dementia. – *Psychol. Med.*, **10**, 1980, 315-319.
10. Camps, P. et al. Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β -amyloid aggregation. – *J. Med. Chem.*, **51**, 2008, 3588-3598.
11. Corey-Bloom, J., R. Anand et J. Veach. A randomized trial evaluating the efficacy and safety of ENA 713 (rivastigmine tartrate), a new acetylcholinesterase inhibitor, in patients with mild to moderately severe Alzheimer's disease. – *Int. J. Geriatr. Psychopharmacol.*, **1**, 1998, 55-65.
12. De Ferrari, G. V. et al. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid beta-peptide fibril formation. – *Biochemistry*, **40**, 2001, 10447-10457.
13. De Paula, A. A. N. et al. New potential AChE inhibitor candidates. – *Eur. J. Med. Chem.*, **44**, 2009, 3754-3759.
14. Du, D. M. et P. R. Carlier. Development of bivalent acetylcholinesterase inhibitors as potential therapeutic drugs for Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.*, **10**, 2004, 3141-3156.
15. Fernández-Bachiller, M. I. et al. Novel tacrine-8-hydroxyquinoline hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease, with neuroprotective, cholinergic, antioxidant, and copper-complexing properties. – *J. Med. Chem.*, **55**, 2012, 1303-1317.
16. Goodin, D. S. et M. J. Aminoff. Electrophysiological differences between subtypes of dementia. – *Brain*, **109**, 1986, 1103-1113.
17. Greenblatt, H. M. et al. The complex of a bivalent derivative of galanthamine with Torpedo Acetylcholinesterase displays drastic deformation of the active-site gorge: Implications for structure-based drug design. – *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 2004, 15405-15411.
18. Guillou, C. et al. Potent acetylcholinesterase inhibitors: design, synthesis and structure-activity relationships of alkylene linked bis-galanthamine and galanthamine-galanthaminium salts. – *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 2000, 637-639.
19. Guo, A. J. Y., H. Q. Xie et R. C. Y. Choi. Galangin, a flavonol derived from *Rhizoma Alpiniae Officinarum*, inhibits acetylcholinesterase activity in vitro. – *Chem. Biol. Interact.*, **187**, 2010, 246-248.
20. Winn-Hardy, K. Genetics of parkinsonism. – *Mov. Disord.*, **17**, 2002, 645-656.
21. Han, S. Y. et al. Chemical and Pharmacological Characterization of Galanthamine. – *Eur. J. Med. Chem.*, **27**, 1992, 673-687.
22. Harrel, M. et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active site gorge of acetylcholinesterase. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1993, 9031-9035.
23. Herlem, D., M. T. Martin, C. Thal et C. Guillou. Synthesis and structure-activity relationships of open D-ring galanthamine analogues. – *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 2003, 2389-2391.
24. Jacobson, S. A. et M. N. Sabbagh. Donepezil: potential neuroprotective and disease-modifying effects. – *Exp. Opin. Drug Metabol. Toxicol.*, **4**, 2008, 1363-1369.
25. Johnson, G. et S.W. Moore. Identification of a structural site on acetylcholinesterase that promotes neurite outgrowth and binds laminin-1 and collagen IV. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **319**, 2004, 448-455.

26. Johnston, M.V. Cognitive disorders. – In: Principles of Drug Therapy in Neurology. Johnston, M. V., R. L. MacDonald, et A. B. Young (Eds.), Philadelphia, Davis, 1992, 226-267.
27. Jung, H. A., Y. J. Jung et S. K. Hyun. Selective cholinesterase inhibitory activities of a new monoterpene diglycoside and other constituents from *Nelumbo nucifera stamens*. – Biol. Pharm. Bull., **33**, 2010, 267-272.
28. Kitz, R. J., L. M. Braswell et S. Ginsburg. On the question: is acetylcholinesterase an allosteric protein? – Mol. Pharmacol., **6**, 1970, 108-121.
29. Knapp, M. J. et al. A 30-week randomized controlled trial of high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. The Tacrine Study Group. – JAMA, **271**, 1994, 985-991.
30. Lehr, T. et al. Population pharmacokinetic modelling of NS2330 (tesofensine) and its major metabolite in patients with Alzheimer's disease. – Br. J. Clin. Pharmacol., **64**, 2007, 36-48.
31. López-Arrieta, J. M. et L. Schneider. Metrifonate for Alzheimer's disease. – Cochrane Database Syst. Rev., **2**, 2006, CD003155.
32. Mary, A. et al. Potent acetylcholinesterase inhibitors: Design, synthesis, and structure-activity relationships of bis-interacting ligands in the galanthamine series. – Bioorg. Med. Chem., **6**, 1998, 1835-1850.
33. Maurer, K. et U. Maurer. Alzheimer: The Life of a Physician and the Career of a Disease. New York, Columbia University Press, 2003.
34. Melton, S. T., C. K. Kirkwood et S. N. Ghaemi. Pharmacotherapy of HIV dementia. – Ann. Pharmacother., **31**, 1997, 457-473.
35. Ordentlich, A. et al. Dissection of the human acetylcholinesterase active center determinants of substrate specificity. Identification of residues constituting the active site, the hydrophobic site and the acyl pocket. – J. Biol. Chem., **268**, 1993, 17083-17095.
36. Ordentlich, A. et al. Functional characteristics of the oxyanion hole in human acetylcholinesterase. – J. Biol. Chem., **273**, 1998, 19509-19517.
37. Orhan, G. et al. Contemporary anticholinesterase pharmaceuticals of natural origin and their synthetic analogues for the treatment of Alzheimer's disease. – Recent Pat. CNS Drug Discov., **4**, 2009, 43-51.
38. Perry, E. K. The cholinergic hypothesis – ten years on. – Br. Med. Bull., **42**, 1986, 63-69.
39. Petersen, R. C. et al. Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. – New Eng. J. Med., **352**, 2005, 2379-2388.
40. Pilger, C. et al. Accurate prediction of the bound conformation of galanthamine in the active site of *torpedo californica* acetylcholinesterase using molecular docking1. – J. Mol. Graph. Model., **19**, 2001, 288-296.
41. Poschalko, A. et al. Benzofuro[3a,3,2,ef][3]benzazepine, an unnatural analog of (-)-galanthamine. – Tetrahedron, **58**, 2002, 1513-1518.
42. Radic, Z. Et al. Three distinct domains in the cholinesterase molecule confer selectivity for acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. – Biochemistry, **32**, 1993, 12074-12084.
43. Rizzo, S. et al. Targeting Alzheimer's disease: Novel indanone hybrids bearing a pharmacophoric fragment of AP2238. – Bioorg. Med. Chem., **18**, 2010, 1749-1760.

44. Rogers, S. L. et al. Donepezil improves cognition and global function in Alzheimer disease: a 15-week, double-blind, placebo-controlled study. – Arch. Intern. Med., **158**, 1998, 1021-1031.
45. Román, G. C. et al. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. – Neurology, **43**, 1993, 250-260.
46. Roses, A. D. Apolipoprotein E, a gene with complex biological interactions in the aging brain. – Neurobiol. Dis., **4**, 1997, 170-185.
47. Salloway, S. et al. Efficacy of donepezil in mild cognitive impairment: a randomized placebo-controlled trial. – Neurology, **63**, 2004, 651–657.
48. Sheng, R. et al. Design, synthesis, and evaluation of 2-phenoxy-indan-1-one derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. – Bioorg. Med. Chem. Lett., **15**, 2005, 3834-3837.
49. Shi, Y. F. et al. Novel 16-substituted bifunctional derivatives of huperzine B: multifunctional cholinesterase inhibitors. – Acta Pharmacol. Sin., **30**, 2009, 1195-1203.
50. Seidl, C. et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of uleine from *Himatanthus lancifolius*. – Z. Naturforsch. C, **65**, 2010, 440-444.
51. Selkoe, D. J., et M. B. Podlisny. Deciphering the genetic basis of Alzheimer's disease. – Annu. Rev. Genomics Hum. Genet., **3**, 2002, 67-99.
52. Serrano-Pozo, A. et al. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. – Cold Spring Harb. Perspect. Biol., **3**, 2011, a006189.
53. Sussman, J. L. et al. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. – Science, **253**, 1991, 872-879.
54. Tariot, P. N. et al. A 5-month, randomized, placebocontrolled trial of galantamine in AD. – Neurology, **54**, 2000, 2269-2276.
55. Treu, M., U. Jordis et K. Mereiter. 12H-[2]-Benzothiepine[6,5a,5-bc]benzofuran: synthesis of a sulfur-analog of galanthamine. – Heterocycles, **55**, 2001, 1727-1735.
56. Tumiaatti, V., A. Minarini, M. L. Bolognesi, A. Milelli, M. Rosini et C. Melchiorre. Tacrine derivatives and Alzheimer's disease. – Curr. Med. Chem., **17**, 2010, 1825-1838.
57. Van Broeckhoven, C. L. Molecular genetics of Alzheimer disease: identification of genes and gene mutations. – Eur. Neurol., **32**, 1995, 8-19.
58. Wang, B. S. et al. Efficacy and safety of natural acetylcholinesterase inhibitor huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease: an updated meta-analysis. – J. Neural Transm., **116**, 2009, 457-465.
59. Weinreb, O., T. Amit, O. Bar-Am et M. B. H. Youdim. A novel anti-Alzheimer's disease drug, ladostigil. neuroprotective, multimodal brain-selective monoamine oxidase and cholinesterase inhibitor. Int. Rev. Neurobiol., **100**, 2011, 191-215.
60. Zhan, Z. J. et al. Synthesis of physostigmine analogues and evaluation of their anticholinesterase activities. – Bioorg. Med. Chem. Lett., **20**, 2010, 1532-1534.

✉ **Адрес за кореспонденция:**

И. Дойчинова
 Катедра „Химия“
 Фармацевтичен факултет
 Медицински университет
 ул. „Дунав“ № 2
 1000 София
 email: idoytchinova@pharmfac.net