



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Prirodni spojevi kao inhibitori kolinesteraze izolirani iz morskih organizama

L. W. K. Moodie, K. Sepčić, T. Turk, R. Frangež, J. Svenson, *Nat. Prod. Rep.* **36** (2019) 1053–1092.

Matea Laučan

Kemijski seminar 1

Doktorski studij Kemija, smjer: Organska kemija

Zagreb, 2025. godina

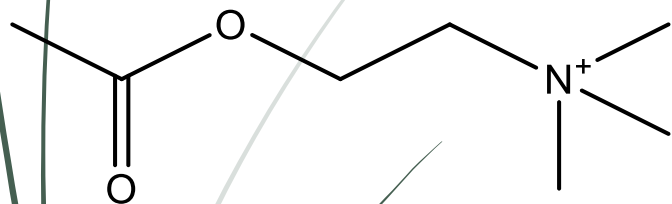
Sadržaj

- Kolinergički sustav
- Trenutno korišteni inhibitori kolinesteraze u terapiji
- Izazovi pri otkrivanju lijekova
- *In vitro* testovi
- Prirodni inhibitori kolinesteraze dobiveni iz morskih izvora
- Zaključak

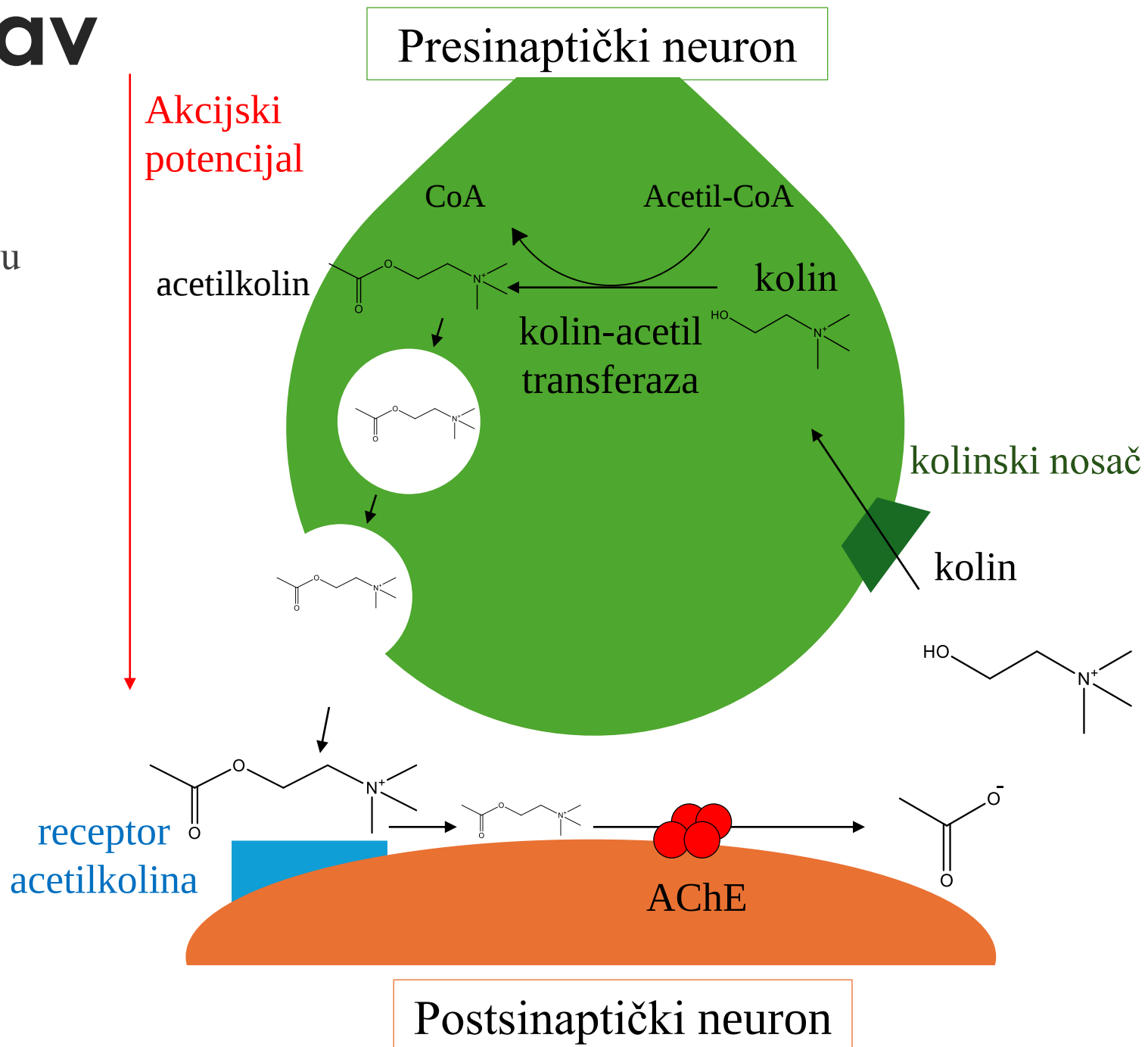
Kolinergički sustav

3

- temelji na oslobađanju i vezanju neurotransmitera **acetilkolina**



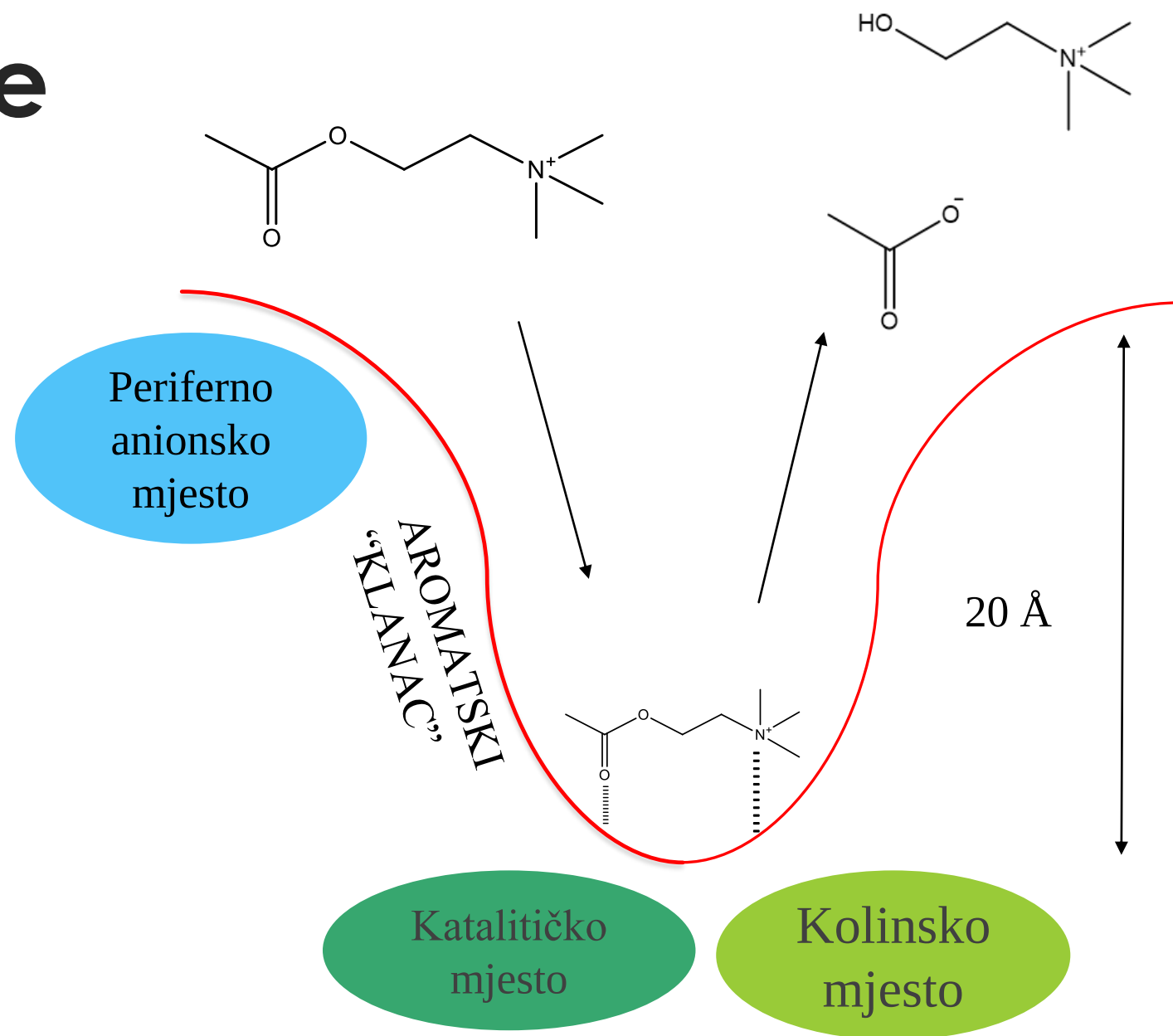
Regulira brojne fiziološke funkcije: pamćenje, učenje, pažnja, regulacija ciklusa spavanja...



Kolinesteraze

- Acetilkolinesteraza (AChE; E.C. 3.1.1.7)
- Butirilkolinesteraza (BChE; E.C. 3.1.1.8)

➤ Aktivno mjesto AChE →



Mehanizam djelovanja kolinesteraza

- ▶ Aktivno mjesto duboko je 20 Å i sastoji se od četiri domene:

1. katalitičko mjesto

- ▶ katalitička trijada s oksianionskom šuplinom

2. kolinsko mjesto

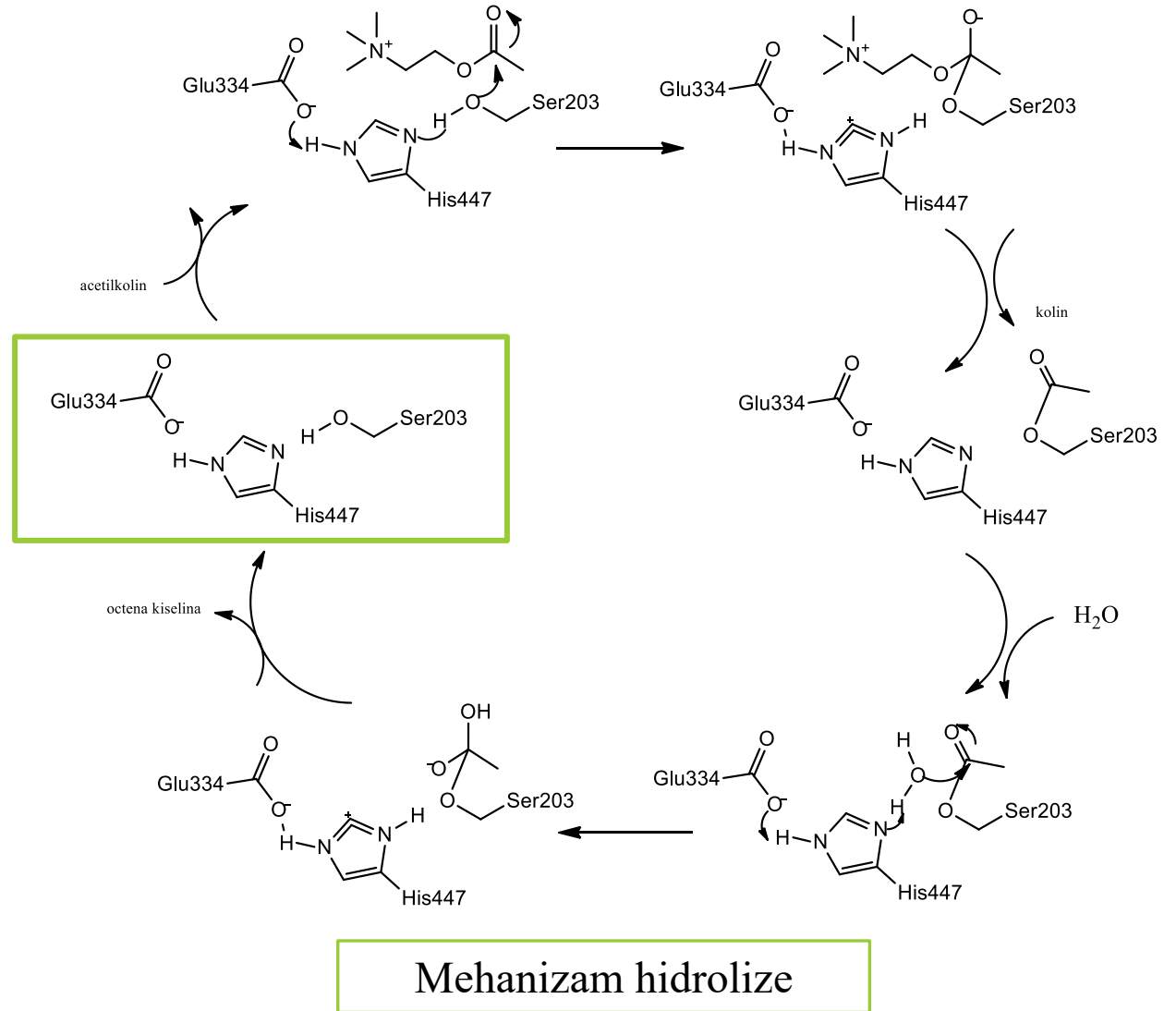
- ▶ stabilizacija pozitivno nabijenoga kvaternog dijela kolinskih supstrata

3. acilni džep

- ▶ odgovoran za smještaj acilnog dijela supstrata

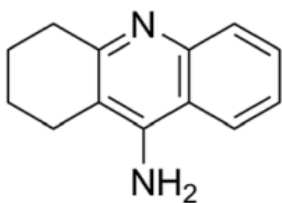
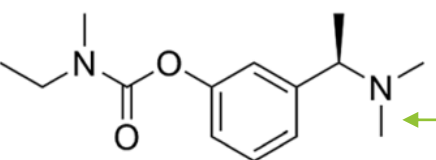
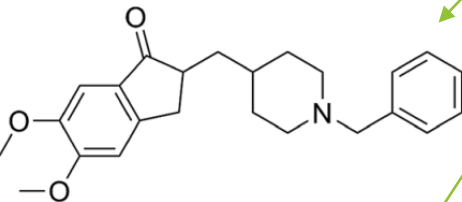
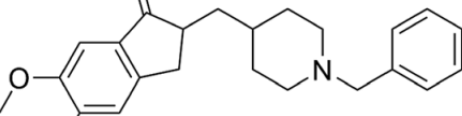
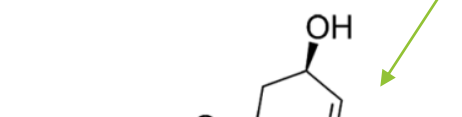
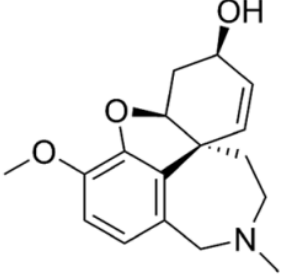
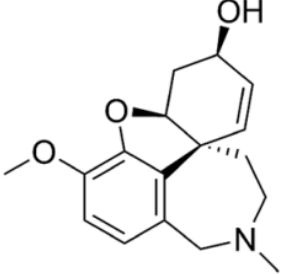
4. periferno mjesto

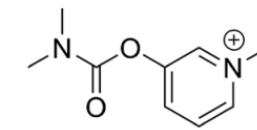
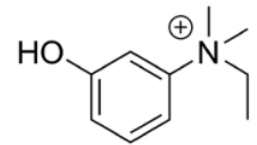
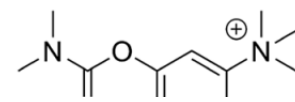
- ▶ smješteno na rubu ždrijela



Trenutno korišteni AChE inhibitori

➤ Tablica 1. IC_{50} vrijednosti izračunate za odobrene inhibitore kolinesteraze u reakciji inhibicije hAChE i hBChE.

	Lijek	$IC_{50} / \mu\text{mol dm}^{-3}$ hAChE	$IC_{50} / \mu\text{mol dm}^{-3}$ hBChE	Vrsta inhibicije	bolest
	Takrin	0,5	0,02	nekompetitivna	AD
	Rivastigmin	4,15	0,037	pseudo- ireverzibilna	AD
	Donepezil	0,022	4,15	nekompetitivna	AD
	Galantamin	0,8	73	kompetitivna	AD
	Edrofonij	5,17	1370	reverzibilna	MG
	Neostigmin	0,1	0,8	pseudo- ireverzibilna	MG
	Piridostigmin	40	16 000	pseudo- ireverzibilna	MG

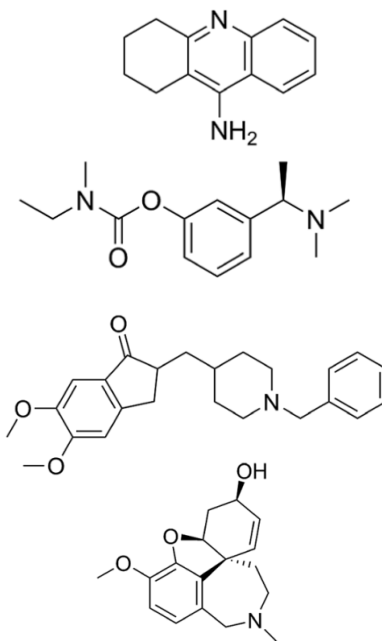


Poremećaji kolinergičkog sustava i povezane bolesti

Alzheimerova bolest



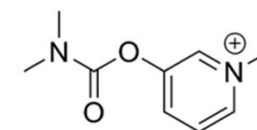
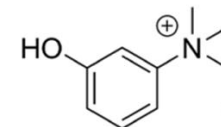
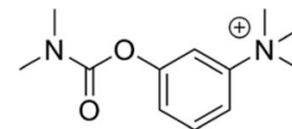
- Opis: Inhibitori kolinesteraze povećavaju koncentraciju acetilkolina u mozgu
- Lijekovi: Takrin, Rivastigmin, Dopenzil, Galantamin



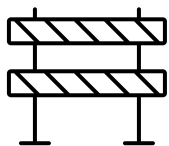
Miastenija gravis



- Opis: jačanje mišićne funkcije produženjem signala
- Lijekovi: Edrofonij, Neostigmin, Piridostigmin



Izazovi pri otkrivanju lijeka



1. Krvno-moždana barijera

- barijera koja pogoduje transportu **lipofilnih spojeva**, a predstavlja prepreku **nabijenim molekulama**
- Većina klinički odobrenih inhibitora kolinesteraze dovoljno je lipofilna da prođe krvno-moždanu barijeru te ima učinak na mozak
- **Polarniji inhibitori kolinesteraze koji sadrže kvaterni dušik ne mogu ju prijeći- selektivno ciljanje perifernog živčanog sustava kod liječenja MG**



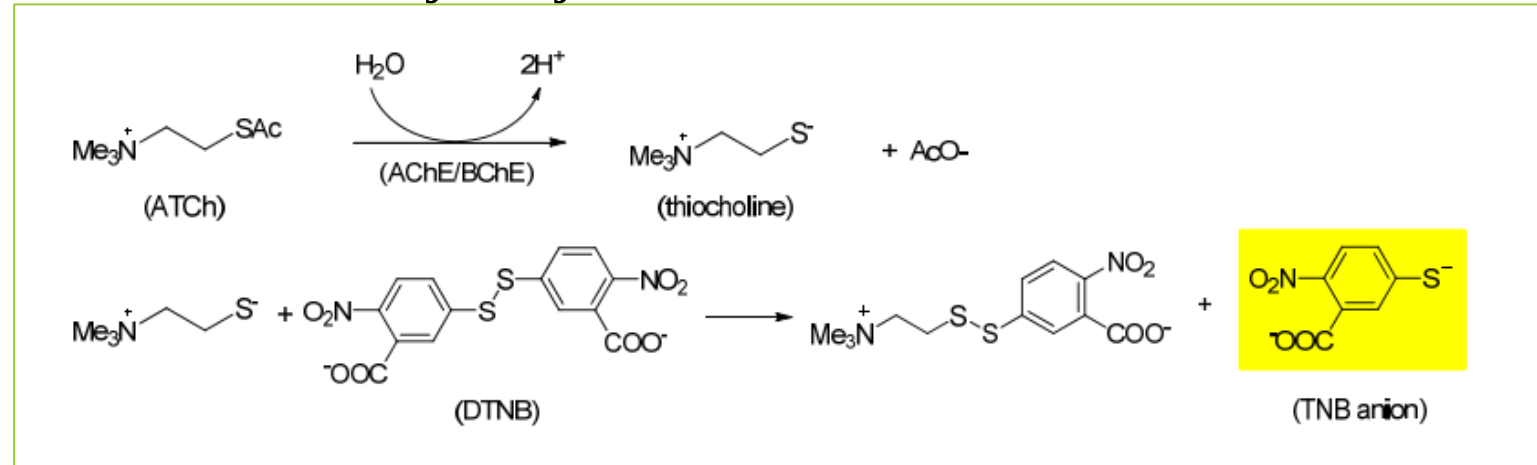
2. Toksičnost i nuspojave

- kratko vrijeme poluraspada
- mučnina, povraćanje, drhtanje i oštećenje jetre
- transdermalni flasteri (rivastigmin)
- Istražuju se tehnologije inkapsulacije/kompleksiranja

In vitro test

9

- Ellman i suradnici su 1961. godine razvili pouzdanu i praktično lako primjenjivu kolorimetrijsku metodu za mjerenje aktivnosti kolinesteraze



- Inhibitorna aktivnost:

- IC₅₀ vrijednost
- omjer inhibicije (%) pri određenoj koncentraciji

- Spojevi koji pokazuju vrijednosti

- | | | |
|--|---|-----------------------|
| • IC ₅₀ ispod 10 μM | → | "moćni" inhibitori |
| • IC ₅₀ u rasponu od 10 do 100 μM | → | "umjereni" inhibitori |
| • IC ₅₀ većim od 100 μM | → | "slabi" inhibitori |

24,522
Citations

Potraga za prirodnim spojevima kao inhibitorima kolinesteraza „Blago iz morskih dubina”



iz
mikroorganizama

iz algi



iz spužvi

iz
mekušaca



iz morskih
mahovina

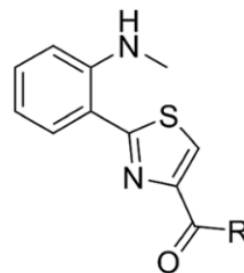
iz
bodljikaša





Inhibitori kolinesteraze iz mikroorganizama

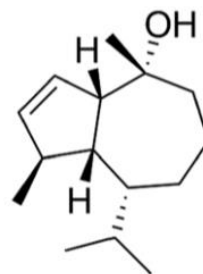
- Izolirano iz bakterija roda *Streptomyces* (otok Jaebu u Južnoj Koreji)
- 2-feniltiazoli anitiaktini (**1–3**)
- sličnu inhibitornu aktivnost AChE ($IC_{50} = 63, 53$ i $68 \mu M$ za **1–3**)



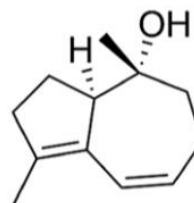
R = OMe, **1**
 R = NH₂, **2**
 R = OH, **3**

- Izolirano iz bakterija roda *Streptomyces* (sediment obale otoka Hainan u Kini)
- streptazolin A i B (**4 i 5**)
- Spoj **4** - umjerena inhibitornu aktivnost AChE ($IC_{50} = 50,6 \mu M$)
- Spoj **5** - neaktivan

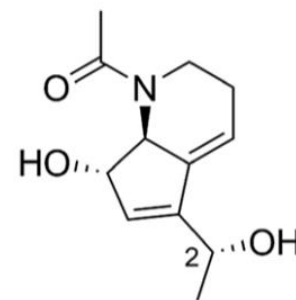
- Izolirano iz bakterija roda *Streptomyces* (izoliranog iz kamenitog koralja *Diploria strigosa* u Južnom Kineskom moru)
- seskviterpeni **6 i 7**
- omjeri inhibicije **6** (82,90%), **7** (80,17%), usporedivo s takrinom (89,72%)



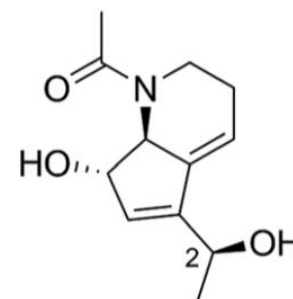
6



7



4

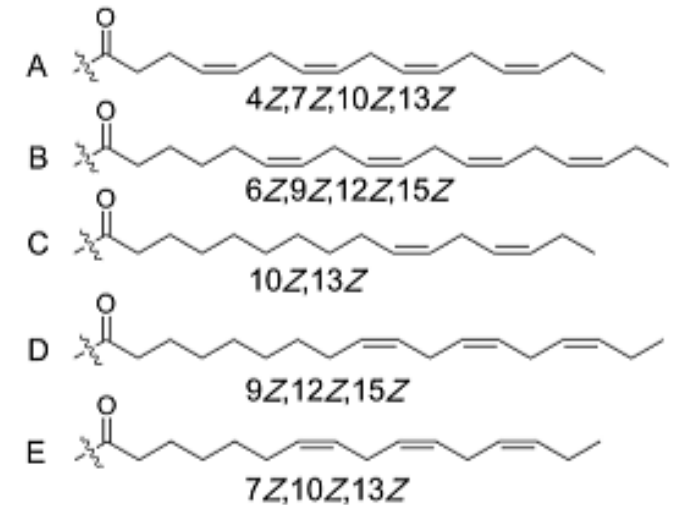
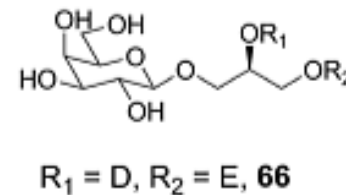
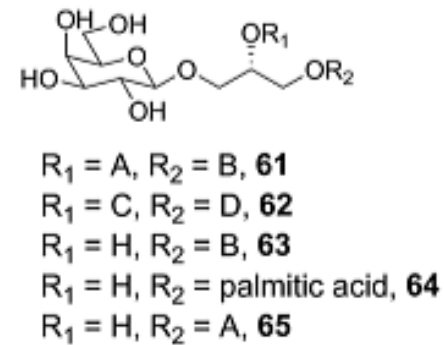


5

Inhibitori kolinesteraze iz algi



- Spojevi izolirani iz zelene alge *Capsosiphon fulvescens* (Korejska obala)
- Izolirano 6 glikolipida (**61–66**)
- Spojevi s dva lipidna lanca pokazali bolju inhibiciju AChE, od spojeva s jednim lipidnim lancem.



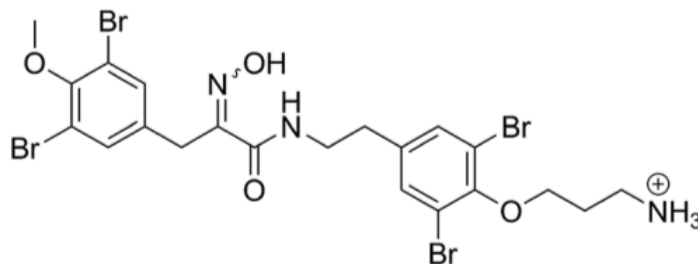
61, 62, 66 ($IC_{50} = 53,13, 51,38, 50,90 \mu M$)

63–65 ($IC_{50} = 82,54, 82,83, 79,34 \mu M$)

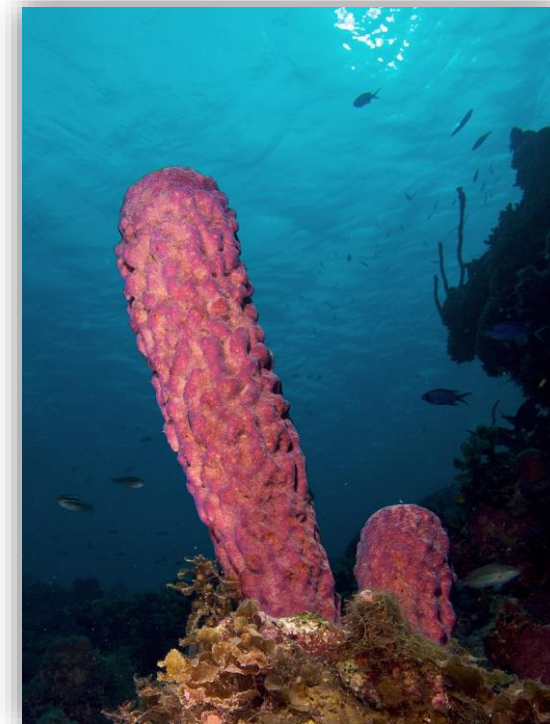
Inhibitori kolinesteraze iz spužvi



- Spužve sadrže veliki broj mikroorganizama (simbiotske i oportunističke vrste)
 - Izvor gotovo polovice svih poznatih morskih prirodnih spojeva
 - Velik broj inhibitora kolinesteraze (halogenirani)

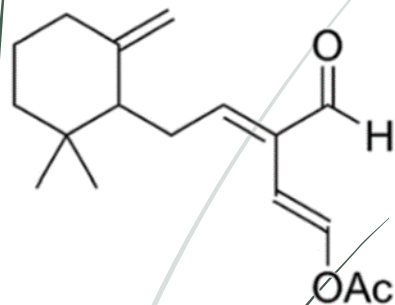


- Aplyzamin-4
 - Reprezentativni primjer
 - Izoliran iz morske spužve iz Crnog mora (*Verongidae*)
- inhibicija AChE (kukci, beskralježnjaci) $K_i = 2 \mu\text{M}$ $\xrightarrow{\text{bazna obrada}}$ $K_i = 22 \mu\text{M}$
- inhibicija eeAChE (kralježnjaci) $K_i = 16 \mu\text{M}$

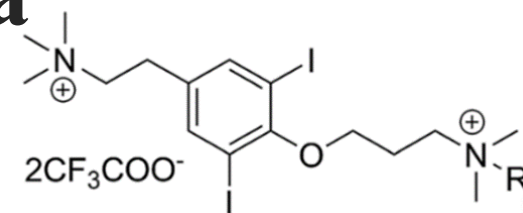




Inhibitori kolinesteraze iz mekušaca



- Spoj onchidal
- izoliran iz morskog puža *Onchidella binneyi* (obalna područjima Pacifika, Kalifornija)
- ireverzibilna inhibicija AChE



R = Me, **174**
R = H, **175**

- Turbotoksin A i B
- izoliran iz morskog puža *Turbo marmoratus*
- Oba spoja su derivati diiodotiramina
- akutna toksičnost (vrijednosti LD₉₉ od 1,0 odnosno 4,0 mg kg⁻¹, model miša)
- Turbotoksin A **174** (IC₅₀ = 28 μM)
- početne neurofarmakološke studije sugeriraju da **174** ne ometa periferni živčani sustav



C. Ireland, D. J. Faulkner, *Bioorg. Chem.* **7** (1978) 125–131.

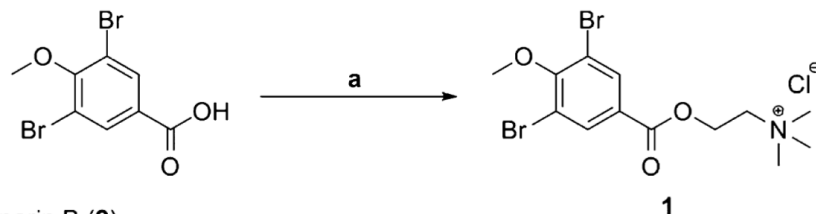
H. Kigoshi, K. Kanematsu, K. Yokota, D. Uemura, *Tetrahedron* **56** (2000) 9063–9070.

https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/162922/tab/fiche

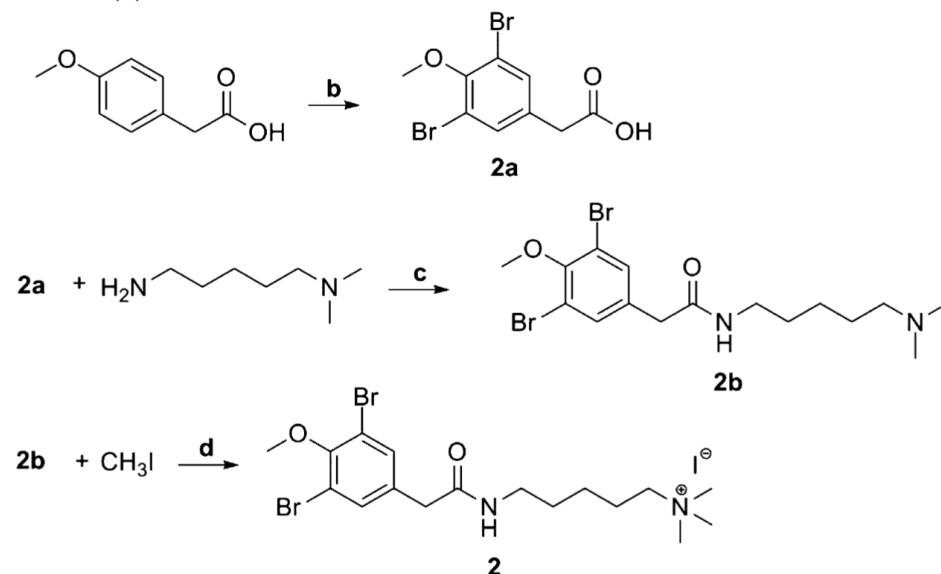
https://www.weimarnaturalien.de/shop/images/product_images/original_images/4119-1-turbo-marmoratus-conchylien-schnecken.jpg

Inhibitori kolinesteraze iz plaštenjaka

Pulmonarin A (1)



Pulmonarin B (2)



^aReagents, conditions, isolated yield: (a) Choline chloride, DMAP, DCC, CH₂Cl₂, rt, 6 days, 4% (HPLC yield); (b) Br₂/FeBr₃,²⁴ CHCl₃, rt, 48h, 21%; (c) HBTU, DIPEA, DMF, rt, 16 h, 57%; (d) K₂CO₃, CH₂Cl₂; 16 h, 13% (HPLC yield).

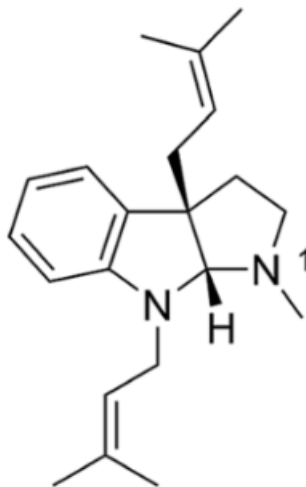
- Pulmonarin A i B
- izolirani iz *Synoicum pulmonaria* (Norveška).
- akutna toksičnost
- prikazana je totalna sinteza

DCC – dicikloheksilkarbodiimin
HBTU – 1,1,3,3-tetrametiluronijev heksafluoro-fosfat

Inhibitori kolinesteraze iz morskih mahovina



► Debromoflustramin B



- Izoliran iz mahovnjaka *Flustra foliacea*
- struktura sadrži pirolidindolinsku jezgru na koju su vezane dvije prenilne skupine
- Prirodni (-) ($IC_{50} = 1,37 \mu M$)
- (+)-enantiomer bio neaktivan



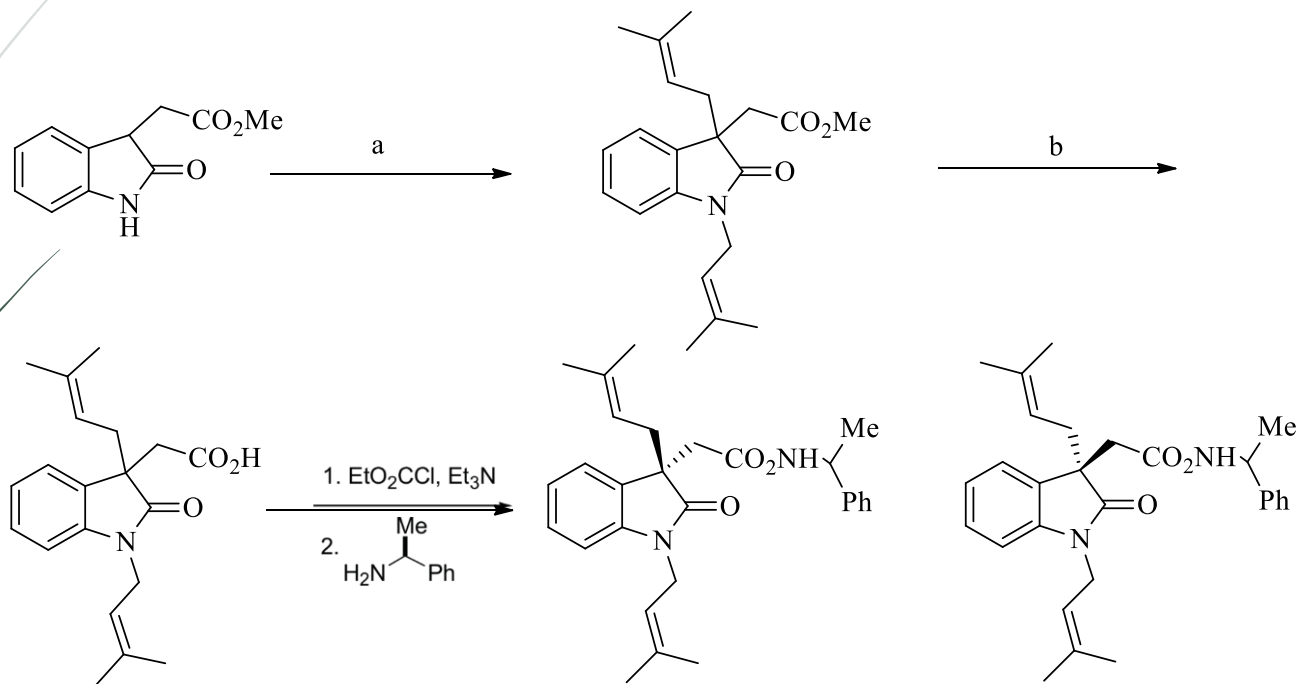
E. Rivera-Becerril, P. Joseph-Nathan, V. c. M. P´erez-Alvarez, M. S. Morales-R´ios, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 5271–5284.

Q. S. Yu, X. F. Pei, H. W. Holloway, N. H. Greig, A. Brossi, *J. Med. Chem.* **40** (1997) 2895–2901.

<https://www.marlin.ac.uk/species/detail/1609>

Inhibitori kolinesteraze iz morskih mahovina

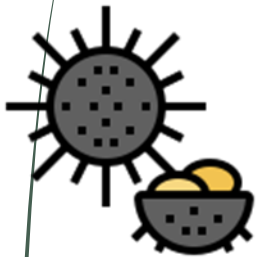
- Debromoflustramin B
- sinteza pojedinačnih enantiomera



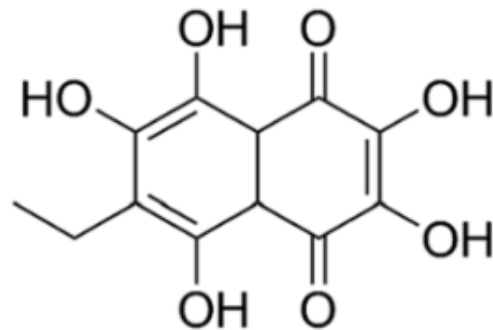
a = 15% aq NaOH/CH₂Cl₂, TBAHS (tetrabutylamonijev hidrogensulfat), prenil-bromid, 5 °C, 5 h

b = 15% aq NaOH/MeOH, 40–50 °C, 1,5 h;

Inhibitori kolinesteraze iz bodljikaša



➤ Ehinokrom A



- polihidroksilirani naftokinonski pigment tamnocrvene boje
- izoliran iz morskog ježinca *Scaphechinus mirabilis*
- umjerena inhibitorna aktivnost AChE ($IC_{50} = 16,4 \mu M$)



S. R. Lee, J. R. D. Pronto, B.-E. Sarankhuu, K. S. Ko, B. D. Rhee, N. Kim, N. P. Mishchenko, S. A. Fedoreyev, V. A. Stonik, J. Han, *Mar. Drugs* **12** (2014) 3560–3573.

<https://www.inaturalist.org/taxa/425095-Scaphechinus-mirabilis>

Zaključak

- Svjetski oceani i mora zastrašujuća su okruženja za farmakognostička istraživanja zbog svoje prostranosti i ogromne biološke raznolikosti.
- U ovom pregledu istaknuti neki od inhibitora kolinesteraze koji su izolirani iz morskog okoliša.
- Neke od klasa spojeva predstavljenih u trenutnom pregledu sadrže spojeve s inhibitornim aktivnostima usporedivim i superiornijim od trenutno odobrenih inhibitora kolinesteraze i mogu predstavljati strukturno raznolike, inspirativne skelete za sljedeću generaciju inhibitora kolinesteraze.

Hvala na pozornosti!