

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας Χημικών Επιστημών



**ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΩΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ
ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗ (AChE) ΚΑΙ
ΒΟΥΤΥΡΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗ (BuChE)**

Διπλωματική Εργασία

Νικόλαος Σαρρής

Επιβλέπουσα: Α. Δέτση, Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούνιος 2023

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της Δρ. Αναστασίας Δέτση, Καθηγήτριας Ε.Μ.Π., κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023.

Καταρχήν οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες στην Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. κα. Αναστασία Δέτση, επιστημονική υπεύθυνη της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο επίκαιρο και ενδιαφέρον θέμα που άπτεται του τομέα της Φαρμακευτικής Χημείας. Η συνεχής και πολύτιμη καθοδήγηση της και η βοήθεια που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας συντέλεσαν καταλυτικά στην επιτυχή ολοκλήρωση της.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω να αποδώσω στον Αλέξανδρο Καλοσπύρο, υποψήφιο διδάκτορα του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας Ε.Μ.Π. για την προθυμία, τις γνώσεις που μου μετέδωσε και την υποστήριξη που ποτέ δεν δίστασε να μου δώσει. Η συνεργασία μας ήταν εξαιρετικά επικοινωνιακή και καθοριστική στην αίσια έκβαση του εγχειρήματος αυτού.

Τέλος, θέλω να εκφράσω τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη στην οικογένειά μου, τους φίλους μου και τους κοντινούς μου ανθρώπους για την συνεχή τους συμπαράσταση, στήριξη και υπομονή καθ' όλη τη διάρκεια φοίτησης μου στο Ε.Μ.Π.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα ένζυμα ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) υδρολύουν τους νευροδιαβιβαστές ακετυλοχολίνη (ACh) και βουτυρυλοχολίνη (BuCh) με αποτέλεσμα να αυξάνουν τα επίπεδα της χολίνης στον εγκέφαλο, το αίμα και τους νευρικούς ιστούς. Ειδικότερα η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) είναι ένα ένζυμο που ανήκει στις α/β υδρολάσες και φυσιολογικό της ρόλο αποτελεί η κατάλυση της υδρόλυσης του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη σε χολίνη και οξικό οξύ. Ωστόσο, η εκτεταμένη μείωση των επιπέδων ακετυλοχολίνης στον οργανισμό μπορεί να οδηγήσει σε προοδευτική νευροεκφυλιστική διαταραχή και πιο συγκεκριμένα δημιουργεί το νευροπαθολογικό προφίλ της νόσου του Alzheimer. Η πιο αποτελεσματική προσέγγιση για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer έως σήμερα είναι η χρήση φαρμάκων-αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Δηλαδή, οι αναστολείς των παραπάνω δύο αυτών ενζύμων εφαρμόζονται ως θεραπευτική αγωγή για τη νόσο Alzheimer, τη νόσο Parkinson και γενικότερα για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Στην πλειονότητα τους οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ή/και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) είναι συνθετικά οργανικά μόρια που έχουν σχεδιαστεί με έμπνευση από φυσικά προϊόντα.

Στη διπλωματική αυτή εργασία πραγματοποιείται βιβλιογραφική ανασκόπηση των εργασιών που αφορούν σε φυσικά προϊόντα που απομονώνονται από φυτικές πηγές και που εμφανίζουν ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ή/και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), ενώ επίσης αναλύεται και η σχέση δομής-δράσης των μορίων αυτών. Αρχικά αναλύεται η παθοφυσιολογία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών και έπειτα παρατίθενται τα ιστορικά στοιχεία, ο μηχανισμός δράσης και τα κλινικά αποτελέσματα από τις δοκιμές λήψης των τεσσάρων εγκεκριμένων από τον FDA φαρμακευτικών ουσιών για τη συμπτωματολογική ύφεση της νόσου του Alzheimer. Μάλιστα, ορισμένα παράγωγα των ενώσεων αυτών παρουσιάζουν εξαιρετική ανασταλτική δράση. Ύστερα, περιγράφεται το πως σχετίζεται ο συντακτικός τύπος των διαφόρων χημικών ενώσεων που απομονώθηκαν από ποικίλα φυτικά εκχυλίσματα με την ανασταλτική τους δραστηριότητα. Από την άλλη πλευρά παρουσιάζονται τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα που εγκυμονεί η συγχορήγηση αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με άλλες φαρμακευτικές ουσίες. Τέλος, αντικείμενο μελλοντικής έρευνας θα μπορούσαν να αποτελέσουν οι προοπτικές εργαστηριακής σύνθεσης φαρμακευτικών ενώσεων με αντι- AChE δράση.

ABSTRACT

The enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) hydrolyze the neurotransmitters acetylcholine (ACh) and butyrylcholine (BuCh) resulting in the increase of choline levels in the brain, blood and nervous tissues. In particular, acetylcholinesterase (AChE) is an enzyme that belongs to α/β hydrolases and its role is to catalyze the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine into choline and acetic acid. However, the extensive reduction of acetylcholine levels in the body can lead to a progressive neurodegenerative disorder and more specifically creates the neuropathological profile of Alzheimer's disease. The most effective approach to treating Alzheimer's disease to date is the use of acetylcholinesterase (AChE) inhibitor drugs. The inhibitors of the above mentioned two enzymes are applied as a treatment for Alzheimer's disease, Parkinson's disease and in general for neurodegenerative diseases. Most of the acetylcholinesterase (AChE) and/or butyrylcholinesterase (BuChE) inhibitors are synthetic organic molecules which have been designed with inspiration from natural products.

In this thesis, a bibliographic review of works related to natural products isolated from plant sources and showing inhibitory activity against acetylcholinesterase (AChE) and/or butyrylcholinesterase (BuChE) is carried out, while the structure-activity relationship of the molecules is also analyzed. First, the pathophysiology of neurodegenerative diseases is analyzed, and then the historical data, the mechanism of action, and the clinical results from trials of four FDA-approved drugs for the symptomatic relief of Alzheimer's disease are listed. In fact, some derivatives of these compounds show excellent inhibitory action. Then, it is described how the structural type of the various chemical compounds isolated from various plant extracts is related to their inhibitory activity. On the other hand, the promising results of co-administration of cholinesterase inhibitors (ChE-Is) with other medicinal substances are presented. Finally, the prospects of laboratory synthesis of pharmaceutical compounds with anti-AChE activity could be an object of future research.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	3
1. ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ- ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ALZHEIMER	7
1.1 Εισαγωγή	7
1.2 Συμπτωματολογία της νόσου του Alzheimer.....	7
1.3 Παθοφυσιολογία της νόσου του Alzheimer.....	7
2. ΟΙ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ FDA ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	8
2.1 Τακρίνη.....	8
2.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή	8
2.1.2 Παράγωγα	9
2.1.3 Χημική δομή των παραγώγων.....	10
2.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο.....	10
2.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο.....	11
3.1 Δονεπεζίλη.....	11
3.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή	11
3.1.2 Παράγωγα	12
3.1.3 Χημική δομή των παραγώγων.....	13
3.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο.....	14
3.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο.....	15
4.1 Ριβαστιγμίνη.....	16
4.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή	16
4.1.2 Παράγωγα	16
4.1.3 Χημική δομή των παραγώγων.....	17
4.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο.....	17
4.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο.....	18
5.1 Γκαλανταμίνη	20
5.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή	20
5.1.2 Παράγωγα	21
5.1.3 Χημική δομή των παραγώγων.....	22
5.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο.....	22
5.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο.....	24
3. ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (ChE-Is) ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ.....	26
3.1 Εισαγωγή	26

3.2 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με φωσφολιπίδια	26
3.3 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με μεμαντίνη	27
3.4 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με αντιοξειδωτικά	28
3.5 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με οζονοθεραπεία	28
3.6 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με κανναβιδιόλη	28
4. ΤΑ ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΟΦΕΛΗ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ FDA ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (ChE-Is)	29
5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΧΗΜΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ-ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ	31
5.1 Εισαγωγή	31
5.2 Αλκαλοειδή	31
5.3 Κουμαρίνες	37
5.4 Διαρυλοεπτανοειδή	40
5.5 Φλαβονοειδή	41
5.6 Φαινανθρένια	45
5.7 Τερπένια	46
5.8 Ξανθονοειδή	48
6. ΣΥΓΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ-ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ	49
7. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΕ ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΚΑΙ Ο ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΔΟΜΗΣ-ΣΥΝΔΕΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ	50
8. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ	53
9. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ	54
10. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ	54
11. ΟΙ ΦΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΩΣ ΦΥΣΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ	55
12. ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΜΕ ΑΝΤΙ-AChE ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ	56
13. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ	58
14. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	59
14.1 Παράγωγα πτεροστυλβενικής β-αμινο αλκοόλης	59
14.2 Παράγωγα αζανθρακινόνης	60
14.3 Παράγωγα σαλικυλαμιδίου	61
14.4 Παράγωγα 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης	62
14.5 Παράγωγα πολυυποκατεστημένης πυρρόλης	63
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	65
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α-ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΦΥΤΩΝ ΜΕ IN VITRO ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ	88
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ	93

1. ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ- ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ALZHEIMER

1.1 Εισαγωγή

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες είναι μια ομάδα χρόνιων προοδευτικών ασθενειών του νευρικού συστήματος που βασίζονται στον πρωτογενή εκφυλισμό των νευρώνων συμπεριλαμβανομένης κυρίως της νόσου του Alzheimer, της νόσου του Parkinson, της αμυοτροφικής πλευρικής σκλήρυνσης και ούτω καθεξής.^[1] Είναι ευρέως γνωστό πως με την πάροδο της ηλικίας οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες γίνονται πιο συχνές λόγω της συσσώρευσης της βλάβης του γενετικού υλικού (DNA) και άλλων ασθενειών όπως ο εκφυλισμός των πρωτεϊνών^[2]. Ειδικότερα, η νόσος Alzheimer (AD) είναι η κύρια αιτία της άνοιας αντιπροσωπεύοντας έως και το 75% του συνόλου της άνοιας και συσχετίζεται κυρίως με τη γήρανση του πληθυσμού. Το γεγονός αυτό ασκεί σημαντικότερες επιδράσεις στον τρόπο χάραξης της πολιτικής της δημόσιας υγείας στα ανά τον κόσμο ιατρικά συστήματα και στο άμεσο και έμμεσο κόστος που αυτή ενέχει.^{[3][4][5]} Σήμερα, η κατανομή της AD σε άτομα άνω των 60 υπολογίζεται σε 40,2 ανά 1000 ενώ το ποσοστό των ασθενών που εμφανίζουν συμπτώματα είναι 34,1 ανά 1000.^{[4][6]} Οι παραπάνω αυτές τιμές υποδηλώνουν ότι πάνω από 45 εκατομμύρια άνθρωποι πάσχουν από συμπτώματα AD παγκοσμίως και ο αριθμός αυτός αναμένεται να διπλασιάζεται κάθε 20 χρόνια μέχρι τουλάχιστον το 2050.^[5]

1.2 Συμπτωματολογία της νόσου του Alzheimer

Η AD είναι μια διανοητική νευροεκφυλιστική διαταραχή που προκαλείται από οργανική εγκεφαλική βλάβη και χαρακτηρίζεται από σταδιακή απώλεια μνήμης και κρίσης, γλωσσική και γνωστική δυσλειτουργία, έντονη αποχή από τις καθημερινές δραστηριότητες, κοινωνικές δυσκολίες και με μια ποικιλία από νευροψυχιατρικά συμπτώματα όπως π.χ. ανωμαλίες συμπεριφοράς και αφηρημένη σκέψη.^{[7][15]} Συνήθως, η ασθένεια είναι εξελικτική με αποτέλεσμα οι πάσχοντες να χάνουν την ικανότητα να ζουν ανεξάρτητα με υπαρκτό ακόμα και τον κίνδυνο του θανάτου λόγω επιπλοκών ύστερα από 10-20 χρόνια ζωής.^[8]

1.3 Παθοφυσιολογία της νόσου του Alzheimer

Η αιτιολογία και η παθολογία της AD δεν είναι πλήρως κατανοητές αλλά είναι βέβαιο ότι σχετίζονται με τη γήρανση και την κληρονομικότητα. Τρία παθογόνα γονίδια έχουν ταυτοποιηθεί ότι σχετίζονται με τη παθογένεση της AD συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων γήρανσης 1 και 2, του γονιδίου της πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς και του γονιδίου της απουροειδούς πρωτεΐνης E^[2]. Παρ' όλες τις προαναφερθείσες αναφορές η επικρατούσα ερμηνεία του μηχανισμού έναρξης της νόσου Alzheimer είναι αυτή της χολινεργικής βλάβης^{[10][11]}. Πιο συγκεκριμένα, οι παθοφυσιολογικές διεργασίες που περιγράφονται για την εξέλιξη της AD εμπλέκουν τον εκφυλισμό των νευρώνων και των συνάψεων που προκύπτει από συσσωμάτωση τοξικών πεπτιδίων όπως πρωτεΐνης β-αμυλοειδούς (Aβ) και υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης Ταυ (P-Ταυ).^{[12][13][14]} Οι ενδονευρωνικές συσσωματώσεις επιφέρουν νευροφλεγμονή, μιτοχονδριακή βλάβη, οξειδωτικό στρες και διεγερτική τοξικότητα και παρεμβαίνουν σε αρκετά μονοπάτια σηματοδότησης των νευροδιαβιβαστών. Η ισορροπία των διαφόρων συστημάτων νευροδιαβιβαστών όπως η ακετυλοχολίνη (ACh), η

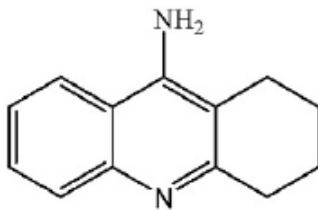
νοραδρεναλίνη, η ντοπαμίνη, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ, η σεροτονίνη και το γλουταμινικό οξύ είναι άκρως απαραίτητα για την εύρυθμη λειτουργία του εγκεφάλου^[16]. Αν και το χολινεργικό σύστημα δεν είναι το μόνο σύστημα νευροπομπού που επηρεάζει τη γνωστική εξασθένηση των ενηλίκων, εντούτοις η ανεπαρκής λειτουργία της χολινεργικής νευροδιαβίβασης φαίνεται ότι εμπλέκεται σημαντικά στην αδυναμία μάθησης και την εξασθένηση της μνήμης, στοιχεία άρρηκτα συνδεδεμένα με τη νόσο Alzheimer^[17]. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από το γεγονός πως από τις αρχές της δεκαετίας του '70 παρατηρήθηκε μια πρόωρη απώλεια των βασικών χολινεργικών νευρώνων του πρόσθιου εγκεφάλου ύστερα από εξέταση στους εγκεφάλους ασθενών με AD^[18]. Επίσης, διαπιστώθηκε αξιοσημείωτη νευροχημική μείωση της ακετυλοχολίνης (ACh) δηλαδή του βιοσυνθετικού ενζύμου χολίνη ακετυλοτρανσφεράση (ChAT) σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη γνώση όπως ο εγκεφαλικός φλοιός και ο ιππόκαμπος^[17]. Η ACh αποικοδομείται υδρολυτικά στον εγκέφαλο από δύο εστεράσες χολίνης, την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE). Η υπερδραστηριότητα των δύο αυτών ενζύμων προκαλεί έντονη αποσύνθεση και υποβάθμιση του νευροδιαβιβαστή με αποτέλεσμα τη μειωμένη απελευθέρωσή του στις συναπτικές σχισμές των νευρώνων. Η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) είναι ένα ένζυμο που ανήκει στις α/β υδρολάσες και ο κύριος ρόλος που επιτελεί είναι η κατάλυση της υδρόλυσης του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη σε χολίνη και οξικό οξύ, μια αντίδραση απαραίτητη ώστε οι χολινεργικοί νευρώνες να επιστρέψουν σε κατάσταση ηρεμίας κατόπιν της ενεργοποίησής τους. Όσον αφορά τη δομή του μορίου της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), αυτή συγκροτεί ένα βαθύ στενό «φαράγγι» στη μέση του ενζύμου το οποίο περιέχει ποικίλες θέσεις πρόσδεσης των διαφόρων αναστολέων χολινεστερασών.

2. ΟΙ ΤΕΣΣΕΡΙΣ ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ FDA ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

2.1 Τακρίνη

2.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή

Το παράγωγο τετραϋδροακριδίνης τακρίνη είναι ένας αναστρέψιμος αναστολέας τόσο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) όσο και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE)^[19]. Αυτή η ένωση έδειξε θετικές επιδράσεις στη λειτουργία της μνήμης σε νεαρούς και φυσιολογικούς ηλικιωμένους και ήταν το πρώτο μόριο που εισήχθη σε κλινικές δοκιμές για την θεραπεία της AD. Οι μελέτες με τακρίνη ξεκίνησαν το 1984 αλλά το φάρμακο εγκρίθηκε από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) για συμπτώματα της AD και των σχετικών ανοιών το 1993^[16]. Στο σημείο αυτό αξίζει να τονιστεί πως η τακρίνη αποσύρθηκε από την αγορά το 2013 λόγω της ηπατοτοξικότητάς της. Η τακρίνη είναι ένας μη ειδικός αναστολέας χολινεστερασών (ChE-I) με μεταβλητή απορρόφηση, εκτεταμένη κατανομή και διεισδύει στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Παρά το ενδεχόμενο μελλοντικό ενδιαφέρον της τακρίνης, η αποτελεσματικότητά της στα συμπτώματα της άνοιας παραμένει αμφιλεγόμενη.^[17]



Εικόνα 1: Χημική δομή της τακρίνης

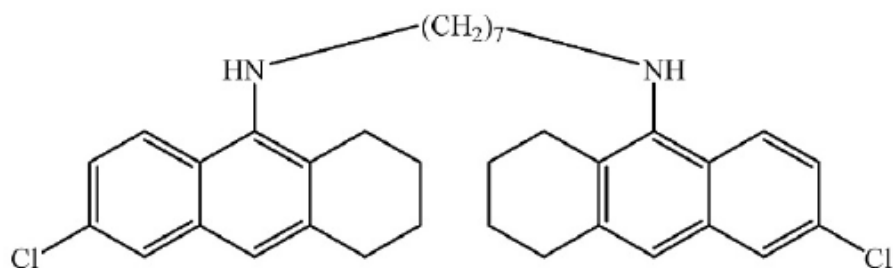
2.1.2 Παράγωγα

Τα θετικά αποτελέσματα της τακρίνης (1,2,3,4-τετραϋδροακρινιδιν-9-αμίνη) που απορρέουν λόγω της ισχυρής σύνδεσής της με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) μετριάστηκαν από το προφίλ τοξικότητάς της^[20]. Μετά την απόσυρσή της έγιναν πολλές προσπάθειες για να συντεθούν νέα παράγωγά της με σκοπό την αισθητή μείωση των παρενεργειών της. Αυτή η στρατηγική οδήγησε στην ανάπτυξη αρκετών υβριδίων τακρίνων όπως ομο/ετεροδιμερή ή υβρίδια δύο μονάδων γνωστά για τις ιδιότητες τους κατά της AD^{[21][22][23]}. Αυτές οι ενώσεις περιέχουν συμπυκνωμένους αρωματικούς πυρήνες και περιλαμβάνουν τεταρτοταγές αμμώνιο ή άζωτο ως ετεροάτομο. Τα περισσότερα από τα παράγωγα που βασίζονται στην τακρίνη έδειξαν ευεργετικές δραστηριότητες τόσο *in vitro* (βιολογικές διεργασίες σε δοκιμαστικούς σωλήνες) όσο και *in vivo* (βιολογικές διεργασίες σε ζώντες οργανισμούς) γεγονός που αποδείχτηκε από την υψηλή συνδετική ικανότητα τους^{[24][25][26]}. Το ικρίωμα της τακρίνης είναι ένα ιδανικό σημείο εκκίνησης για το σχεδιασμό ισχυρών εκλεκτικών υποκαταστατών.

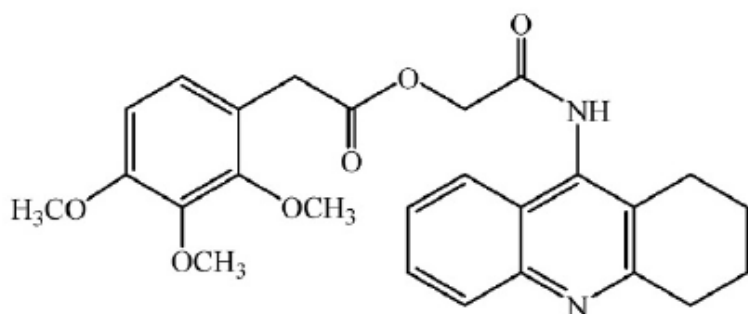
Μια από τις πρώτες επιτυχημένες προσπάθειες για τη σύνθεση αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης πραγματοποιήθηκε με την ανάπτυξη μιας σειράς διστακρινικών αναλόγων που συνδέονται με μια αλυσίδα αλκυλενίου. Μερικά από αυτά τα διμερή μόρια έδειξαν μεγαλύτερη ισχύ και εκλεκτικότητα αναστολής ως προς την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) από την τακρίνη^[27]. Η πιο δραστήρια ένωση από τη σειρά των διστακρινικών αναλόγων ήταν η δις-(6-χλωρο)-τακρίνη συνδεδεμένη με επτυλένιο με ισχύ αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) στον αρουραίο 3000 φορές υψηλότερη από την τακρίνη. Πολλά παράγωγα τακρίνης σαν και τα παραπάνω συντέθηκαν με καλή ικανότητα να αναστέλλουν την ακετυλοχολινεστεράση (AChE). Μια σειρά βενζοϊκών ή φαινυλοξικών ή κινναμικών υβριδίων τακρίνων τράβηξε ιδιαίτερη προσοχή. Η πιο δραστήρια ένωση αυτής της σειράς εκτός από μια εξαιρετική ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) παρουσίασε επίσης μια ενδιαφέρουσα ικανότητα αποτροπής συσσωμάτωσης πρωτεΐνης Αβ με τιμή $IC_{50}=51,81nM$ ^[28]. Τέλος, υβρίδια τακρίνων-παραγώγων βενζοφουρανίου έδειξαν πολύ καλή ανταπόκριση στην αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) σε μικρομοριακό εύρος και καλή ικανότητα αποτροπής της συσώρευσης πρωτεΐνης Αβ με αποτελεσματικότητα εξαρτώμενη από το μέγεθος του συνδέτη και των διαφόρων ομάδων υποκαταστατών.^[29]

2.1.3 Χημική δομή των παραγώγων

Η δομή των παραγώγων της τακρίνης παρουσιάζεται στις ακόλουθες εικόνες.



Εικόνα 2: Χημική δομή της δις-(6-χλωρο)-τακρίνης συνδεδεμένης με επτυλένιο



Εικόνα 3: Χημική δομή του πιο δραστικού υβριδίου τακρίνης-βενζοφουρανίου

2.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο

Η τακρίνη αναπτύχθηκε ως αντιβακτηριακός παράγοντας αλλά αποδείχτηκε ότι διαθέτει ασθενή βακτηριογόνο ισχύ και παρουσίασε βελτίωση της αναπνοής σε ζώα τα οποία ναρκώθηκαν με μορφίνη^[30]. Η τακρίνη στην πραγματικότητα είναι ένας ισχυρός αναστολέας χολινεστερασών (ChE-I)(IC₅₀=125±23nM) που ενισχύει τη χολινεργική μετάδοση στον εγκέφαλο και στην περιφέρεια του. Έχει περίπου 100 φορές πιο ανασταλτική δράση έναντι της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) συγκριτικά με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE), γεγονός το οποίο θα μπορούσε να εξηγήσει τη βελτίωση της αναπνοής σε ζώα τα οποία ναρκώθηκαν με μορφίνη^[30]. Ο μηχανισμός δράσης της τακρίνης δεν είναι πλήρως γνωστός ωστόσο αποδεικνύεται πως αποτελεί έναν παράγοντα απενεργοποίησης της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) που δεσμεύεται αναστρέψιμα σ' αυτήν και αδρανοποιεί τις χολινεστεράσες. Αυτό αναστέλλει την υδρόλυση της ακετυλοχολίνης (ACh) που απελευθερώνεται από τους λειτουργούντες χολινεργικούς νευρώνες οδηγώντας σε συσώρευση του νευροδιαβιβαστή στις χολινεργικές συνάψεις. Η τακρίνη ρυθμίζει διαφορετικά συστήματα νευροδιαβιβαστών αλληλεπιδρώντας με τους μουσκαρινικούς και νικοτινικούς υποδοχείς εμφανίζοντας 100 φορές μεγαλύτερη συγγένεια προς τους μουσκαρινικούς υποδοχείς. Αυξάνει την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης (ACh) αναστέλλοντας τους προσυναπτικούς υποδοχείς M1 και τις δύο ισομορφές των μονοαμινοξειδασών MAO. Επιπρόσθετα, η τακρίνη μπλοκάρει το κανάλι του

καλίου.^[31] Το φαρμακολογικό προφίλ της τακρίνης εξετάστηκε μέσα από αρκετές μελέτες όπου διαπιστώθηκε πως η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση τακρίνης στους αρουραίους προκάλεσε δόσοεξαρτώμενες αυξήσεις στη σιελόρροια και τρόπο με πιο παρατεταμένη την επίδραση στον τρόπο καθιστώντας αυτές τις επιδράσεις το αποτέλεσμα μιας εκλεκτικής δραστηριότητας του κεντρικού νευρικού συστήματος.^{[32][33]} Τέλος, μελέτες μικροδιάλυσης *in vivo* στον εγκεφαλικό φλοιό έδειξαν ότι η τακρίνη επέφερε μια τριπλάσια αύξηση παραγωγής της ακετυλοχολίνης (ACh) στην εξωκυτταρική περιοχή.^[34]

2.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο

Η τακρίνη ήταν ο πρώτος αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) που εισήχθη σε κλινική χρήση για θεραπεία της AD και εγκρίθηκε για χρήση στις ΗΠΑ το 1993 με την ένδειξη της συμπτωματικής θεραπείας ήπιου έως μέτριου βαθμού άνοιας τύπου Alzheimer. Η ένωση διατέθηκε στην αγορά σε κάψουλες των 10, 20, 30 και 40 mg με την εμπορική ονομασία Coghex. Η συνιστώμενη δόση είναι 20-40 mg τέσσερις φορές την ημέρα. Κλινικές δοκιμές με τακρίνη πραγματοποιήθηκαν σε 12500 ασθενείς με AD στα πλαίσια ενός θεραπευτικού ερευνητικού προγράμματος (TIND) με σκοπό την ανακάλυψη νέου φαρμάκου. Οι κλινικές επιδράσεις της τακρίνης αξιολογήθηκαν σε περισσότερους από 190000 ασθενείς με AD που έλαβαν τακρίνη κατά τα δύο πρώτα χρόνια εφαρμογής του προγράμματος.^[35]

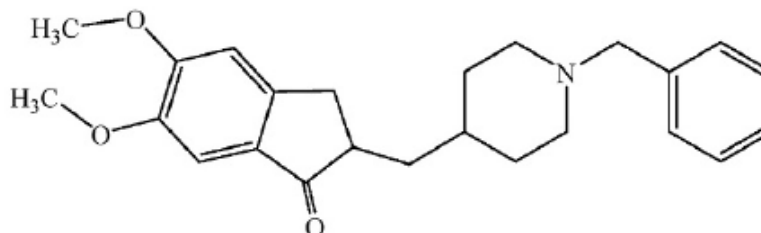
Όσον αφορά την ανάλυση της γνωστικής λειτουργίας και των διαταραχών συμπεριφοράς όπως αυτές αξιολογήθηκαν από την κλίμακα ADAS τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τακρίνης και εικονικού φαρμάκου^[33]. Ωστόσο, η χρήση τακρίνης δεν άργησε να συνοδευτεί από υψηλή συχνότητα χολινεργικών παρενεργειών. Στο 29% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία, η αμινοτρανσφεράση της αλανίνης εμφάνισε ανύψωση τρεις φορές πάνω από το φυσιολογικό, το 28% παρουσίασε ναυτία και έμετο, το 14% διάρροια, το 9% δυσπεψία ή ανορεξία και στο 7.5% παρατηρήθηκε μυαλγία^[36]. Επίσης θεραπεία ασθενών με AD με τακρίνη συσχετίστηκε με ασυμπτωματική ανύψωση ορού αμινοτρανσφεράσης σχεδόν στους μισούς ασθενείς και εντός 6-8 εβδομάδων από την έναρξη θεραπείας. Δυστυχώς, οι δυσμενείς παρενέργειες και η ταλαιπωρία που επήλθαν με τη χορήγηση τακρίνης καθώς και η διαθεσιμότητα άλλων αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is), ενδεχομένως περισσότερο ανεκτών οδήγησαν στην απόσυρση της τακρίνης από την αγορά το 2013.

3.1 Δονεπεζίλη

3.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή

Πρόκειται για έναν νέο αναστρέψιμο αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) δομικά διαφορετικό από την τακρίνη που προέρχεται από το indanone και αναπτύχθηκε το 1983 από τη Sugimoto και τους συνεργάτες της στο ερευνητικό εργαστήριο Eisai στην Ιαπωνία^[37]. Η δονεπεζίλη ήταν το δεύτερο φάρμακο που εγκρίθηκε από τον FDA το 1996 για ήπιου έως μέτριου βαθμού νόσο Alzheimer και στη συνέχεια το 2010 θεσμοθετήθηκε η χρήση της για μέτρια έως σοβαρή AD στη συνιστώμενη δόση των 23mg την ημέρα.^[38] Η δονεπεζίλη με την εμπορική ονομασία

Aricept είναι ένας εξαιρετικά εκλεκτικός και αναστρέψιμος αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) που δρα κεντρικά αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα της ακετυλοχολίνης (ACh) στη συναπτική σχισμή του εγκεφάλου.^[39]



Εικόνα 4: Χημική δομή της donepezilης

3.1.2 Παράγωγα

Η donepezilη (2-((1-βενζυλοπiperιδίνη-4-υλ) μεθυλο)-5,6-διμεθοξυ-2,3-διυδρο-1H-ινδεν-1-όνη) έχει υψηλή ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση (AChE) με τιμή IC₅₀=5,7nM και εκλεκτική συγγένεια περίπου 1250 φορές μεγαλύτερη για την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) παρά για τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE).

Πολλά παράγωγα donepezilης συντέθηκαν συνδέοντας τη donepezilη με τμήματα όπως βενζοφαινόνη, ινδανόνη, κουμαρίνη, 5-6-διμεθοξυ-βενζοφουρανόνη, βενζυλοπυριδίνιο-χαλκονοειδή και μερικά από αυτά αποδείχτηκε ότι είναι εξαιρετικοί αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^{[40][41][42][43][44][45]}

Τα τελευταία χρόνια νέες θεωρίες που ασχολούνται με την έναρξη και την εξελικτική πορεία της νόσου του Alzheimer προτάθηκαν έχοντας ως βάση τις πρωτεΐνες Αβ και ταυ. Αυτές περιλαμβάνουν νευροτοξικούς παράγοντες, οξειδωτικό στρες, υπερφόρτωση σιδήρου και υψηλά επίπεδα χοληστερόλης στους νευρώνες τα οποία πυροδοτούν μια ανώμαλη και μη φυσιολογική σηματοδότηση στον εγκέφαλο προάγοντας με αυτό τον τρόπο την παραγωγή υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης ταυ. Η έρευνα της φαρμακευτικής χημείας κατευθύνθηκε στη ταυτοποίηση υβριδικών ενώσεων ικανών αφενός να θεραπεύσουν την AD στοχεύοντας τη χολινεργική νευροδιαβίβαση όπως οι αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) και αφετέρου να αποτρέψουν το σχηματισμό και την εναπόθεση πρωτεΐνης Αβ.

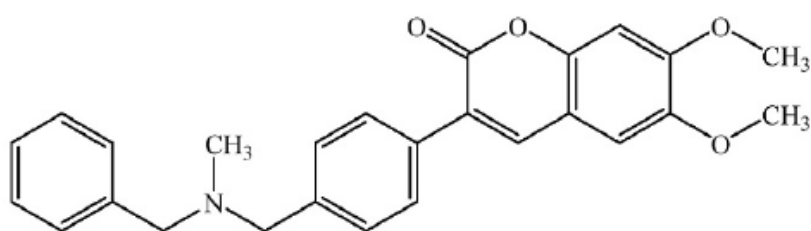
Μεταξύ των παραγώγων donepezilης, ανακαλύφθηκε πως μια σειρά παραγώγων 2-φαινοξυ-ινδαν-1-όνης με πλευρική αλκυλαμίνης διέθεταν εξαιρετική ανασταλτική δράση τόσο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) όσο και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), αλλά παράλληλα και αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική δράση^[46]. Ειδικότερα, η ένωση AP2238 έδειξε μια ενδιαφέρουσα ικανότητα να αλληλεπιδρά με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και ταυτόχρονα να αναστέλλει την προσυσσωμάτωση της πρωτεΐνης Αβ^[47]. Λίγα χρόνια αργότερα συντέθηκε μια σειρά υβριδικών ενώσεων που περιείχαν ένα φαρμακοφορικό θραύσμα donepezilης^[48]. Μερικές από αυτές εμφάνισαν καλή δράση κατά της

ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και ανέστειλαν τη συσσωμάτωση της πρωτεΐνης Αβ σε παρόμοιο βαθμό με τη donepezil. Στο σημείο αυτό πρέπει να επισημανθεί πως ξεκινώντας από την παρατήρηση ότι οι μονοαμινοξειδάσες (MAO) καταλύοντας την οξειδωτική απαμίνωση των μονοαμινών, παράγουν υπεροξείδιο του υδρογόνου που εμπλέκεται στη δημιουργία οξυγονωμένων τοξικών ριζών, συντέθηκε σε νανομοριακή συγκέντρωση μια νέα κατηγορία ενώσεων (MAO-A) ικανές να αναστέλλουν την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE)^[49]. Επίσης, ο συνδυασμός της donepezil με τη harrigine οδηγεί στη σύνθεση του υβριδικού μορίου AVCR1104P4 το οποίο είναι πιθανή υποψήφια ένωση για τη θεραπεία της AD^[50]. Και αυτό διότι εμφανίζει ανασταλτική δραστηριότητα έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), της β-εκκρίτασης (BACE-1) και της συσσωμάτωσης πρωτεΐνης Αβ.

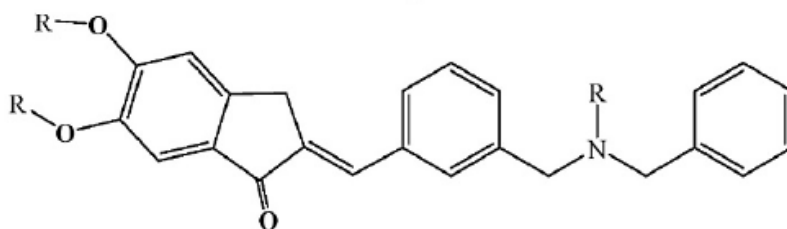
Πρόσφατα συντέθηκε μια νέα σειρά υβριδικών παραγώγων N-βενζυλ-πιπεριδίνη-αρυλ-ακυλδραζονών από το συνδυασμό της υπομονάδας N-βενζυλ-πιπεριδίνης της donepezil με το θραύσμα υδροξυ-πιπεριδίνης του AChE-I LASS Bio-767 χρησιμοποιώντας έναν συνδέτη ακυλδραζόνης. Η περισσότερο δραστική ένωση της παραπάνω σειράς εκτός από τη συνήθη ευεργετική επίδραση παρουσίασε και αντιφλεγμονώδη δράση που καταπολεμά το σχηματισμό πρωτεΐνης Αβ^[51]. Τέλος, συντέθηκαν δύο νέα υβρίδια που περικλείονται από τα τμήματα ινδανόνης-πιπεριδίνης της donepezil και του άλφα-λιποϊκού οξέος^{[52][53][54]}. Ένα από αυτά έδειξε ενδιαφέροντα αποτελέσματα αφού ακόμα και αν εμφάνιζε μέτρια ανασταλτική ικανότητα έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) με πιο έντονη ανασταλτική δράση της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), έδειξε οξειδωτική ιδιότητα μεγαλύτερη και από αυτή του ίδιου του άλφα-λιποϊκού οξέος.^[52]

3.1.3 Χημική δομή των παραγώγων

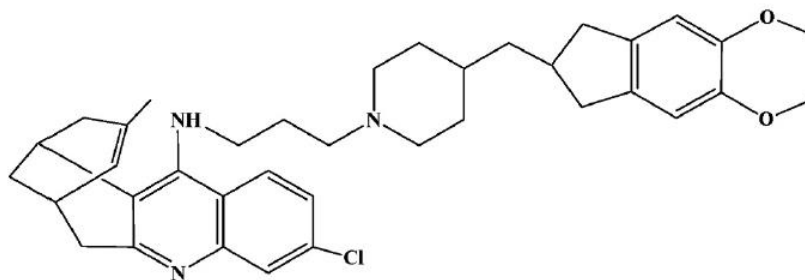
Η δομή των παραγώγων της donepezil παρουσιάζεται στις ακόλουθες εικόνες.



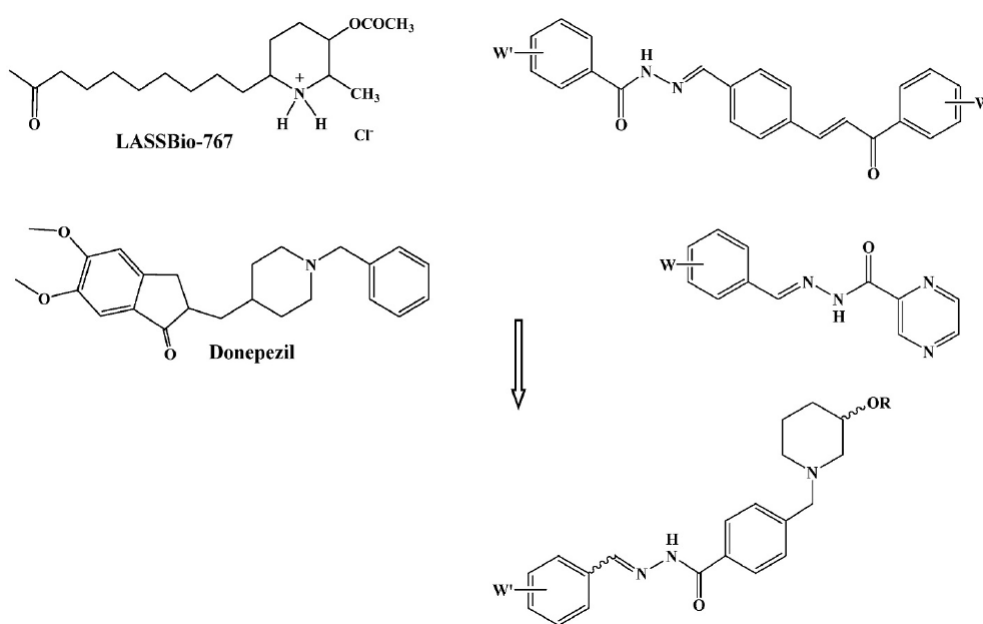
Εικόνα 5: Χημική δομή της ένωσης AP2238



Εικόνα 6: Γενική χημική δομή των υβριδικών ενώσεων που φέρουν ένα φαρμακοφορικό θραύσμα donepezil και AP2238



Εικόνα 7: Χημική δομή της ένωσης AVCRI104P4



Εικόνα 8: Γενική χημική δομή των υβριδικών N-βενζυλ-πιπεριδίνη-αρυλ-ακυλοδραζονών

3.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο

Η donepezil έχει αρκετές φαρμακολογικές ιδιότητες που συσχετίζονται με τη ρύθμιση διαφορετικών συστημάτων νευροδιαβιβαστών όπως οι α1 αδρενεργικοί υποδοχείς, με τη βελτίωση της νευρωνικής πλαστικότητας, με τη μείωση της προφλεγμονώδους κυτοκίνης και με τη βελτίωση της εγκεφαλικής ροής του αίματος. Επιπλέον, μειώνει το επίπεδο της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (APP) και την επακόλουθη διεγερτική τοξική βλάβη, ρυθμίζει τις χολινεργικές επιδράσεις και το οξειδωτικό στρες, επηρεάζει την έκφραση της ισομορφής της

ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και αλληλεπιδρά αποτελεσματικά με τη ρύθμιση των νικοτινικών υποδοχέων στον εγκεφαλικό φλοιό.^[54]

Με τη συμβολή μακροχρόνιων ερευνών των γνωστικών επιδράσεων διαφορετικών δόσεων δονεπεζίλης σε ελλείμματα μνήμης που εξαρτώνται από τον ιππόκαμπο ύστερα από βλάβες διαφορετικών περιοχών του εγκεφάλου διαπιστώθηκε πως η δονεπεζίλη σε δόση των 0.1mg/kg ήταν αναποτελεσματική^[55]. Μια ημερήσια δόση δονεπεζίλης των 0.75mg/kg σε ηλικιωμένους αρουραίους Fisher ξεκινώντας 4 ημέρες πριν από τη δοκιμή και συνεχίζοντας για 15 ημέρες έδειξε μια βελτιωμένη πρόσληψη και συγκράτηση νερού^[56]. Δόσεις δονεπεζίλης των 0.25 και 0.5mg/kg προκάλεσαν σημαντική βελτίωση στην απόδοση συγκράτησης νερού.^[57] Επίσης, η δονεπεζίλη στη δόση των 3mg/kg στους αρουραίους βελτίωσε τον υδάτινο λαβύρινθο στον αλλοιωμένο από ιβοτενικό οξύ εντερικό φλοιό σε σύγκριση με ζώα που έχουν υποστεί βλάβη χωρίς να υποβληθούν σε κάποιο είδους θεραπεία.^[58] Ωστόσο, δόση δονεπεζίλης των 0.695mg/kg την ημέρα για 3 εβδομάδες πριν από τη δοκιμή και για τις επόμενες 2 εβδομάδες με υποδόρια χορήγηση δεν βελτίωσε την απόδοση του ακτινικού βραχίονα του λαβυρίνθου σε ηλικιωμένους αρουραίους.^[59]

3.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο

Συλλογικές προκλινικές μελέτες με δονεπεζίλη υποδηλώνουν ότι η ένωση έχει θετικά αποτελέσματα σε τεστ μνήμης όπου κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζει ο ιππόκαμπος του εγκεφάλου.^[60] Τα νευροπροστατευτικά οφέλη της δονεπεζίλης που καταδεικνύονται είτε με in vivo είτε με in vitro πειράματα σε πάσχοντες από AD πιθανώς δεν σχετίζονται με την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) που προκαλείται από την ένωση.^[61] Ειδικότερα, ο νευροπροστατευτικός μηχανισμός εμφανίζεται μετριάζοντας την επαγόμενη από την πρωτεΐνη Αβ τοξικότητα μέσω των οδών $\alpha 7nAChRs$ και PI3K-Akt. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η δονεπεζίλη μπορεί να αποτρέψει τη συστηματική φλεγμονή στον εγκέφαλο και τη σπλήνα καταστέλλοντας την έκφραση της IL-1 β και της 2-κυκλοοξυγενάσης.^[61] Επιπρόσθετα, η δονεπεζίλη έδειξε προστατευτική δράση έναντι της στέρσης οξυγόνου-γλυκόζης. Όλα τα προαναφερθέντα δεδομένα οδηγούν στην υπόθεση ότι η δονεπεζίλη είναι ικανή αφενός να προστατεύσει αποτελεσματικά το φλοιό των νευρωνικών κυττάρων και αφετέρου να παρεμποδίσει την ατροφία του ιππόκαμπου συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στη διατήρηση της λειτουργικής εγκεφαλικής δραστηριότητας.^[62]

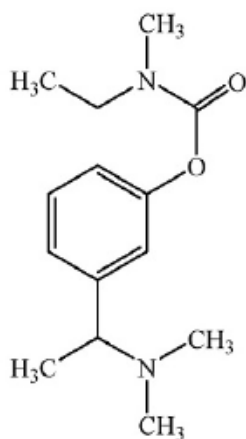
Όσον αφορά τη φαρμακοκινητική, η δονεπεζίλη εμφανίζει 100% βιοδιαθεσιμότητα, φτάνει τη μέγιστη ποσότητα στο πλάσμα σε 3-4 ώρες, μεταβολίζεται από τα ηπατικά P-450 ένζυμα CYP2D6 και CYP3A4 και έχει χρόνο ημιζωής περίπου 60-90 ώρες. Το γεγονός αυτό επιτρέπει τη χορήγηση της ένωσης μια φορά σε μια ημερήσια δόση λόγω της μεγάλης ημιζωής της.^[63] Εκτεταμένες έρευνες δείχνουν ότι η δονεπεζίλη σε δόσεις των 5 και 10mg/ημέρα βελτιώνει σημαντικά τις γνωστικές λειτουργίες και τις δραστηριότητες της καθημερινής ζωής σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD. Ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τη χρήση δονεπεζίλης αποδείχθηκε ότι είναι κυρίως χολινεργικές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ανεπιθύμητες ενέργειες

που αναφέρθηκαν είναι κυρίως ήπιες και δοσοεξαρτώμενες δηλαδή αυξάνονται όσο αυξάνεται η δόση οδηγώντας ορισμένους ασθενείς στη διακοπή της θεραπείας.^[64]

4.1 Ριβαστιγμίνη

4.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή

Το 2000 ο FDA ενέκρινε την εμπορία του σκευάσματος της ριβαστιγμίνης με την εμπορική ονομασία Exelon, ενός ψευδο-μη αναστρέψιμου καρβαμιδικού εκλεκτικού αναστολέα ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) για τη θεραπεία της ήπιας έως μέτριας AD και το 2006 για τη θεραπεία επίσης της ήπιας έως μέτριας ασθένειας του Parkinson.^[65] Ειδικότερα, πρόκειται για έναν αργό και αναστρέψιμο αναστολέα των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) που δεν μεταβολίζεται στο ήπαρ από το σύστημα CYP-450. Αυτή η ιδιότητα οδηγεί σε λιγότερες αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-φαρμάκου.^[66]



Εικόνα 9: Χημική δομή της ριβαστιγμίνης

4.1.2 Παράγωγα

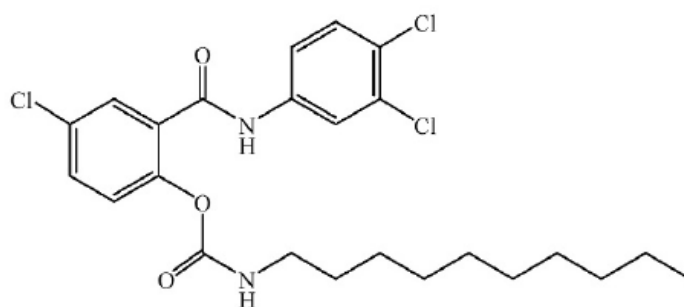
Η ριβαστιγμίνη (3-[1-(διμεθυλοαμινο)αιθυλ]φαινυλαιθυλ(μεθυλ)καρβαμικό) σε αντίθεση με κάποιους άλλους αναστολείς χολινεστερασών (ChE-I) εμφανίζει σχετικά χαμηλή δεσμευτική συγγένεια πρωτεΐνης, έχει πιο επιλεκτική δράση και μικρότερη πιθανότητα αλληλεπιδράσεων με άλλα φάρμακα. Το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) υπάρχει σε διάφορες ισομορφές και η ριβαστιγμίνη τείνει κατά προτίμηση να αναστέλλει τη μορφή G1 παρά τη μορφή G4.^{[67][68]} Γενικά, η μορφή G1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υδρόλυση της ακετυλοχολίνης (ACh) στις χολινεργικές συνάψεις. Λαμβάνοντας αυτό υπόψη, η επιλεκτική αναστολή της G1 από τη ριβαστιγμίνη θα μπορούσε να είναι ευεργετική στη θεραπεία της άνοιας του Alzheimer.^{[69][70]} Το παραπάνω αυτό αξιοπερίεργο χαρακτηριστικό προκάλεσε τη διερεύνηση της δραστηριότητας των παραγώγων της ριβαστιγμίνης.^[71]

Μεταξύ των παραγώγων της ριβαστιγμίνης, ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στα υποκατεστημένα 1,2,3,4 τετραϋδροκινολιν-6(ή -7) -υλιο καρβαμιδικά.

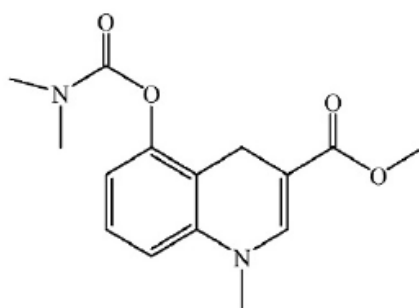
Η πιο δραστική ένωση της σειράς έδειξε ισχυρή αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) με τιμή $IC_{50}=100nM$ και παρουσίασε 10 περίπου φορές μεγαλύτερη ενεργότητα από τη ριβαστιγμίνη στον εγκέφαλο αρουραίου.^[72] Μια πρόσφατη πολλά υποσχόμενη στρατηγική για τον ορθολογικό σχεδιασμό εκλεκτικών αναστολέων χολινεστερασών (AChE-Is) περιλαμβάνει ορισμένα βιο-οξειδώσιμα φάρμακα τα οποία διασχίζοντας τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (BBB) οξειδώνονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα όπου ενεργοποιούν το χολινεργικό σύστημα. Η πιο δραστική ένωση της σειράς κατέληξε να είναι αδρανής έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ($IC_{50}>1nM$) στο περιφερειακό σύστημα.^[73]

4.1.3 Χημική δομή των παραγώγων

Η δομή των παραγώγων της ριβαστιγμίνης παρουσιάζεται στις ακόλουθες εικόνες.



Εικόνα 10: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης της σειράς 1,2,3,4 τετραϋδροκινολιν-6(ή -7) -υλιο καρβαμιδικά



Εικόνα 11: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης της σειράς βιο-οξειδώσιμων προ-φαρμάκων

4.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο

Όπως προαναφέρθηκε η ριβαστιγμίνη είναι ένας ψευδο-μη αναστρέψιμος καρβαμιδικός μη ανταγωνιστικός αναστολέας τόσο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) όσο και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE). Το συγκεκριμένο προφίλ καθιστά την ένωση αρκετά ενδιαφέρουσα για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer. Στην πραγματικότητα τα δύο αυτά ένζυμα τα οποία εμπλέκονται στον καταβολισμό της ακετυλοχολίνης (ACh) διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στο σχηματισμό νευροϊνδιακών μπερδεμάτων και στη δημιουργία νευρικών πλακών, χαρακτηριστικά που αντιπροσωπεύουν την παθοφυσιολογία της AD^[74]. Στον εγκεφαλικό φλοιό η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) υπάρχει στις συναπτικές

συνδέσεις των νεύρων ενώ η βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) βρίσκεται στα νευρογλοιακά κύτταρα και ρυθμίζει τη χολινεργική νευροδιαβίβαση.

Στη δόση των 12mg την ημέρα η ριβαστιγμίνη αναστέλλει την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) του εγκεφάλου κατά 61.7% και 61.8% αντίστοιχα, ενώ το ποσοστό αναστολής της περιφερειακής βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) είναι περίπου 33%. Αυτό δείχνει μια καλή εκλεκτικότητα της ένωσης που ενισχύει σημαντικά το χολινεργικό σύστημα του εγκεφάλου. Στους αρουραίους η ριβαστιγμίνη ανέστειλε με δοσοεξαρτώμενο τρόπο την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) με χαρακτηριστική τιμή $IC_{50}=32\pm 2nM$.^[75] Σε άλλου είδους ποντίκια με τη χορήγηση της ένωσης η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) του ιππόκαμπου αυξήθηκε κατά 30 φορές υποδηλώνοντας ότι η αύξηση των επιπέδων ακετυλοχολίνης (ACh) που προκλήθηκε από τη ριβαστιγμίνη ήταν αποτέλεσμα της αναστολής της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE).^[76] Για να διευκρινιστεί η σημασία της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) στη ρύθμιση του χολινεργικού συστήματος του εγκεφάλου διενεργήθηκε μελέτη μικροδύλισης στον εγκεφαλικό φλοιό των αρουραίων. Η έρευνα έδειξε ότι η ριβαστιγμίνη στη δόση των 0.6mg/kg αναστέλλει τόσο την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) όσο και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) κατά 40% και 25% αντίστοιχα. Σε ηλικίας 5 εβδομάδων ποντίκια με γνωστική δυσλειτουργία που προκαλείται από το πεπτιδίο αμυλοειδούς-β, δόση των 0.03, 0.1 και 3mg/kg ριβαστιγμίνης βελτίωσε σημαντικά τη γνωστική δυσλειτουργία αποδεικνύοντας ότι η διπλή αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης (AChE)/βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) μπορεί να αποτελέσει μια θεραπευτική στρατηγική για τη νόσο του Alzheimer.^{[77][78]}

Η επίδραση της ριβαστιγμίνης στην αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης (AChE)/βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) στο κεντρικό νευρικό σύστημα έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της κινητικής δραστηριότητας χωρίς δημιουργία καταστολής σε ποντίκια. Επιπλέον σε αρουραίους, γάτες και πιθήκους η ριβαστιγμίνη είχε ελάχιστες επιρροές στον καρδιακό ρυθμό και την αρτηριακή πίεση.^[79] Στο μοντέλο πρωτογενούς νευρωνικής καλλιέργειας, η ριβαστιγμίνη διατήρησε σταθερή τη μορφολογία των νευρώνων και τους δείκτες της προσυναπτικής πρωτεΐνης και ενίσχυσε την έκφραση της πρόδρομης νευρωνικής πρωτεΐνης Αβ.^[80] Ειδικότερα, η ριβαστιγμίνη αύξησε την πρόδρομη νευρωνική πρωτεΐνη Αβ σε αρουραίους σε παρόμοιο βαθμό σε σχέση με τα πειράματα *in vitro*. Όλα τα παραπάνω ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι αλλαγές στη μεταβολική δραστηριότητα που προκύπτουν ως απόρροια από τη θεραπεία με ριβαστιγμίνη σχετίζονται με αυξημένη νευρωνική επιβίωση, η οποία συνοδεύεται από αλλαγές στα σχετικά επίπεδα των κυρίαρχων ισομορφών των πρόδρομων νευρωνικών πρωτεϊνών Αβ.^[80]

4.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο

Η ριβαστιγμίνη εγκρίθηκε για θεραπεία ήπιας έως μέτριας AD σε περισσότερες από 40 χώρες της Βόρειας και Νότιας Αμερικής, την Ευρώπη και την Ασία. Σήμερα διατίθεται είτε σε κάψουλες σε δόσεις των 1.5, 3, 4.5 και 6mg με συνιστώμενη συχνότητα 2 φορές την ημέρα, είτε σε πόσιμο διάλυμα των 2mg/mL και τέλος είτε σε

διαδερμικό έμπλαστρο σε σκεύασμα σε δόσεις των 4.6, 9.5 και 13.3 mg με συνιστώμενη συχνότητα εφαρμογής στο δέρμα μια φορά την ημέρα. Η απορρόφηση των καψουλών ολοκληρώνεται εντός 1 ώρας, ενώ των διαδερμικών εμπλάστρων εντός 30-60 λεπτών. Η μέγιστη συγκέντρωση της ριβαστιγμίνης στο πλάσμα επιτυγχάνεται σε 1.5 ώρα για την κάψουλα, ενώ σε 3 ώρες για το διαδερμικό έμπλαστρο. Κατά την έναρξη της θεραπείας χρειάζεται τιτλοποίηση δόσης. Οι αρχικές δοσολογικές συστάσεις είναι 1.5mg από τη στοματική οδό 2 φορές την ημέρα είτε για κάψουλα είτε για πόσιμο διάλυμα με μέγιστη επιτρεπόμενη δόση τα 12 mg την ημέρα. Για το διαδερμικό έμπλαστρο η συνιστώμενη δοσολογία είναι 13,3mg/24 ώρες εγκεκριμένη για όλα τα στάδια της νόσου AD συμπεριλαμβανομένων των σοβαρών.

Η ριβαστιγμίνη έχει καλή διείσδυση στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και μεταβολίζεται εκτενώς μέσω υδρόλυσης που προκαλείται από τις χολινεστεράσες και αποκρίνεται από τα νεφρά.^[81] Ο κύριος μεταβολίτης της ριβαστιγμίνης έχει τουλάχιστον 10 φορές χαμηλότερη δραστικότητα έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) σε σύγκριση με το μητρικό φάρμακο. Διαφορετικά με άλλους αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), το ηπατικό κυτόχρωμα P-450 (σύστημα CYP-450) δεν εμπλέκεται στο μεταβολισμό της ριβαστιγμίνης. Η ριβαστιγμίνη έχει βραχύ φαρμακοκινητικό χρόνο ημιζωής, ενώ η συγκέντρωσή της στο πλάσμα είναι κατά 30-50% υψηλότερη σε ασθενείς με AD παρά σε υγιείς ηλικιωμένους. Η από του στόματος χορήγηση και το έμπλαστρο ριβαστιγμίνης ήταν σημαντικά καλύτερα σε σχέση με το εικονικό φάρμακο στην καθυστέρηση της γνωστικής βλάβης ύστερα από τη μετα-ανάλυση 19 δοκιμών με 7445 ασθενείς.^{[82][83][84]} Στο σημείο αυτό αξίζει να τονιστεί ότι χρησιμοποιώντας απεικονιστικές τεχνικές όπως PET (τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων) και μαγνητική τομογραφία (MRI) αποδείχθηκε ότι η θεραπεία ασθενών με ήπια έως μέτρια AD με ριβαστιγμίνη (3.6 ή 9mg/ημέρα) για 6 μήνες προκάλεσε σημαντική αύξηση στον μεταβολισμό του ιππόκαμπου του εγκεφάλου. Αυτή η αύξηση παρατηρήθηκε στο 32.5% όσων ανταποκρίθηκαν στη ριβαστιγμίνη.^[85]

Σε τυχαίοποιημένη μελέτη διάρκειας 13 εβδομάδων σε 56 ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD διαπιστώθηκε ότι η ριβαστιγμίνη αναστέλλει τη λειτουργία δράσης τόσο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) όσο και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE). Η ένωση μείωσε την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό με ποσοστό αναστολής 72.6% έναντι της αρχικής τιμής 21.8% και 45.4% έναντι της αρχικής τιμής 9.3% αντίστοιχα.^[86] Σε άλλη μελέτη ονόματι IDEAL διερευνήθηκε η επίδραση της ριβαστιγμίνης που περιέχεται στα έμπλαστρα συγκριτικά με αυτή των καψουλών και του εικονικού φαρμάκου. Το IDEAL ήταν μια εξάμηνη διπλή-τυφλή δοκιμή που αξιολόγησε την επίδραση των εμπλάστρων ριβαστιγμίνης επιφάνειας 10cm² στην οποία αντιστοιχεί ποσότητα διαδραστικής ουσίας 9.5mg/ημέρα ή επιφάνειας 20cm² στην οποία αντιστοιχεί ποσότητα διαδραστικής ουσίας 17.4mg/ημέρα και την επίδραση των καψουλών ριβαστιγμίνης και του εικονικού φαρμάκου των 6mg σε 1195 ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD. Η μελέτη έδειξε ότι το έμπλαστρο επιφάνειας 10cm² είχε αποτελεσματικότητα παρόμοια με αυτή των καψουλών με πολύ χαμηλές

παρενέργειες που δεν διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με αυτή του εικονικού φαρμάκου. Ωστόσο, το έμπλαστρο επιφάνειας 20cm² επέφερε μεγαλύτερη βελτίωση στη γνωστική ικανότητα συγκριτικά με το έμπλαστρο επιφάνειας 10cm² με παρόμοιο προφίλ ανεκτικότητας.^[87]

Επίσης, διερευνήθηκαν η αποτελεσματικότητα, η ασφάλεια και η ανεκτικότητα των επιθεμάτων ριβαστιγμίνης 13.3 έναντι 4.6mg/ημέρα για 24 εβδομάδες σε 716 ασθενείς με σοβαρού βαθμού AD αυτή τη φορά μέσω μιας τυχαιοποιημένης διπλής-τυφλής μελέτης ονόματι ACTION. Σε αυτή τη δοκιμή δόθηκαν σε 356 ασθενείς επιθέματα ριβαστιγμίνης των 13.3mg/ημέρα και σε 360 ασθενείς επιθέματα ριβαστιγμίνης των 4.6mg/ημέρα. Δεδομένου ότι αυτή η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς σε σοβαρό στάδιο Alzheimer, στο τέλος των 24 εβδομάδων και οι δύο ομάδες θεραπείας παρουσίασαν επιδείνωση. Το έμπλαστρο των 13.3mg/ημέρα είχε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από το έμπλαστρο των 4.6mg/ημέρα υποδεικνύοντας την κλινική σημασία της θεραπείας με υψηλές δόσεις, κυρίως όσον αφορά τα οφέλη για τη γνωστική λειτουργία. Η συνολική συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων, στοιχείο που υποδηλώνει ότι μια υψηλότερη δόση ριβαστιγμίνης δεν επηρεάζει αρνητικά την ανεκτικότητα στο φάρμακο.^[87]

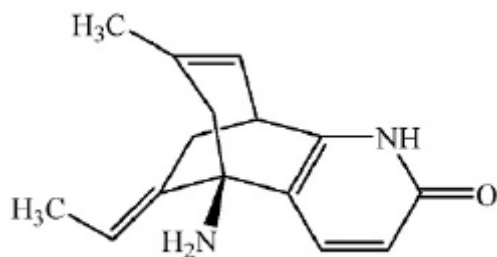
Είναι κοινά αποδεκτό πως η ριβαστιγμίνη παρέχει οφέλη όσον αφορά τη γνωστική λειτουργία, τις δραστηριότητες της καθημερινής ζωής και γενικότερα την ψυχολογική κατάσταση σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια άνοια. Μια ανασκόπηση τύπου Cochrane σχετικά με την κλινική αποτελεσματικότητα της ριβαστιγμίνης ανέλυσε συγκριτικά 13 δοκιμές με διάρκεια μεταξύ 12 και 52 εβδομάδων, μελετώντας την αποτελεσματικότητα των μορφών κάψουλας στη δοσολογία έως και 12mg/ημέρα και των διαδερμικών επιθεμάτων στις δοσολογίες των 4.6, 9.5 και 17.7mg/ημέρα της δραστικής ουσίας. Οι μελέτες που έγιναν επιβεβαίωσαν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της ριβαστιγμίνης στις δόσεις των 6 έως 12mg/ημέρα με χορήγηση από το στόμα ή των 9.5mg/ημέρα διαδερμικά έναντι του εικονικού φαρμάκου. Ανάλυση 7 δοκιμών σε 3450 ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD με μέση ηλικία περίπου τα 75 έτη έδειξε ότι μετά από 26 εβδομάδες θεραπείας, η ριβαστιγμίνη σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο επέφερε καλύτερα αποτελέσματα για τη γνωστική λειτουργία. Οι γνωστικές λειτουργίες αξιολογήθηκαν με την κλίμακα αξιολόγησης AD-Cognitive (ADAS-Cog) σε διάστημα εμπιστοσύνης 95% όπου δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ της ομάδας των ασθενών που έλαβαν ριβαστιγμίνη και της ομάδας των ασθενών που έλαβαν εικονικό φάρμακο σε αλλαγές συμπεριφοράς ή ψυχοσυναισθηματικής νοημοσύνης.^[88]

5.1 Γκαλανταμίνη

5.1.1 Ιστορικά στοιχεία-Χημική δομή

Πρόκειται για έναν αφενός μεν εκλεκτικό και αναστρέψιμο αναστολέα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και αφετέρου για έναν αλλοστερικό ρυθμιστή των νικοτινικών χολινεργικών υποδοχέων, ο οποίος εισήχθη στις ΗΠΑ με την εμπορική ονομασία Razadyne για τη συμπτωματική θεραπεία της νόσου του Alzheimer. Η

γκαλανταμίνη έλαβε άδεια για την είσοδο της στη σουηδική φαρμακευτική αγορά το 2000.^{[17][89]} Η δράση της συνοψίζεται στην αύξηση των επιπέδων ακετυλοχολίνης (ACh) στις συνάψεις του εγκεφάλου με αποτέλεσμα τη βελτίωση της χολινεργικής νευροβιαβίβασης.^[90]



Εκτίνα 12: Χημική δομή της γκαλανταμίνης

5.1.2 Παράγωγα

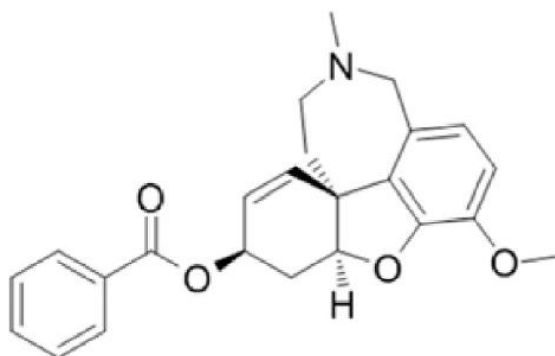
Η γκαλανταμίνη ((4aS,6R,8aS)-5,6,9,10,11,12-εξαϋδρο-3-μεθοξυ-11-μεθυλ-4aH-[1]βενζοφουρο[3a,3,2-ef][2]βενζαζεπίνη-6-όλη) είναι ένα ετεροκυκλικό παράγωγο φαιναντριδίνης που απομονώθηκε από τους βολβούς και τα λουλούδια του *Galanthus woronowii*. Αυτό το αλκαλοειδές που ανήκει στην οικογένεια Amaryllidaceae περιέχει πολλούς διαφορετικούς δομικούς τύπους.

Ένα χαρακτηριστικό που καθιστά τη γκαλανταμίνη κατάλληλη για θεραπεία AD είναι η επιλεκτική της δραστηριότητα στην ακετυλοχολινεστεράση (AChE) στο κεντρικό νευρικό σύστημα με ταυτόχρονη ελάχιστη επίδραση στους περιφερειακούς ιστούς. Η ενδιαφέρουσα βιολογική δραστηριότητα της γκαλανταμίνης σε συνδυασμό με την περιορισμένη διαθεσιμότητα της από φυσικές πηγές έχει αυξήσει το ενδιαφέρον για προσπάθειες εργαστηριακής σύνθεσης της. Ένας ικανοποιητικός αριθμός ερευνητικών ομάδων προετοίμασαν και αξιολόγησαν παράγωγα της γκαλανταμίνης που αναπτύχθηκαν με σκοπό τη βελτίωση του βιολογικού προφίλ του φυσικού προϊόντος.^[91] Για το σκοπό αυτό αναπτύχθηκε ένα προ-φάρμακο της γκαλανταμίνης το Memogain.^[92] Η βιοδιαθεσιμότητα του Memogain στον εγκέφαλο είναι 15 φορές υψηλότερη από την ίδια δόση γκαλανταμίνης. Εφόσον το Memogain διασπάται ενζυματικά σε γκαλανταμίνη, είναι ικανό να προκαλεί πιο έντονη βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας από τις ίδιες δόσεις γκαλανταμίνης χωρίς συγχρόνως να παρουσιάζει σημαντικά επίπεδα γαστρεντερικών παρενεργειών.

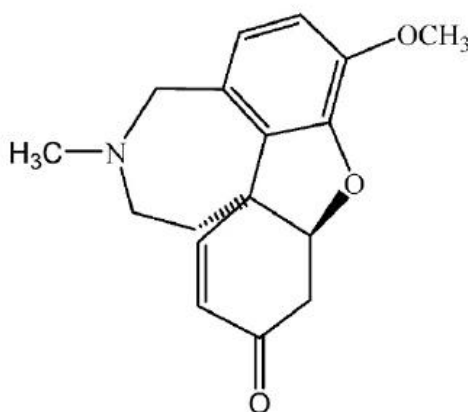
Η πιο δραστική ένωση μιας σειράς αναλόγων ινδόλης της γκαλανταμίνης με καλή ισχύ αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) παρουσίασε χαρακτηριστική τιμή IC₅₀=11nM.^{[93][94]} Επιπλέον, νέα παράγωγα με αυξημένη υδατοδιαλυτότητα συντέθηκαν ως μια πολυστοχευμένη θεραπευτική προσέγγιση. Ακόμα και μικρές αλλαγές στο δομικό πλαίσιο της γκαλανταμίνης, όπως στην περίπτωση των οξυγονωμένων παραγώγων, άλλαξαν πλήρως το προφίλ δέσμησης του φυσικού μορίου και επομένως αυτές οι ενώσεις ήταν εντελώς ανενεργές.^[95]

5.1.3 Χημική δομή των παραγώγων

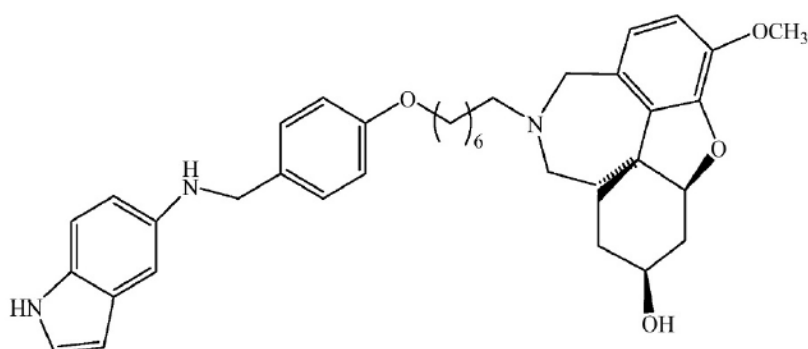
Η δομή των παραγώγων της γκαλανταμίνης παρουσιάζεται στις ακόλουθες εικόνες.



Εικόνα 13: Χημική δομή του Memogain



Εικόνα 14: Χημική δομή της ναρβεδίνης



Εικόνα15: Χημική δομή της πιο δραστήριας γκαλανταμίνης-ινδόλης

5.1.4 Ο μηχανισμός δράσης και τα αποτελέσματα σε προκλινικό στάδιο

Η γκαλανταμίνη είναι ένα τριτογενές αλκαλοειδές με προφίλ εκλεκτικού, αναστρέψιμου και ανταγωνιστικού αναστολέα περισσότερο για την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) παρά για τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE).^[96]

Επίσης, αλληλεπιδρά αλλοστερικά με τους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης για να ενισχύσει τη δράση των αγωνιστών σε αυτούς τους υποδοχείς.^[97] Αυτή η ενισχυτική δράση μπορεί να συμβάλλει στην κλινική αποτελεσματικότητα της γκαλανταμίνης, καθώς ο βαθμός της γνωστικής έκπτωσης στην AD σχετίζεται με την απώλεια νικοτινικών υποδοχέων.^[98] Από την άλλη πλευρά, η χολινεργική διέγερση προάγει τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των νευρικών πρόδρομων κυττάρων.^[99] Μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι η γκαλανταμίνη διεγείρει στον υπόκαμπο τον πολλαπλασιασμό των νευρικών προγονικών κυττάρων στην υποκοκκώδη ζώνη μέσω ενεργοποίησης του μουςκαρινικού υποδοχέα M1 και συμβάλλει στην επιβίωση των νέων διαιρεμένων κυττάρων στο στρώμα κοκκωδών κυττάρων μέσω ενεργοποίησης του A7 νικοτινικού υποδοχέα. Έχει προταθεί ότι η ινσουλίνη που μοιάζει με τον αυξητικό παράγοντα 2 εμπλέκεται στην επίδραση της γκαλανταμίνης στην επιβίωση των ηλικίας δύο εβδομάδων ανώριμων κυττάρων στο στρώμα κοκκωδών κυττάρων.^[100]

Μελέτες που διεξήχθησαν σε αρουραίους 5XFAD έδειξαν ότι η γκαλανταμίνη καταπολεμά το σχηματισμό πλάκας.^[101] Επίσης, σε διαγονιδιακά ποντίκια η γκαλανταμίνη εξασθένησε την εναπόθεση αμυλοειδούς-β και απέτρεψε τη νευροφλεγμονή.^[102] Με βάση τα παραπάνω ευρήματα προτάθηκε ότι η γκαλανταμίνη μπορεί να αντιπροσωπεύει μια πολλά υποσχόμενη ένωση για θεραπεία της AD λόγω του συνδυασμού των αποτελεσμάτων της ανασταλτικής δραστηριότητας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και της καταπολέμησης της εναπόθεσης αμυλοειδούς-β. Οι επιδράσεις της γκαλανταμίνης στη μάθηση και τη μνήμη αξιολογήθηκαν από μελέτες συμπεριφοράς παθητικής αποφυγής που προκαλούνται από νιτρώδες νάτριο σε υποξικούς αρουραίους. Σε από του στόματος χορήγηση δόσεων των 0.5 και 1mg/kg, η γκαλανταμίνη προκάλεσε σε τεστ κατακράτησης μια δοσοεξαρτώμενη βελτίωση της μάθησης και της μακροπρόθεσμης μνήμης αλλά συγχρόνως και αυξημένες αντιδράσεις λανθάνουσας κατάστασης ($P < 0.05$). Η ωφέλιμη αυτή επίδραση της γκαλανταμίνης αποδόθηκε στην ενίσχυση της αλλοστερικής ακετυλοχολίνης (ACh), η οποία προκλήθηκε από την ενεργοποίηση των νικοτινικών υποδοχέων.^[103] Από την άλλη πλευρά, πρόσφατες μελέτες κατέδειξαν την *in vivo* και *in vitro* αντιφλεγμονώδη δράση της γκαλανταμίνης. Πιο συγκεκριμένα, η θεραπεία με γκαλανταμίνη απέτρεψε την ενεργοποίηση μικρογλοίων και αστροκυττάρων και αντιμετώπισε τη νευροφλεγμονή αναστέλλοντας στον υπόκαμπο των εκτιθέμενων σε λιποπολυσακχαρίτες ποντικών τα μόρια σηματοδότησης φλεγμονής (NF-Kb και p65) και τις κυτοκίνες (TNF- α , IL-1 β και IL-6). Αυτή η επίδραση σχετίζεται με τη σύνδεση της ακετυλοχολίνης (ACh) με τους $\alpha 7$ νικοτινικούς υποδοχείς, καταστέλλοντας την ενεργοποίηση του NF-Kb και αναστέλλοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών.^[104] Επιπρόσθετα, η γκαλανταμίνη εμφανίζει αντιοξειδωτική και χολινομιμητική δράση και έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες που μπορεί να είναι ευεργετικές για τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου.

Στη θεραπεία της AD η γκαλανταμίνη χορηγείται από το στόμα. Ένα κύριο πρόβλημα που ανακύπτει με αυτήν την οδό χορήγησης είναι η κακή βιοδιαθεσιμότητα της

ένωσης που φτάνει στον εγκέφαλο, συνοδευόμενη από σχετικές περιφερειακές παρενέργειες, κυρίως γαστρεντερικές. Ενόψει αυτού, αναζητήθηκαν πιο αποτελεσματικές προσεγγίσεις χορήγησης φαρμάκων. Μέσω αυτών των μελετών, διερευνήθηκαν φαρμακευτικά συστήματα που επιτρέπουν την επίτευξη υψηλής εναπόθεσης την ένωσης στον εγκέφαλο ύστερα από ρινική χορήγηση. Τα συστήματα φορέων που διερευνήθηκαν περιελάμβαναν νανοσωματίδια, λιποσώματα, λιπιδικούς νανοφορείς και υδρογέλη και in-situ ζελατινοποίηση.^{[105][106][107]} Ο σκοπός των διαφορετικών συστημάτων ήταν η ενίσχυση της διαπερατότητας του ρινοβλεννογονικού φαρμάκου για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του φαρμάκου στον εγκέφαλο με παράλληλη μείωση των περιφερειακών παρενεργειών.^[108]

Η πιο πολλά υποσχόμενη ένωση που ελήφθη από αυτές τις μελέτες ήταν μια θειολιωμένη χιτοζάνη, ευρισκόμενη σε νανοσωματίδια γκαλανταμίνης. Αυτό το νανοσωματίδιο συγκρίθηκε ως προς τη ρινική και στοματική χορήγηση με φαρμακοδυναμικές μελέτες και βιοχημικές αναλύσεις της δραστηριότητας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) στον εγκέφαλο ελβετικών ποντικών αλμπίνο. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν μεγαλύτερα οφέλη από τη ρινική χορήγηση σε σχέση με τη στοματική ($p < 0.05$).^{[106][107][108]} Ωστόσο, παρά τις προκλινικές και κλινικές ενδείξεις για αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα της γκαλανταμίνης ύστερα από ενδορρινική χορήγηση της, τα ενδορρινικά σκευάσματα γκαλανταμίνης δεν εισήχθησαν στη φαρμακευτική αγορά. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι δεν συνάδουν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από την ένωση στις προκλινικές και κλινικές μελέτες με αυτά από τις κλινικές δοκιμές.

5.1.5 Τα αποτελέσματα σε κλινικό στάδιο

Όπως προαναφέρθηκε, η γκαλανταμίνη με την εμπορική ονομασία Razadyne είναι ένας εκλεκτικός, ανταγωνιστικός και αναστρέψιμος αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) που αυξάνει τα επίπεδα ακετυλοχολίνης (ACh) στον εγκεφαλικό φλοιό, επιβραδύνοντας την αποδόμηση του νευροδιαβιβαστή και ρυθμίζει αλλοστερικά τους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (ACh). Αυτή η διαμόρφωση αυξάνει περαιτέρω την ακετυλοχολίνη (ACh) στα τερματικά του προσυναπτικού νεύρου. Η γκαλανταμίνη αυξάνει επίσης το γλουταμικό και τα επίπεδα σεροτονίνης.

Η γκαλανταμίνη διατίθεται σε από του στόματος σκεύασμα (σε δόσεις 4,8,12,16 και 24mg) σε άμεση αποδέσμευση (IR) που απαιτεί χορήγηση δύο φορές την ημέρα και σε παρατεταμένη αποδέσμευση (ER) που απαιτεί χορήγηση μια φορά την ημέρα. Η αρχική δόση που προτείνεται για θεραπεία είναι 8mg/ημέρα με αύξηση ως δόση συντήρησης έως 16mg/ημέρα δύο φορές την ημέρα μετά από 4-8 εβδομάδες.^[109] Οι IR και ER μορφές της γκαλανταμίνης έδειξαν συγκρίσιμα προφίλ ασφάλειας και το ποσοστό διακοπής της μορφής IR ήταν μη σημαντικά αυξημένο σε σχέση με τη μορφή ER.^[110]

Η μέγιστη συγκέντρωση γκαλανταμίνης στο πλάσμα επιτυγχάνεται σε 1 ώρα με χρόνο ημιζωής 7 ώρες και καλή διείσδυση στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (BBB). Η ένωση μεταβολίζεται στο ήπαρ μέσω του CYP2D6 σε Ο-δεσ-μεθυλ-γκαλανταμίνη και μέσω

του 3A4 προς γκαλανταμίνη-N-οξείδιο.^{[111][112]} Ηπατοτοξικότητα μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα ενός ιδιότυπου μεταβολισμού σε ένα τοξικό ή ανοσογόνο ενδιάμεσο.

Αρκετές κλινικές δοκιμές ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο δεν έδειξαν καμία αύξηση των ενζύμων στον ορό σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με γκαλανταμίνη σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Για τον περιορισμό των παρενεργειών του φαρμάκου, αναπτύχθηκαν μορφές άμεσης αποδέσμευσης (IR) και εκτεταμένης αποδέσμευσης (ER).^[110]

Η γκαλανταμίνη έλαβε άδεια για τη θεραπεία της ήπιου έως μέτριου βαθμού άνοιας τύπου Alzheimer. Μπορεί να ενισχύσει την κεντρική χολινεργική λειτουργία και να αναστείλει την ακετυλοχολινεστεράση (AChE), χωρίς ωστόσο να υπάρχουν ενδείξεις ότι η γκαλανταμίνη κατορθώνει να μεταβάλλει την πορεία της υποκείμενης διαδικασίας άνοιας. Τα γνωστικά αποτελέσματα της θεραπείας με γκαλανταμίνη διάρκειας 21-26 εβδομάδων έναντι του εικονικού φαρμάκου αξιολογήθηκαν σε κλινικές δοκιμές και επιβεβαιώθηκαν με μετα-αναλύσεις. Η μνήμη, οι γλωσσικές δεξιότητες και οι συλλογιστικές ικανότητες αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας την κλίμακα ADAS-cog.^{[113][114][115][116][117][118]} Ειδικότερα, η αξιολόγηση της συμπεριφοράς, της σκέψης και της ικανότητας εκτέλεσης καθημερινών δραστηριοτήτων (όπως η διατροφή, η ένδυση και η διαχείριση των οικονομικών) χρησιμοποιήθηκαν για τη διερεύνηση της δραστηριότητας της γκαλανταμίνης.

Μια μετα-ανάλυση του έτους 2006 10 δοκιμών σε 6805 ασθενείς σχετικά με την αποτελεσματικότητα της γκαλανταμίνης στην AD δεν κατέδειξε επιπλέον γνωστικό όφελος πάνω από τη δόση των 16mg ημερησίως. Επίσης, μια δοσοεξαρτώμενη αύξηση των ανεπιθύμητων ενεργειών πάνω από αυτή τη δόση ήταν αισθητή. Το μέγεθος της επίδρασης ήταν μέτριο με μέσο όρο 3 βαθμούς στην κλίμακα ADAS-cog. Υπό αυτά τα δεδομένα, παρατηρήθηκε μια μικρή βελτίωση στις δραστηριότητες της καθημερινής ζωής. Μια ακόμη μετα-ανάλυση συμπεριλαμβανομένων 4074 συμμετεχόντων επιβεβαίωσε τα γνωστικά οφέλη (2.95 μονάδες στην κλίμακα ADAS-cog), αλλά δεν έδειξε καμιά επίδραση στις δραστηριότητες της καθημερινότητας. Συνεπώς για να καταδείξουν οι δοκιμές όφελος στις δραστηριότητες της καθημερινής ζωής, καθίσταται αναγκαία μια θεραπεία μεγαλύτερης διάρκειας γεγονός το οποίο ανάγει τη διάρκεια ως μια απαραίτητη συνιστώσα για την απόδειξη μετρήσιμου οφέλους.^[119] Μια κλινική δοκιμή σε 2033 ασθενείς που πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τα πρότυπα του Νευροψυχιατρικού καταλόγου, κατέληξε στο συμπέρασμα πως η χρόνια θεραπεία με γκαλανταμίνη μειώνει αισθητά τα συμπτώματα συμπεριφοράς (όπως π.χ. διέγερση και άγχος).^[120] Μια άλλη σημαντική θετική επίπτωση είναι πως η μακροχρόνια θεραπεία με γκαλανταμίνη καθυστερεί τον εγκλεισμό του ασθενούς στο σπίτι και κατ' επέκταση και την επικείμενη ιατροφαρμακευτική του περίθαλψη και εποπτεία από εξειδικευμένο νοσηλευτικό προσωπικό, καθιστώντας με αυτόν τον τρόπο τη θεραπεία οικονομικά ανεκτή. Παρά ταύτα, συχνά προκαλούνται γαστρεντερικές παρενέργειες με τη διακοπή της θεραπείας. Συνοψίζοντας, η χρόνια χορήγηση γκαλανταμίνης σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί από AD οδηγεί σε

βελτιωμένη γνωστική λειτουργία και καθυστερεί την ανάπτυξη αλλαγών συμπεριφοράς που σχετίζονται με την ασθένεια.

3. ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (ChE-Is) ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

3.1 Εισαγωγή

Λαμβάνοντας υπόψη την πολύπλοκη φύση της παθοφυσιολογίας της AD και της διαφορετικής συμπτωματολογίας που χαρακτηρίζει αυτή τη διαταραχή, είναι εξαιρετικά δύσκολο να υποτεθεί ότι αποκλειστικά και μόνο μια κατηγορία φαρμάκων μπορεί να λύσει τα σχετικά προβλήματα που προκαλούνται από τη παρουσία γνωστικών δυσλειτουργιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής. Όπως προαναφέρθηκε άλλωστε, οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is) αδειοδοτήθηκαν για τη συμπτωματολογική θεραπεία ήπιων έως μέτριων μορφών της νόσου του Alzheimer. Στη συνέχεια προστέθηκαν και άλλες ενδείξεις χορήγησης των ουσιών αυτών. Οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is) αντιπροσωπεύουν μέχρι στιγμής την τρέχουσα τυπική θεραπεία για την AD.

Από την άλλη πλευρά, ανταγωνιστές του υποδοχέα N-μεθυλο-d-ασπαρτικού (NMDA) και αντιοξειδωτικοί παράγοντες αδειοδοτήθηκαν και διερευνήθηκαν αντίστοιχα για τη θεραπεία διαταραχών άνοιας που εκδηλώνονται σε ενήλικες. Εντούτοις, η συλλογή περαιτέρω στοιχείων σχετικά με τη δράση αυτών των φαρμάκων σε διαφορετικές κλινικές καταστάσεις θα μπορούσε να παράσχει πληροφορίες σχετικά με τη συνάφεια τους στη θεραπεία της AD. Στο σημείο αυτό αξίζει να τονιστεί πως μια διαφορετική προσέγγιση χαρακτηρίστηκε από το συνδυασμό των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με άλλες κατηγορίες φαρμάκων. Μεταξύ των διαφορετικών κατηγοριών φαρμάκων που διερευνήθηκαν σε κλινικό στάδιο, την εκτενέστερη μελέτη κατείχαν χολινεργικές πρόδρομες ουσίες, οι ανταγωνιστές του υποδοχέα N-μεθυλο-d-ασπαρτικού (NMDA) και αντιοξειδωτικοί παράγοντες.

3.2 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με φωσφολιπίδια

Χολινεργικές πρόδρομες ουσίες που ανήκουν στην κατηγορία της χολίνης, περιέχουσες φωσφολιπίδια τα οποία χρησιμοποιούνται μόνο τους ή σε συνδυασμό με αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is), αντιπροσώπευσαν τις πρώτες προσπάθειες για τη θεραπεία της AD. Η χρήση αυτών των ενώσεων ήταν βασισμένη στην υπόθεση ότι οι χολινεργικές πρόδρομες ουσίες μπορεί να ενισχύσουν την ανεπαρκή χολινεργική νευροδιαβίβαση. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές δεν επιβεβαίωσαν κάποια βελτιωτική δραστηριότητα αυτής της κατηγορίας ενώσεων.^[121]

Οι χολινεργικές πρόδρομες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν περισσότερο στις πρώτες μελέτες, όπως η χολίνη και η φωσφατιδυλοχολίνη (λεκιθίνη), πιθανότατα δεν ήταν αποτελεσματικές στην ενίσχυση των επιπέδων ακετυλοχολίνης (ACh) στον εγκέφαλο. Άλλα φωσφολιπίδια που εμπλέκονται στα βιοσυνθετικά μονοπάτια της χολίνης όπως CDP-χολίνη (κιτικολίνη), αλφοσκερική χολίνη και φωσφατιδυλοσερίνη ενίσχυσαν τη

βιοδιαθεσιμότητα της ακετυλοχολίνης (ACh) σε ζωικά μοντέλα και βελτίωσαν τη γνωστική λειτουργία σε ασθενείς με AD.^[117]

Η χολίνη που διερευνήθηκε εκτενέστερα στην κλινική δοκιμή ASCOMALVA ήταν η αλφοσκερική χολίνη (Άλφα-γλυκερυλ-φωσφορυλοχολίνη). Τα αποτελέσματα της δοκιμής ASCOMALVA που δημοσιεύτηκαν σε διάφορες μελέτες, έδειξαν ότι η προσθήκη αλφοσκερικής χολίνης σε τυπική θεραπεία με donepezil επάγει μια βελτίωση της απόδοσης σε γνωστικά και λειτουργικά τεστ σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία μόνο με donepezil.^{[121][122][123]} Επιπλέον, σε μια μελέτη διάρκειας 4 ετών, η συσχέτιση μεταξύ της αλφοσκερικής χολίνης και της donepezil φάνηκε να αντισταθμίζει σε κάποιο βαθμό την απώλεια όγκου που συμβαίνει σε ορισμένες περιοχές του εγκεφάλου ασθενών με AD. Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει ότι οι μορφολογικές αλλαγές που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς μπορεί να έχουν λειτουργική συνάφεια, δηλαδή μπορεί να συνδέονται με τα καλύτερα αποτελέσματα γνωστικής λειτουργίας στα τεστ.

3.3 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με μεμαντίνη

Μια άλλη προσέγγιση συσχέτισης που διερευνήθηκε ήταν αυτή των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με μεμαντίνη, ενός ανταγωνιστή υποδοχέα N-μεθυλο-d-ασπαρτικού (NMDA). Η μεμαντίνη συνδέεται με τον υποδοχέα NMDA, υπεύθυνο για τη λειτουργία καναλιών κατιόντων με χαμηλή έως μέτρια συγγένεια και αναστέλλει την παρατεταμένη εισροή των ιόντων Ca^{2+} , η οποία εισροή αντιπροσωπεύει τη βάση της νευρωνικής διεγερτικής τοξικότητας. Έχει αποδειχθεί ότι η υπερενεργοποίηση των υποδοχέων NMDA μπορεί να οδηγήσει σε νευροεκφυλισμό και απώλεια συναπτικής λειτουργίας μέσω χρόνιας διεγερτοτοξικότητας.^[124] Η μεμαντίνη ενεργώντας ως ένας ανταγωνιστής του υποδοχέα NMDA με μέτρια συγγένεια δέσμευσης, αποτρέπει την παθολογική εισροή ιόντων Ka^{2+} τα οποία παρεμβαίνουν στα φυσιολογικά σήματα, σχετικά με τις διαδικασίες μάθησης και μνήμης. Η υπερβολική ενεργοποίηση των υποδοχέων γλουταμικού οδηγεί σε εκφυλισμό των χολινεργικών νευρώνων στην AD.

Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η συγχρόνηση donepezil και μεμαντίνης εμφανίζει συνεργιστικά αποτελέσματα στη μνήμη στα μοντέλα αρουραίων με AD, γεγονός που υποδηλώνει μια συμπληρωματική δραστηριότητα μεμαντίνης και donepezil. Αυτές οι μελέτες έχουν οδηγήσει στην εικασία ότι ο συσχετισμός της μεμαντίνης και των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) μπορεί να έχει μεγαλύτερα κλινικά οφέλη απ' ό,τι μόνοι τους οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is).^[125] Από την άλλη πλευρά, ο συσχετισμός των δύο φαρμάκων δεν επηρέασε τις αντίστοιχες φαρμακολογικές και τις φαρμακοδυναμικές ιδιότητες. Ένα αρνητικό σημείο του συνδυασμού φαρμάκων είναι η αύξηση της επιβάρυνσης των χαπιών που προκαλείται από τη χορήγηση των δύο φαρμάκων (μεμαντίνη και ChE-I) σε ασθενείς που λαμβάνουν πολλά φάρμακα καθημερινά. Τον Δεκέμβριο του έτους 2014, η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ αδειοδότησε το σκεύασμα με την εμπορική ονομασία Namzaric (28mg μεμαντίνης παρατεταμένης αποδέσμευσης (ER)/10mg donepezil), έναν συνδυασμό σταθερής δόσης μεμαντίνης (ER) και

δονεπεζιλής μια φορά την ημέρα για ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή AD.^{[126][127][128]} Κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι η κάψουλα FDC που περιέχει μεμαντίνη (ER) και δονεπεζιλή είναι βιοϊσοδύναμη με τη συγχορήγηση από το εμπόριο μεμαντίνης (ER) και δονεπεζιλής και μπορεί να ληφθεί με ή χωρίς φαγητό. Η διαθεσιμότητα των δύο φαρμάκων σε μια κάψουλα μειώνει την επιβάρυνση των χαπιών, απλοποιεί τη διαχείριση των φαρμάκων διευκολύνοντας τη φροντίδα των ασθενών και βελτιώνει την ασφάλεια όσων έχουν δυσκολίες στην κατάποση. Ακόμη, μια περαιτέρω θετική πτυχή της χρήσης Namzaric είναι ότι το περιεχόμενο της κάψουλας μπορεί να πασπαλιστεί σε μαλακά τρόφιμα για να διευκολυνθεί η χρήση του φαρμάκου.^[129]

3.4 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με αντιοξειδωτικά

Μια άλλη προσέγγιση στη φαρμακοθεραπεία της AD αντιπροσωπεύεται από τη συσχέτιση αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με αντιοξειδωτικά. Νευροεκφυλιστικές παθολογίες συμπεριλαμβανομένης της νόσου του Alzheimer, της νόσου του Parkinson και της νόσου του Huntington βρέθηκε ότι σχετίζονται με αυξημένο οξειδωτικό στρες στα νευρικά κύτταρα. Συνεπώς, διάφορα αντιοξειδωτικά φάρμακα όπως η βιταμίνη E, η σελεγγιλίνη και το Ginkgo Biloba χρησιμοποιήθηκαν ως επικουρική θεραπεία της AD.

Διαπιστώθηκε ότι ο πυρηνικός παράγοντας ερυθροειδής 2 που σχετίζεται με τον παράγοντα 2 (Nrf2) επάγει τη μεταγραφή των στοιχείων αντιοξειδωτικής απόκρισης (ARE).^{[130][131]} Αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GP_x), γλουταθειόνη-s-τρανσφεράση (GST_r), καταλάση (CAT), αίμη-οξυγενάση-1 (HO-1), NADPH-κινονοξειδοαναγωγή (NQO-1), ένζυμα φάσης II του μεταβολισμού του φαρμάκου και οι πρωτεΐνες HSP εμπλέκονται στη μεταγραφή του ARE. Τόσο τα ελεύθερα αντιοξειδωτικά όσο και τα αντιοξειδωτικά ένζυμα μπορούν να προστατεύσουν τα κύτταρα από την οξείδωση και τη φλεγμονή και να αναστρέψουν το χρόνιο οξειδωτικό στρες. Τα συλλογικά αυτά στοιχεία υποδηλώνουν ότι μια πιθανή προστασία από αντιοξειδωτικά έναντι νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως η νόσος του Alzheimer και του Parkinson, σχετίζεται με την ενεργοποίηση του παράγοντα 2 (Nrf2). Όμως, παρά το θεωρητικό πλεονέκτημα της συσχέτισης μεταξύ αντιοξειδωτικών και αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is), η συγχορήγηση των δύο φαρμάκων δεν προκάλεσε εμφανή κλινικά οφέλη μακροπρόθεσμα.

3.5 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με οζονοθεραπεία

Μια άλλη αξιοσημείωτη θεραπεία συνίστατο στη συσχέτιση μεταξύ αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) και οζονοθεραπείας ως ολοκληρωμένης θεραπείας έναντι της AD. Ο μηχανισμός δράσης της οζονοθεραπείας βασίζεται στην ενεργοποίηση του παράγοντα 2 (Nrf2) και στην καταστολή των φλεγμονωδών αποκρίσεων.

3.6 Συνδυασμός αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) με κανναβιδιόλη

Τα τελευταία χρόνια μια αναδυόμενη προσέγγιση στη θεραπεία αρκετών νευρολογικών παθήσεων όπως η νόσος του Alzheimer, η νόσος του Parkinson,

επιληψία και σκλήρυνση κατά πλάκας, συμπεριλαμβάνει τη χρήση κανναβιδιόλης (CBD). Κανναβινοειδή ταυτοποιήθηκαν στο *Cannabis sativa* και διαπιστώθηκε πως το φυτοκανναβινοειδές CBD αντιπροσωπεύει το 40% του φυτικού εκχυλίσματος.^[132] Η κανναβιδιόλη δεν έχει ευφοριογόνες ή ψυχεδελικές ιδιότητες και σε προκλινικές και κλινικές μελέτες έχει δείξει νευροπροστατευτική δράση σε αρκετές παθολογίες.^{[133][134]}

Οι βιολογικές επιδράσεις της κανναβιδιόλης χαρακτηρίζονται από την αλληλεπίδραση αφενός μεν με τους υποδοχείς κανναβινοειδών (CB1 και CB2) και αφετέρου με άλλες ουσίες του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος.^[135] Στο κεντρικό νευρικό σύστημα ο υποδοχέας CB1 είναι ο περισσότερο άφθονος υποδοχέας ενδοκανναβινοειδούς, συζευγμένος με πρωτεΐνη G και μπορεί να μετατρέψει τα εξωκυτταρικά ερεθίσματα σε κατάντη ενδοκυτταρικές οδούς σηματοδότησης. Ενεργοποίηση των υποδοχέων CB1 και CB2 μπορεί να προκαλέσει πολλαπλές οδούς σηματοδότησης όπως το PKC και τα PI3K/Akt και ERK με άμεση συνέπεια την προώθηση της ανάπτυξης των νευριτών. Επιπλέον, η κανναβιδιόλη αναστέλλει την παραγωγή νευροϊνιδιακών μπερδεμάτων που προκαλούνται από τη διέγερση AB μέσω της ανοδικής ρύθμισης της οδού Wnt/b-κατενίνης. Ωστόσο, μέχρι τώρα ο μηχανισμός των φαρμακολογικών δράσεων της κανναβιδιόλης δεν είναι ακόμη σαφής και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες.

4. ΤΑ ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΚΛΙΝΙΚΑ ΟΦΕΛΗ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ FDA ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (ChE-Is)

Η δραστηριότητα των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) χαρακτηρίζεται από την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), του ενζύμου που είναι κυρίως υπεύθυνο για τη διάσπαση της ακετυλοχολίνης (ACh) στο νευρικό σύστημα. Αυτό επιτρέπει την παράταση της δράσης του ανεπαρκούς νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο. Οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is) ήταν τα πρώτα φάρμακα που έλαβαν άδεια για τη συμπτωματική θεραπεία της AD και τρεις ενώσεις που ανήκουν σε αυτό το θεραπευτικό σχήμα είναι επί του παρόντος σε κλινική χρήση σε πολλές χώρες παγκοσμίως. Αυτό περιλαμβάνει τη donepezίλη (Aricept), τη ριβαστιγμίνη (Exelon) και τη γκαλανταμίνη (Razadyne). Ένας τέταρτος αναστολέας χολινεστερασών (ChE-Is), η τακρίνη, δεν χρησιμοποιείται πλέον λόγω της ηπατοτοξικότητας της.^[136]

Συνολικά, τα οφέλη των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) στη γνωστική λειτουργία είναι μέτρια. Μια μετα-ανάλυση 80 δοκιμών που εξέτασαν τα αποτελέσματα διαφόρων αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) σε διάφορων ειδών μορφές άνοιας με βάση το σύστημα βαθμολογίας MMSE, έδειξε ένα μέσο μέγεθος επίδρασης 1.1 βαθμούς στην κλίμακα αυτή ύστερα από 12 μήνες θεραπείας.^[137] Δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις για τη βέλτιστη διάρκεια της θεραπείας με αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is), καθώς η πλειονότητα των κλινικών δοκιμών περιορίστηκε

σε 6 μήνες παρακολούθησης. Ωστόσο, τα τρία διαθέσιμα στην αγορά AChE/ ChE-Is είναι ασφαλή και διατηρούν τα γνωστικά οφέλη για μερικά χρόνια.^[136] Το έτος 2000 η δοκιμή CE, μια τυχαιοποιημένη μελέτη που περιλάμβανε 565 ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD λαμβάνοντας θεραπεία με donepezίλη για έως και τέσσερα χρόνια, έδειξε ένα όφελος γνωστικής ικανότητας περίπου 0.8 βαθμών στην κλίμακα MMSE κατά τη διάρκεια της μελέτης.^[138] Από την άλλη πλευρά, η δοκιμή DOMINO-AD που περιλάμβανε 295 ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή AD, λαμβάνοντας θεραπεία με donepezίλη, έδειξε ότι η διακοπή του φαρμάκου αύξησε την πιθανότητα τοποθέτησης του ασθενούς στο γηροκομείο εντός του πρώτου έτους από τη στιγμή της παύσης λήψης της ουσίας.^[139] Παράλληλα, αποδείχθηκε πως η donepezίλη διατηρεί την αποτελεσματικότητα ακόμη και σε περιπτώσεις σοβαρής άνοιας. Προς επικύρωση τούτου, μια μελέτη σε 97 ασθενείς που ζούσαν σε εγκαταστάσεις υποβοηθούμενης διαβίωσης, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η donepezίλη ήταν καλά ανεκτή.^[140]

Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει αν οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is) μπορούν να έχουν κάποια επίδραση τροποποίησης της νόσου, μολονότι τα ληφθέντα αποτελέσματα δεν επιβεβαίωσαν ένα τέτοιο γεγονός. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 7 δοκιμών με 1708 συμμετέχοντες διαπίστωσε ένα μικρό μεν αλλά σημαντικό όφελος υπέρ της θεραπείας με AChE-I, πιο μεγάλο για τη donepezίλη στην αποτροπή της ατροφίας του εγκεφάλου.^[141]

Σε μια άλλη μετα-ανάλυση 10 δοκιμών που συμπεριέλαβε 3092 ασθενείς σε διαφορετικά στάδια της AD, μεταξύ μιας άμεσης έναντι μιας καθυστερημένης (6 μήνες) έναρξης θεραπείας με AChE-I και μεμαντίνη, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη γνωστική λειτουργία ή τη γενικότερη λειτουργική κατάσταση.^[142] Συνολικά, δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία που να υποδεικνύουν ότι οι αναστολείς χολινεστερασών (ChE-Is) έχουν κλινικά σημαντική δραστηριότητα τροποποίησης της νόσου του Alzheimer. Άλλες προσεγγίσεις συνίστατο στη χρήση των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) σε συνδυασμό με άλλες κατηγορίες φαρμάκων, όπως χολινεργικές πρόδρομες ουσίες, ανταγωνιστές υποδοχέα N-μεθυλο-d-ασπαρτικού (NMDA) και αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Ο συνδυασμός με άλλες κατηγορίες φαρμάκων μπορεί να σηματοδοτήσει την ευκαιρία για μελλοντικό ενδιαφέρον της χρήσης των αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) στη θεραπεία διαταραχών άνοιας που εκδηλώνονται σε ενήλικες. Η νόσος του Alzheimer θεωρείται ως η κύρια αιτία πολλών θανάτων παγκοσμίως και πολλά υπό μελέτη φάρμακα που στοχεύουν στη κάθαρση των πλακών από τη συσσώρευση πρωτεΐνης Αβ, απέτυχαν να δώσουν οριστικό κλινικό αποτέλεσμα. Συνεπώς, παρ' όλη την έλλειψη κατάλληλων και τεκμηριωμένων θεραπειών για την AD και τα μέτρια κλινικά οφέλη που απορρέουν από τη χρήση των αναστολέων AChE/ ChE-Is, αυτοί θα πρέπει ακόμα και σήμερα να συνεχίσουν να συμπεριλαμβάνονται στο θεραπευτικό οπλοστάσιο έναντι της AD.

5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΧΗΜΙΚΗΣ ΔΟΜΗΣ-ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

5.1 Εισαγωγή

Οι αναστολείς χολινεστεράσης ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες ενώσεων. Αξίζει να τονιστεί πως γενικά οι ενώσεις που έχουν δείξει δραστικότητα ανήκουν σε παρόμοιες κατηγορίες και περιλαμβάνονται στην ίδια ομάδα ενώσεων ή ακόμα και στον ίδιο τύπο στην ομάδα. Οι ενώσεις φυσικής προέλευσης που παρουσιάζουν ανασταλτική δράση στη χολινεστεράση (ChE) μπορούν να εξεταστούν ως προς την ισχύ της δραστηριότητάς τους, την εκλεκτικότητα τους για κάθε χολινεστεράση ή τη μέθοδο δέσμευσης τους στο ένζυμο (αναστρέψιμοι, ψευδο-μη αναστρέψιμοι ή μη αναστρέψιμοι).^[143] Η ικανότητα αναστολής των χολινεστερασών παρατηρείται σε διάφορες ομάδες στις οποίες συμπεριλαμβάνονται αλκαλοειδή, ανθρανοειδή, μπιβενζύλες, κουμαρίνες, χρωμόνες, διαρυλοεπτανοειδή, λιπαρά οξέα, φλαβονοειδή, λιγνάνες, φαινανθρένια, φαινυλοπροπανοειδή, φθαλικές ενώσεις, φαινολικά οξέα, φλωροταννίνες, πολυφαινόλες, πολυκετίδες, στεροειδή (στερόλες), τερπένια (διτερπένια, τριτερπένια), στυλβενοειδή, τριφλαβανόνες και ξανθονοειδή. Η πλειοψηφία των μέχρι τώρα γνωστών, εφαρμοζόμενων και ισχυρών αναστολέων χολινεστερασών (ChE-Is) (π.χ. γκαλανταμίνη, ριβαστιγμίνη και τακρίνη) προέρχεται από την ομάδα των αλκαλοειδών. Επιπλέον, τα φλαβονοειδή και οι κουμαρίνες (BuChE-I) έχουν αναδειχθεί σε όλο και πιο σημαντικές οικογένειες ενώσεων ως κατάλληλοι αναστολείς, γιατί παρουσιάζουν ισχυρή αναστολή των χολινεστερασών και συγχρόνως λιγότερες παρενέργειες. Επομένως, θα πρέπει να δοθεί εστίαση στη περιγραφή της συσχέτισης μεταξύ της δραστηριότητας και της δομής επιλεγμένων ομάδων ενώσεων, για τις οποίες τα αποτελέσματα της αναστολής των χολινεστερασών AChE ή BuChE ήταν τα πιο πολλά υποσχόμενα.^[143] Δεν μπορεί να παραβλεφθεί το γεγονός πως υπάρχουν αναφορές που υποδηλώνουν συσχέτιση της δραστηριότητας μιας ένωσης στα ένζυμα AChE και BuChE με ορισμένα συστατικά της δομής της.

5.2 Αλκαλοειδή

Αυτοί οι μεταβολίτες χαρακτηρίζονται από την παρουσία αζώτου σε μια αρνητική οξειδωτική κατάσταση (δέκτες πρωτονίων), τοποθετημένου στις περισσότερες περιπτώσεις σε έναν ετερόκυκλο. Αυτό μπορεί να επηρεάσει την ενεργή θέση της χολινεστεράσης.^{[143][144]}

Εξαιτίας της χρήσης της στη θεραπευτική, η γαλανθαμίνη μπορεί να θεωρηθεί το πιο σημαντικό αλκαλοειδές το οποίο έχει την ικανότητα να αναστέλλει χολινεστεράσες. Εφαρμόζεται σε θεραπεία AD ή σε άλλες νευρολογικές διαταραχές. Τα φυτά Amaryllidaceae αποτελούν φυσικές πηγές γαλανθαμίνης. Επίσης, ορισμένα είδη του γένους *Narcissus*, *Leucojum* και *Ungernia* είναι ιδιαίτερα πλούσια σε αυτό το αλκαλοειδές. Μπορεί να ληφθεί και συνθετικά. Επιπλέον, υπήρξαν προσπάθειες να αποκτηθεί μέσω βιοσύνθεσης.^[145]

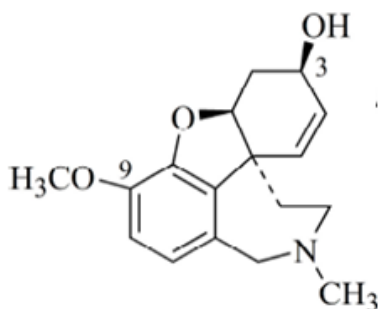
Η γαλανθαμίνη έχει ισχυρή ανασταλτική δράση τόσο στην ακετυλοχολινεστεράση (AChE) όσο και στη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE), όμως είναι πιο εκλεκτική έναντι της πρώτης. Παρουσιάζει ανταγωνιστική αναστολή. Επιπρόσθετα, έχει μια ρυθμιστική επίδραση στον υποδοχέα νικοτινικής ακετυλοχολίνης. Λόγω αυτού, ενισχύει τη νευρομυϊκή αγωγιμότητα.^{[145][146][147]}

Υπάρχουν πολλές δημοσιεύσεις που περιγράφουν την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) από τη γαλανθαμίνη. Έτσι, συχνά αντιμετωπίζεται ως ουσία αναφοράς. Με βάση τη έρευνα για την αλληλεπίδραση μεταξύ της γαλανθαμίνης από τα φυτά *Torpedo californica*, αποδείχτηκε πως αυτή δεσμεύεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ του διπλού δεσμού που υπάρχει στον δακτύλιο κυκλοεξενίου της γαλανθαμίνης και του ενζύμου Trp84.^[148]

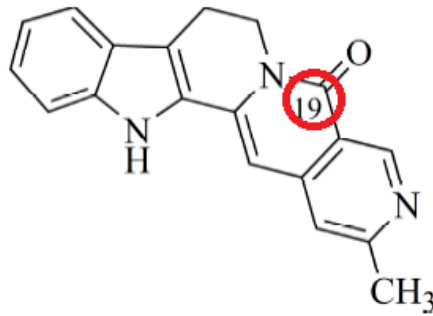
Μια άλλη κατηγορία ενώσεων που παρουσιάζουν ανασταλτική δράση εναντίον της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) είναι τα μονοτερπενοειδή αλκαλοειδή ινδόλης που απομονώθηκαν από το *Nauclea officinalis*. Μάλιστα, η ανασταλτική επίδραση ορισμένων από αυτές είναι μεγαλύτερη ακόμα και από αυτή της γαλανθαμίνης.^[149]

Ορισμένοι επιστήμονες μετά την εκτέλεση μοριακής σύνδεσης, υπέθεσαν ότι η υψηλού βαθμού αναστολή της χολινεστεράσης που επέδειξε η αγγουσιδίνη οφείλεται στον δεσμό υδρογόνου (το άτομο C-19 συμμετέχει στο δεσμό υδρογόνου) του αναστολέα με αμινοξέα του ενζύμου (Ser198 και His438).

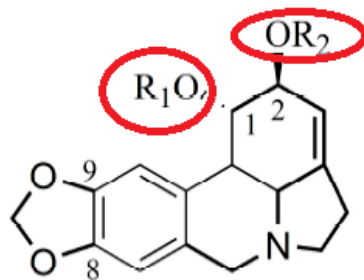
Από την άλλη πλευρά, στη βάση της σχέσης δομής-δραστηριότητας, αποδείχθηκε ότι η ανασταλτική δράση των αλκαλοειδών τύπου λυκορίνης στην ακετυλοχολινεστεράση (AChE) οφείλεται σε αύξηση της συμμετοχής του λιπόφιλου υποκαταστάτη σε C-1 και C-2 που δρα ως υδροξύλιο, όπως στην περίπτωση της γαλανθαμίνης.^[148]



Εικόνα 16: Χημική δομή της γαλανθαμίνης



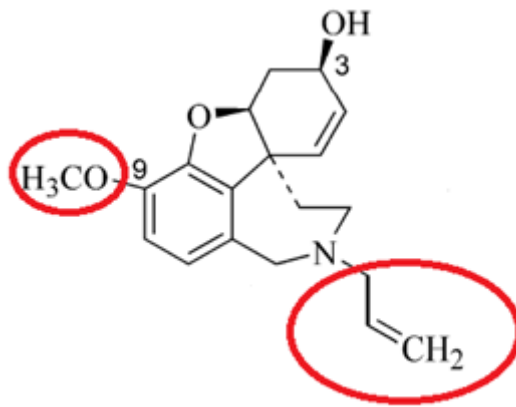
Εικόνα 17: Χημική δομή της αγγουσιδίνης



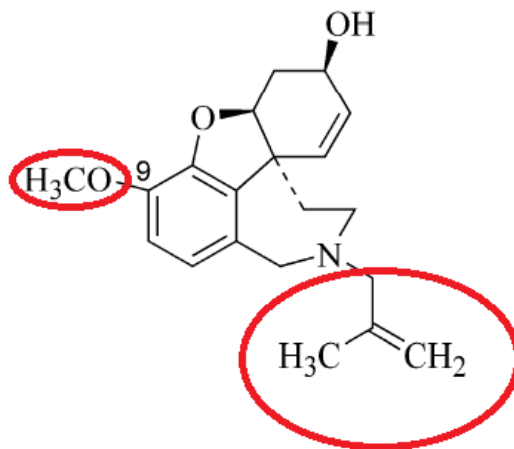
Εικόνα 18: Χημική δομή των αλκαλοειδών τύπου λυκορίνης

Σύμφωνα με τον Berkon (2008), τα αλκαλοειδή N-αλλυλ-νορ-γαλανθαμίνη και N-(14-μεθυλαλλυλ)-νορ-γαλανθαμίνη που απομονώθηκαν από τα φύλλα του *Leucojum aestivum L.*, έδειξαν πιο ισχυρή αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) από τη γαλανθαμίνη. Φαίνεται ότι η ανασταλτική δράση και των δύο ενώσεων οφείλεται στην υποκατάσταση του N-μεθυλίου παραγώγου (ομάδα αλλυλίου ή 14-μεθυλαλλυλίου). Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός μεθοξυλικού υποκαταστάση στο άτομο C-9 και το άτομο αζώτου έχει επίσης έναν αλκύλιο-υποκαταστάση, γεγονός το οποίο μπορεί να υποδεικνύει τη μεγαλύτερη λιποφιλικότητα του σε σύγκριση με τη γαλανθαμίνη.^[150]

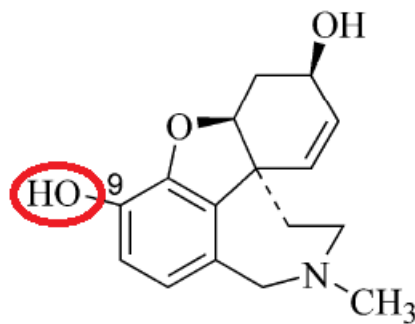
Μεταξύ των αλκαλοειδών που ανήκουν στην οικογένεια Amaryllidaceae, η σαγκουινίνη που απομονώθηκε από το *Galanthus woronowii* ή το *Hieronymiella marginata* είναι η πιο ισχυρή.^{[151][152]} Η σαγκουινίνη είναι επίσης υποκατεστημένη στο άτομο αζώτου αλλά με μια ομάδα μεθυλίου: όμως αυτό είναι το ίδιο τμήμα όπως στην περίπτωση της γαλανθαμίνης. Ισχυρότερη δραστηριότητα της σαγκουινίνης σε σύγκριση με τη γαλανθαμίνη, τη N-αλλυλ-νορ-γαλανθαμίνη και τη N-(14-μεθυλαλλυλ)-νορ-γαλανθαμίνη μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία μιας υδροξυλομάδας στον άνθρακα C-9 και όχι λόγω μιας μεθόξυ ομάδας όπως στην περίπτωση τους. Όσο ισχυρότερο είναι το κατευθυντικό αποτέλεσμα του υποκαταστάτη υδροξυλίου (σε σύγκριση με την ομάδα μεθόξυ), τόσο ισχυρότερη είναι η ενεργοποίηση του αρωματικού δακτύλιου στην αντίδραση ηλεκτρόφιλης υποκατάστασης.



Εικόνα 19: Χημική δομή της Ν-αλλυλ-νορ-γαλανθαμίνης



Εικόνα 20: Χημική δομή της Ν-(14-μεθυλαλλυλ)-νορ-γαλανθαμίνης

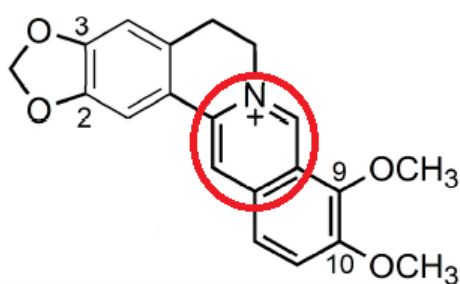


Εικόνα 21: Χημική δομή της σαγκουινίνης

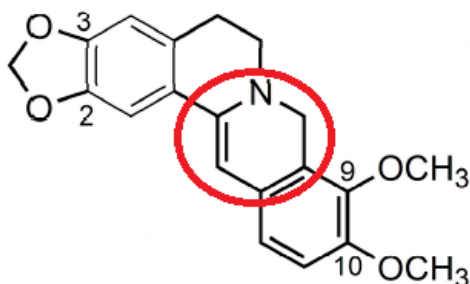
Οι δομές των αλκαλοειδών ισοκινολίνης του τύπου πρωτοβερβερίνη είναι παρόμοιες με τη δομή της ακετυλοχολίνης, που περιέχει μια ανιονική θέση -ακετοξυ- και ταυτόχρονα μια κατιονική θέση (αμίνη). Όπως στην περίπτωση της ακετυλοχολίνης, αυτή η δομή μπορεί να επιτρέψει τη σύνδεση της ακετοξυ ομάδας με την υδροξυλομάδα σερίνης στη θέση υδρόλυσης του υποστρώματος που βρίσκεται στην εστερική θέση της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Η κατιονική θέση μπορεί να είναι ένα άτομο αζώτου ισοκινολίνης.

Τα αλκαλοειδή τύπου πρωτοβερβερίνης (π.χ. βερβερίνη, διϋδροβερβερίνη και κοπτισίνη) όπως και τα αλκαλοειδή Amaryllidaceae, χαρακτηρίζονται από την παρουσία υποκαταστατών μεθοξυ και υδροξυ ομάδων ή μεθυλενοδιοξυ ομάδων, αλλά σε διαφορετικές θέσεις (στα άτομα C-2, C-3 και στα C-9, C-10) καθώς και από ένα θετικά φορτισμένο άτομο αζώτου.^[153]

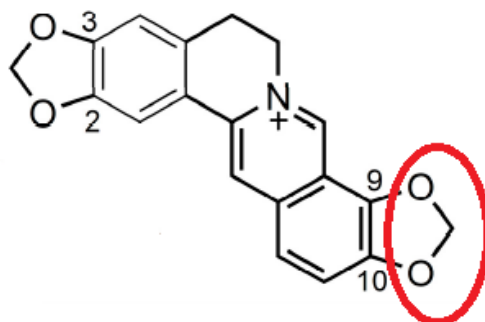
Όπως σημειώνεται από τον Song (2021), η παρουσία ενός συζευγμένου αρωματικού συστήματος στον Β δακτύλιο είναι υπεύθυνη για την ισχυρή ανασταλτική δράση (π.χ. βερβερίνη, κοπτισίνη, επιβερβερίνη, γιατρορριζίνη και παλματίνη). Η υδρογόνωση αυτού του δακτυλίου μειώνει την ανασταλτική δραστηριότητα του αλκαλοειδούς (π.χ. διϋδροβερβερίνη), ενώ η κυκλοποίηση που οδηγεί στην ομάδα μεθυλενοδιοξυλίου δεν έχει επίδραση σε αυτή τη δραστηριότητα (π.χ. κοπτισίνη).^[153]



Εικόνα 22: Χημική δομή της βερβερίνης

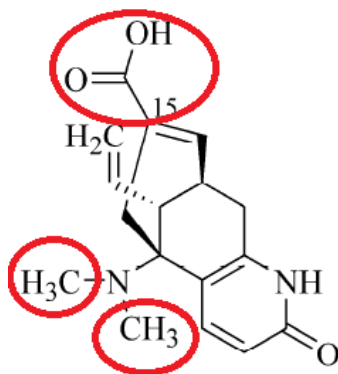


Εικόνα 23: Χημική δομή της διϋδροβερβερίνης

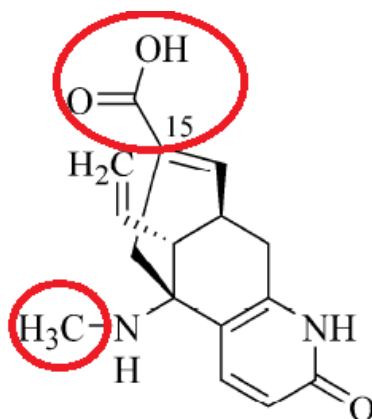


Εικόνα 24: Χημική δομή της κοπτισίνης

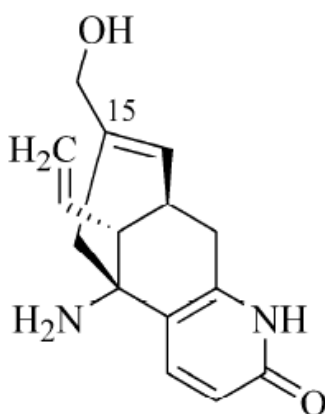
Στην περίπτωση των αλκαλοειδών που εξάγονται από το *Lycorodium casuarinoides* (λυκοπαρίνες A, B και C) η δομή είναι επίσης σημαντική στην ανασταλτική δράση. Μόνο η λυκοπαρίνη C έδειξε μια τέτοια ικανότητα, ενώ οι λυκοπαρίνες A και B έχουν ασθενή δραστηριότητα ($IC_{50} > 200 \mu M$) ως συνέπεια εμφάνισης καρβοξυλικού οξέος στο άτομο C-15 και υποκαταστατών μεθυλίου προσαρτημένων στο άζωτο. ^[154]



Εικόνα 25: Χημική δομή της λυκοπαρίνης A



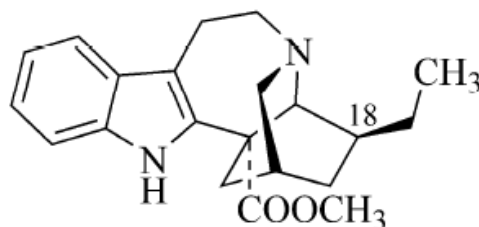
Εικόνα 26: Χημική δομή της λυκοπαρίνης B



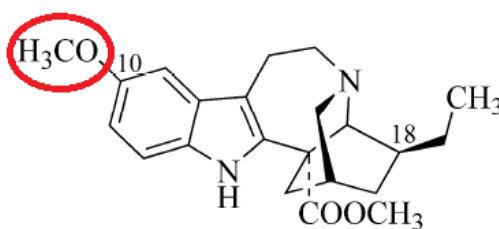
Εικόνα 27: Χημική δομή της λυκοπαρίνης C

Επίσης, ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) συγκρίσιμη με εκείνη της γαλανθαμίνης, αποδεικνύεται πως διαθέτουν τα

αλκαλοειδή ινδόλης που απομονώθηκαν από το *Ervatamia hainanensis* (κοροναριδίνη και βοακανγκίνη). Αυτό οφείλεται στην προσκόλληση του μεθοξυλικού υποκαταστάτη στην φαινυλομάδα, ενώ η υποκατάσταση της 10-υδροξυκοροναριδίνης με μια υδροξυομάδα στο φαινύλιο μειώνει την ανασταλτική δραστηριότητα.^[155]



Εικόνα 28: Χημική δομή της κοροναριδίνης

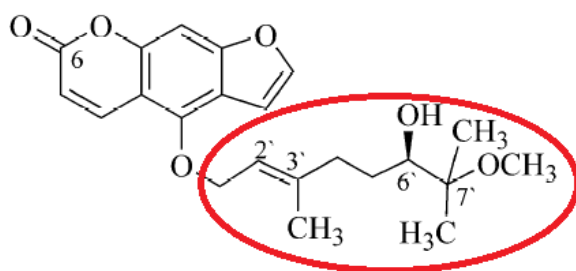


Εικόνα 29: Χημική δομή της βοακανγκίνης

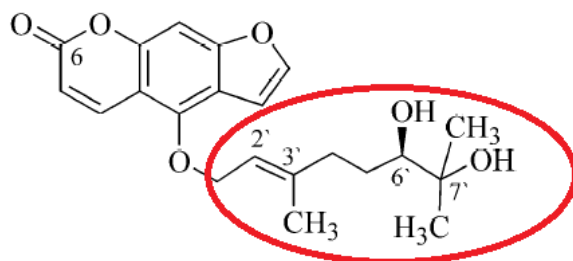
5.3 Κουμαρίνες

Οι κουμαρίνες είναι παράγωγα ενός δακτυλίου α-πυρόνης συντηγμένου με βενζόλιο. Οι πιο αξιοσημείωτες κουμαρίνες είναι η υδροξυκουμαρίνη (μια υδροξυλική ομάδα), η μεθοξυκουμαρίνη (μια μεθοξυ ομάδα, υποκατεστημένη στα άτομα C-7, C-5 ή λιγότερο στα C-6, C-8), η φουρανοκουμαρίνη (ένας δακτύλιος φουρανίου) και η πυρανοκουμαρίνη (ένας δακτύλιος πυρανίου).

Έρευνες για τη δομή και την αναστολή οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι οι φουρανοκουμαρίνες έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) παρά με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE).^{[143][144]} Οι κουμαρίνες που αναστέλλουν τις χολινεστεράσες απαντώνται συχνά στις οικογένειες *Apiaceae* και *Rutaceae*.^[156] Η επίδραση των ενώσεων που απομονώθηκαν από το εκχύλισμα *Citrus hystrix* (6'-υδροξυ-7'-μεθοξυμπεργαμοτίνη και 6',7'-διυδροξυμπεργαμοτίνη) έναντι της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), εξαρτήθηκε από την παρουσία μιας διοξυγονωμένης αλυσίδας γερανυλίου στις δομές τους.^[157]

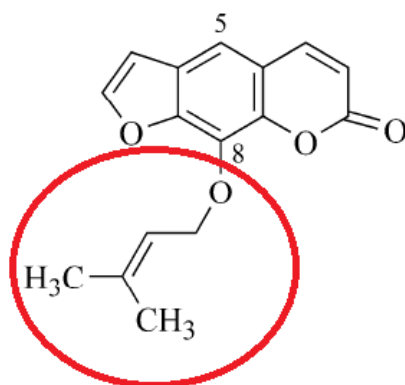


Εικόνα 30: Χημική δομή της 6'-υδροξυ-7'-μεθοξυιμπεραγομότηνης

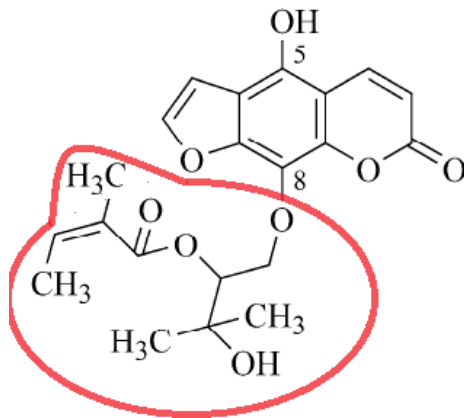


Εικόνα 31: Χημική δομή της 6',7'-διυδροξυιμπεραγομότηνης

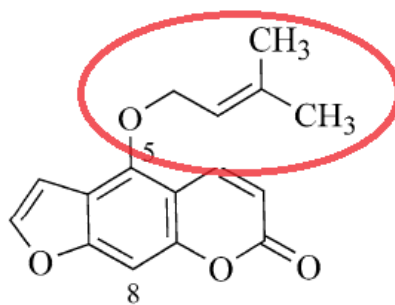
Ύστερα από μελέτες της δραστηριότητας των κουμαρινών που απομονώθηκαν από το φυτό *Angelica archangelica* L., οι επιστήμονες παρατήρησαν ότι η ανασταλτική δράση έναντι της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) εμφανίζεται μόνο σε C-8-υποκατεστημένες φουρανοκουμαρίνες (ιμπερατορίνη και ηρακλενόλη). Απεναντίας, απλές κουμαρίνες (αρχαγγελικίνη), 5-υποκατεστημένες φουρανοκουμαρίνες (ισοϊμπερατορίνη, φελλοτερίνη, βεργαπτίνη και ισοπιπινελίνη) και υποκατεστημένα παράγωγα τόσο στο άτομο C-5 όσο και στο άτομο C-8 (βυακαγγελικίνη) δεν παρουσιάζουν αυτό το αποτέλεσμα.^[158]



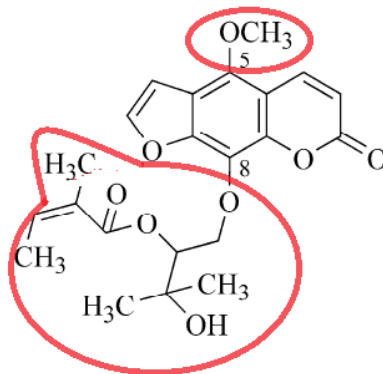
Εικόνα 32: Χημική δομή της ιμπερατορίνης



Εικόνα 33: Χημική δομή της ηρακλενόλης

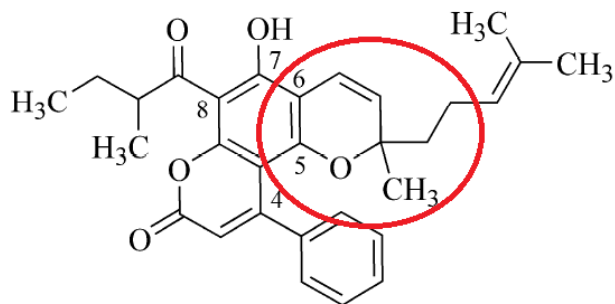


Εικόνα 34: Χημική δομή της ισοϊμπερατορίνης

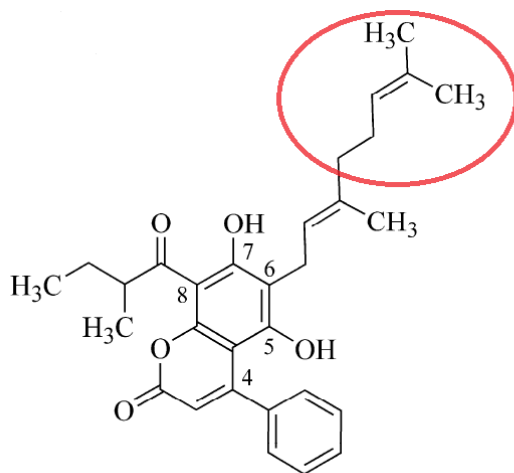


Εικόνα 35: Χημική δομή της βυακαγγελικίνης

Οι ενώσεις που απομονώθηκαν από το *Mesua elegans*, όπως οι 4-φαιτυλοκουμαρίνες, παρουσιάζουν έντονη επίδραση στην αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), επειδή η ανασταλτική δραστηριότητα αυξάνεται για εκείνες που περιέχουν έναν δακτύλιο διμεθυλοπυράνης στα άτομα C-5/C-6 και έναν υποκαταστάτη πρενυλίου στη θέση C-3 (μεσουαγενίνη Β). Για τις 6-γερανυλιωμένες κουμαρίνες (5,7-διυδροξυ-8-(3-μεθυλ-βουτανουΐλ)-6-[3,7-διμεθυλοοκτα 2,6-διενυλ]-4-φαιτυλ-2Η-χρωμεν-2-όνη) η ανασταλτική δραστηριότητα αυξάνεται στην περίπτωση της παρουσίας μιας ομάδας 2-μεθυλβουτανουΐλιου και είναι χαμηλότερη για εκείνα τα μόρια με ομάδες 2-μεθυλοπροπανουΐλ ή 3-μεθυλοβουτανουΐλ στο άτομο άνθρακα C-8.^[159]



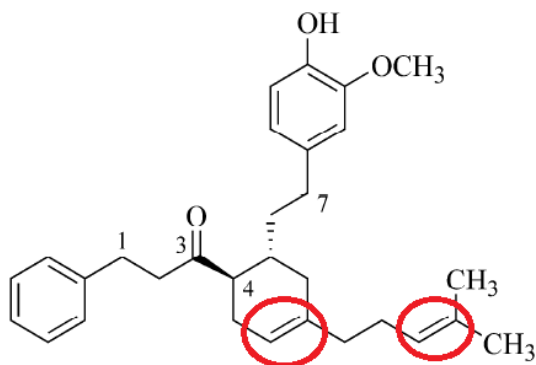
Εικόνα 36: Χημική δομή της μεσουαγενίνης Β



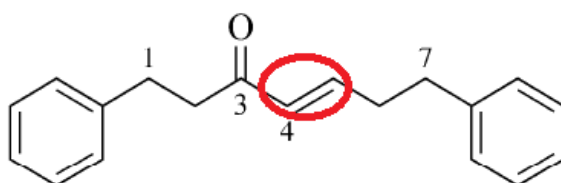
Εικόνα 37: Χημική δομή της 5,7-διυδροξυ-8-(3-μεθυλ-βουτανούλ)-6-[3,7-διμεθυλοοκτα 2,6-διενυλ]-4-φαινυλ-2Η-χρωμεν-2-όνης

5.4 Διαρυλοεπτανοειδή

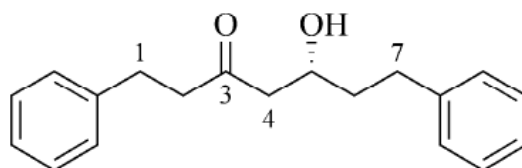
Τα διαρυλοεπτανοειδή είναι μια ομάδα φυσικών ενώσεων με δομές που βασίζονται στον σκελετό του 1,7-διφαινυλοεπτανίου.^[160] Σε διαρυλοεπτανοειδή που απομονώθηκαν από το φυτό *Alpinia officinalis*, παρατηρήθηκε ότι η ισχύς αναστολής των χολινεστερασών (ChE) σχετίζεται με την παρουσία διπλών δεσμών στο μόριο και μάλιστα είναι ανάλογη του αριθμού τους. Έτσι, το (-)-αλπιννοειδές Β παρουσιάζει την ισχυρότερη αναστολή έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE), ενώ ασθενέστερη είναι η δραστηριότητα της 1,7-διφαινυλ-4-επτεν-3-όνης και την πιο αδύναμη κατέχει η ένωση dihydrogashsbushiketol, όπου απουσιάζουν πρόσθετοι διπλοί δεσμοί.^[161]



Εικόνα 38: Χημική δομή του (-)-αλπιννοειδούς Β



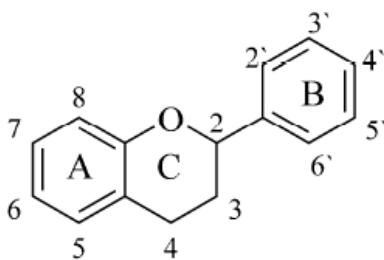
Εικόνα 39: Χημική δομή της 1,7-διφαινυλ-4-επτεν-3-όνης



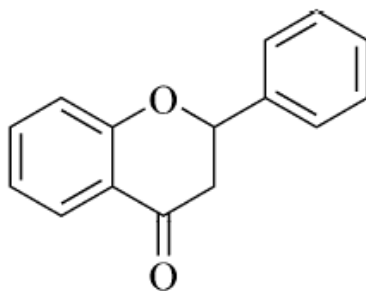
Εικόνα 40: Χημική δομή της dihydrogashsbushiketol

5.5 Φλαβονοειδή

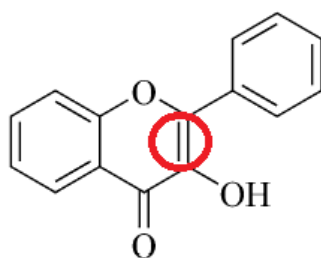
Τα φλαβονοειδή είναι ιδιαίτερα ενεργοί αναστολείς με χαμηλή τοξικότητα.^[159] Η ομάδα των φλαβονοειδών αποτελείται από φλαβανόνες, φλαβονόλες, διυδροφλαβονόλες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, χαλκόνες, διυδροχαλκόνες και aurones.^[144]



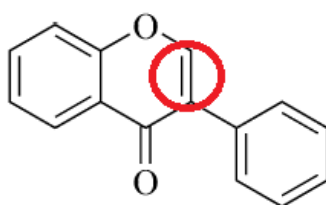
Εικόνα 41: Χημική δομή των δακτυλίων του φλαβονοειδούς



Εικόνα 42: Χημική δομή των δακτυλίων της φλαβανόνης



Εικόνα 43: Χημική δομή των δακτυλίων της φλαβονόλης

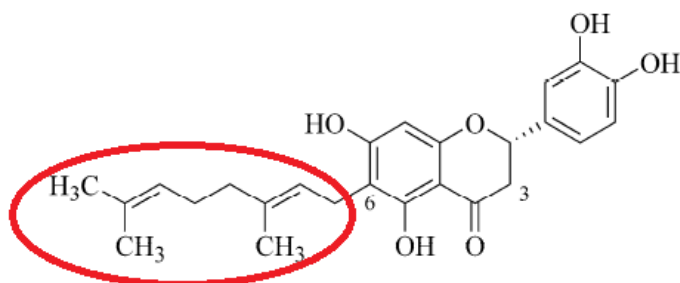


Εικόνα 44: Χημική δομή των δακτυλίων της ισοφλαβόνης

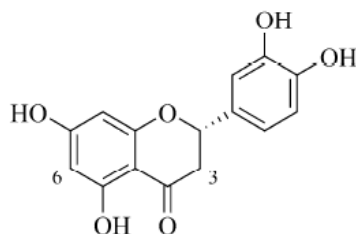
Ο συντακτικός τύπος των φλαβονοειδών αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους συνδεδεμένους με διφαινυλοπροπάνιο σε ένα σύστημα C6-C3-C6. Τα περισσότερα από αυτά διαθέτουν ένα επιπλέον σύστημα γάμμα-πυρόνης (δακτύλιος C) και χωρίζονται σε τύπους λόγω των διαφορετικών δυνατών θέσεων του δακτυλίου B, του αριθμού οξείδωσης του δακτυλίου C και της παρουσίας πρόσθετων λειτουργικών ομάδων.^{[143][144][162]}

Ορισμένοι επιστήμονες μελέτησαν τη σχέση μεταξύ της συγγένειας δέσμησης των φλαβονοειδών με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE), ελέγχοντας 20 φλαβονοειδή με τη μέθοδο σβέσης φθορισμού (baicalin, genistein, chrysin, apigenin, formononetin, 7,8-dihydroflavone, puerarin, luteolin, rutin, fisetin, naringenin, daidzein, daidzin, myricetin, myricetrin, quercetin, quercetrin, kaempferol, kaempferide και baicalein).^[163] Σύμφωνα με αυτήν την έρευνα, μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα πως τα φλαβονοειδή σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE). Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία μιας ομάδας υδροξυλίου ειδικά σε δακτύλιο A του φλαβονοειδούς, καθώς και ο διπλός δεσμός μεταξύ των ατόμων άνθρακα C-2 και C-3, αυξάνουν τη συγγένεια των φλαβονοειδών με το ένζυμο

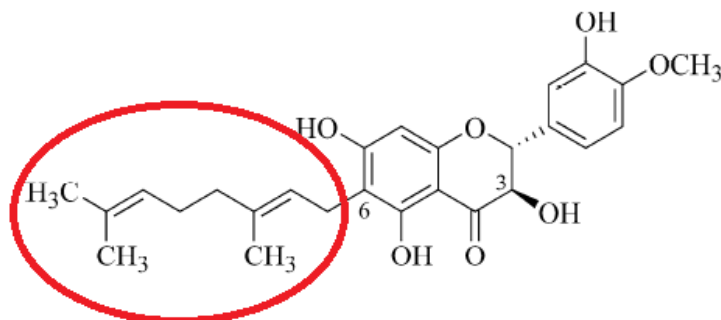
ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και κατ' επέκταση τις ανασταλτικές ιδιότητες των φλαβονοειδών έναντι αυτής. Η γλυκοζυλίωση στον αντίποδα, μειώνει την ανασταλτική δραστηριότητα και τη συγγένεια του φλαβονοειδούς προς το ένζυμο με τρόπο που εξαρτάται από τη μορφή του συνδεδεμένου σακχάρου. Σχετικά με την παρουσία μιας μεθοξυομάδας, δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ αυτής και της δραστηριότητας ενός φλαβονοειδούς.^[162] Επιπλέον, η ανάλυση της επίδρασης της δομής των φλαβονοειδών από τα φρούτα του φυτού *Paulownia tomentosa*, έδειξε ότι τα γερανυλιωμένα φλαβονοειδή στο άτομο άνθρακα C-6 (π.χ. διπλακόνη) είναι ζωτικής σημασίας ως προς την αναστολή τους έναντι των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE). Η έλλειψη αυτού του τμήματος στο συντακτικό τύπο των φλαβονοειδών προκαλεί σημαντική μείωση της αναστολής (π.χ. εριοδικτυόλη με $IC_{50}=1663\mu M$). Έχει επίσης αποδειχθεί ότι οι διυδροφλαβονόλες (μεθυλοδιπλακόνη) παρουσιάζουν ισχυρότερη αναστολή σε σύγκριση με τις φλαβόνες (μεθυλοδιπλακόνη).^[164]



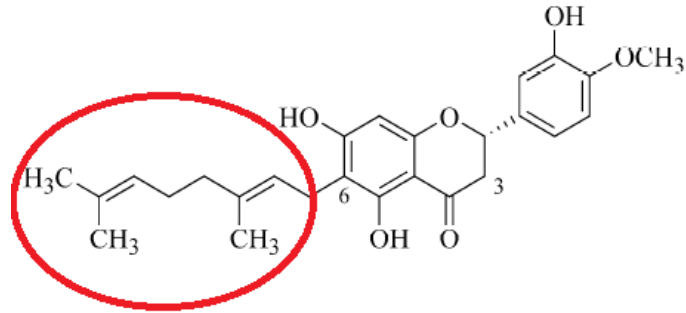
Εικόνα 45: Χημική δομή της διπλακόνης



Εικόνα 46: Χημική δομή της εριοδικτυόλης

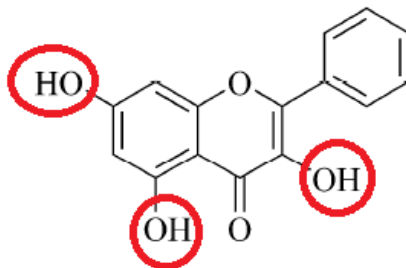


Εικόνα 47: Χημική δομή της μεθυλοδιπλακόνης

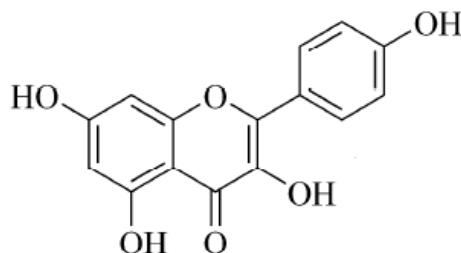


Εικόνα 48: Χημική δομή της μεθυλοδιπλακόνης

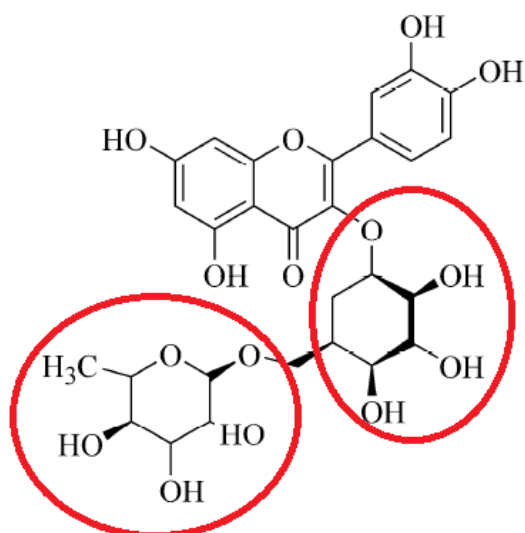
Μέσα από διάφορες άλλες έρευνες, μελετήθηκαν επιλεγμένα флаβονοειδή ως προς την ικανότητα σύνδεσης τους με τα ένζυμα (γαλαγγίνη, καεμπφερόλη, κερκετίνη, μυρικετίνη, φισετίνη, απιγενίνη, λουτεολίνη και ρουτίνη).^[165] Η ανασταλτική ισχύς των флаβονοειδών προς την βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) αποδείχθηκε ότι εξαρτάται από την παρουσία και τη θέση των ομάδων υδροξυλίου στη δομή. Από την άλλη πλευρά, ένα τμήμα σακχάρου που προκαλεί στερική παρεμπόδιση μειώνει αυτές τις ιδιότητες. Η γαλαγγίνη έδειξε την ισχυρότερη δραστηριότητα, η καεμπφερόλη παρουσίασε ασθενέστερη δραστηριότητα και η ρουτίνη ήταν η πιο ασθενής.



Εικόνα 49: Χημική δομή της γαλαγγίνης



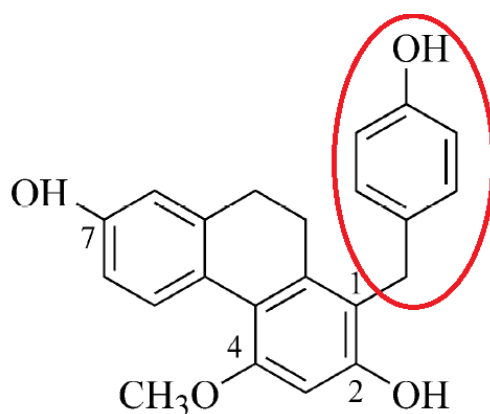
Εικόνα 50: Χημική δομή της καεμπφερόλης



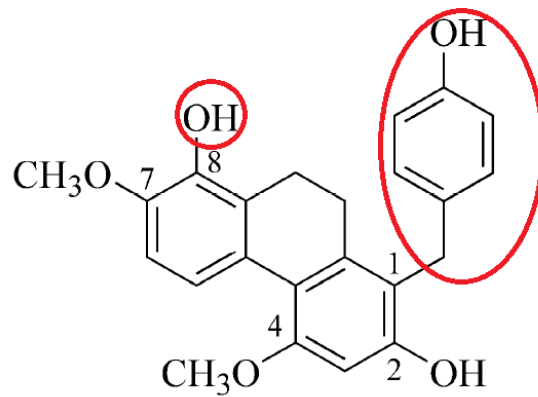
Εικόνα 51: Χημική δομή της ρουτίνης

5.6 Φαινανθρένια

Τα φαινανθρένια είναι μια ομάδα φυσικών ενώσεων με δομή βασισμένη στο σκελετό φαινανθρενίου που εμφανίζονται με τη μορφή μονομερών, διμερών ή τριμερών παραγώγων.^[166] Μια δημοσίευση επιστημόνων περιέγραψε ότι η παρουσία υποκαταστατών στα άτομα άνθρακα C-2 και C-7 είναι υπεύθυνη για την ισχυρότερη αναστολή της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) που επέδειξαν τα φαινανθρένια που απομονώθηκαν από το φυτό *Bletilla striata*.^[167] Η δράση είναι πιο ισχυρή όταν το φαινανθρένιο αντικαθίσταται με μια υδροξυ ομάδα (π.χ. 1-[(4-υδροξυφαινυλ)μεθυλ]-4-μεθοξυ-2,7-φαινανθρενοδιόλη), ενώ η υποκατάσταση με μια μεθοξυ ομάδα μειώνει αυτό το αποτέλεσμα (π.χ. 1-(4-υδροξυβενζυλ)-4,7-διμεθοξυφαινανθρενο-2,8-διόλη). Υποκαταστάτες στο άτομο άνθρακα C-8 (υδροξυ ομάδα) και επίσης στο άτομο άνθρακα C-1 (4-υδροξυβενζύλιο) βελτιώνουν τη συγγένεια του φαινανθρενίου με το ένζυμο.^[167]



Εικόνα 52: Χημική δομή της 1-[(4-υδροξυφαινυλ)μεθυλ]-4-μεθοξυ-2,7-φαινανθρενοδιόλης

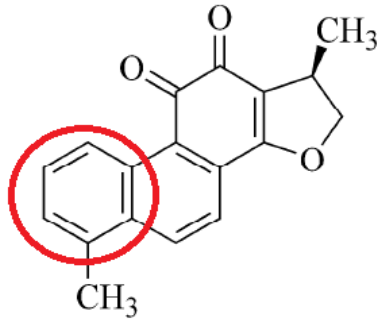


Εικόνα 53: Χημική δομή της 1-(4-υδροξυβενζυλ)-4,7-διμεθοξυφαινανθρενο-2,8-διόλης

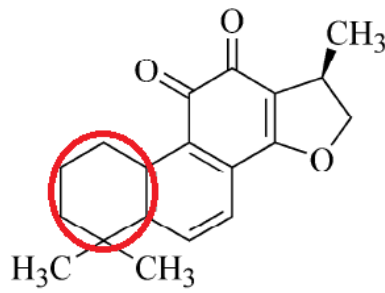
5.7 Τερπένια

Πρόκειται για ενώσεις συσσωματωμένες από συνδεδεμένες υπομονάδες ισοπρενίου. Μπορούν να διακριθούν σε μονοτερπένια, σεσκιτερπένια, διτερπένια και τριτερπένια.^[144] Δοκιμάζοντας εκχυλίσματα των ριζών του φυτού *Salvia miltiorhiza Bunge*, παρατηρήθηκε ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) από τα διτερπένια διυδροτανσινόνη I ($IC_{50}=1\mu M$) και κρυπτοτανσινόνη ($IC_{50}=7\mu M$) και ασθενής δραστηριότητα από την τανσινόνη I ($IC_{50}>50\mu M$) και την τανσινόνη IIA ($IC_{50}>140\mu M$).^[168]

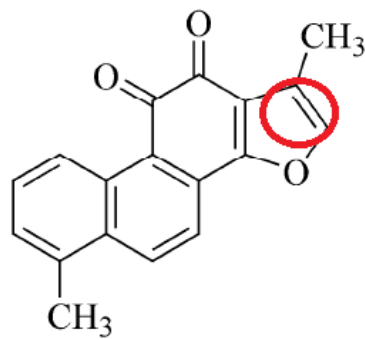
Οι επιστήμονες υπέθεσαν ότι η ανασταλτική δραστηριότητα που επέδειξαν τα μόρια, είναι πιθανώς αποτέλεσμα της ύπαρξης ενός δακτυλίου διυδροφουρανίου αντί για δακτύλιο φουρανίου όπου η παρουσία του τελευταίου υποδηλώνει ασθενή ανασταλτική δράση. Επιπλέον, οι ενώσεις που περιείχαν έναν αρωματικό δακτύλιο στις δομές τους παρουσίασαν πολύ εντονότερη δραστηριότητα σε σύγκριση με εκείνες που στην ίδια θέση είχαν έναν δακτύλιο κυκλοξανίου.^[168] Παρά ταύτα, μια άλλη μελέτη έδειξε αρκετά διαφορετικά αποτελέσματα.^[169] Αυτή τη φορά δεν παρατηρήθηκε ανασταλτική δραστηριότητα στις ενώσεις τανσινόνη IIA και κρυπτοτανσινόνη ενώ αντίθετα ισχυρή δραστηριότητα έδειξαν οι ενώσεις τανσινόνη I και διυδροτανσινόνη I. Οι δύο τελευταίες ενώσεις, παρότι είναι παρόμοιες σε όρους αρωματικών δακτυλίων, διαφέρουν μόνο ως προς την παρουσία ή την έλλειψη διπλού δεσμού στο δακτυλίδι φουρανίου. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, οι επιστήμονες διατύπωσαν την εικασία πως για την ανασταλτική επίδραση στην ακετυλοχολινεστεράση (AChE), η δομή του αρωματικού δακτυλίου (δηλαδή η παρουσία ή έλλειψη διπλών δεσμών) μπορεί να είναι πιο σημαντική από αυτήν του δακτυλίου φουρανίου.^[169]



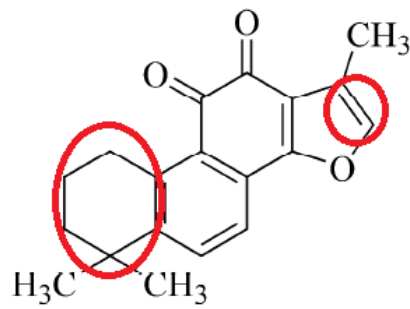
Εικόνα 54: Χημική δομή της διυδροαρτεμισινόνης I



Εικόνα 55: Χημική δομή της κρυπτοαρτεμισινόνης



Εικόνα 56: Χημική δομή της αρτεμισινόνης I

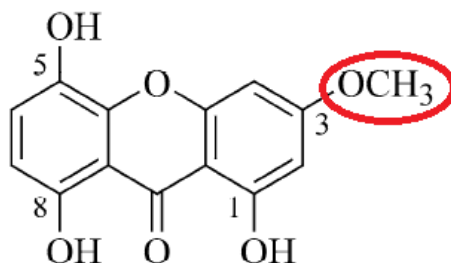


Εικόνα 57: Χημική δομή της αρτεμισινόνης II A

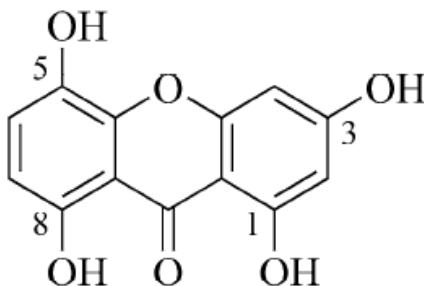
5.8 Ξανθονοειδή

Τα ξανθονοειδή και οι ξανθόνες είναι υποομάδες πολυφαινολών με δομές που βασίζονται στον τρικυκλικό σκελετό της διβενζο-γ-πυρόνης.^[170] Υστερα από διάφορες μελέτες, αποδείχθηκε ότι οι ξανθόνες που απομονώθηκαν από το φυτό *Gentiana campestris* εμφάνισαν έντονη ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^[171] Το Bellidifolin είχε το καλύτερο αποτέλεσμα. Ειδικότερα, πέτυχε ανασταλτική δραστηριότητα σε ελάχιστη ποσότητα, παρόμοια με εκείνη της γαλανθαμίνης ($IC_{50}=0.03nM$), ενώ τα λιγότερο επιθυμητά αποτελέσματα ήταν αυτά της μπελλιδίνης ($IC_{50}=0.15nM$) και των γλυκοσιδών της μπελλιδιφολίνης. Η γλυκοκυρανοσίδη επέδειξε ακόμα πιο ισχυρή δραστηριότητα ($IC_{50}=0.18nM$).^[171]

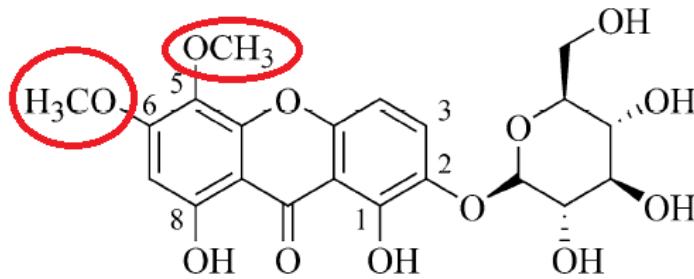
Η ασθενέστερη αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) από τις γλυκοσίδες, πιθανώς μπορεί να εξηγηθεί από τη στερική παρεμπόδιση και την υδροφοβία. Από την άλλη πλευρά, οι ξανθόνες που περιέχουν μια επιπλέον μεθοξυλομάδα στο άτομο άνθρακα C-3, παρουσίασαν ισχυρότερη δραστηριότητα.^[171] Ακόμη, σε μια πρόσφατη μελέτη επιστημόνων διερευνήθηκε η δραστηριότητα των ξανθονών που απομονώθηκαν από το φυτό *Gentianella amarella*.^[172] Τα συμπεράσματα κατέδειξαν ασθενέστερη δραστηριότητα ως προς την μπελλιδίνη και τη μπελλιδιφολίνη και μόνο η τριπτεξανθοζίτη C εμφάνισε σημαντική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^[172] Η συγκεκριμένη ένωση περιέχει μια ομάδα μεθοξυλίου στη δομή της, γεγονός το οποίο μπορεί να επηρέασε το καλύτερο αποτέλεσμα αναστολής της χολινεστεράσης.



Εικόνα 58: Χημική δομή της μπελλιδιφολίνης



Εικόνα 59: Χημική δομή της μπελλιδίνης



Εικόνα 60: Χημική δομή της τριπτεξανθοζίτης C

6. ΣΥΓΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ-ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

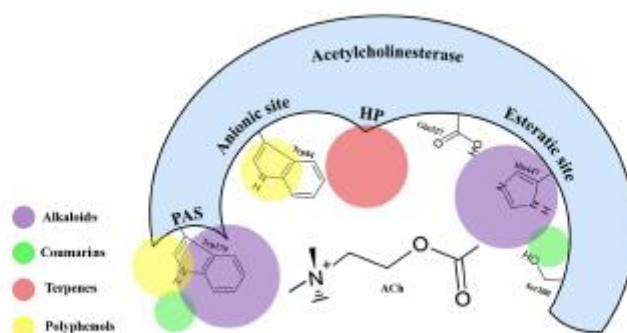
Συγκεφαλαιώνοντας, η πιθανή δραστηριότητα ενός αναστολέα ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) επηρεάζεται από την παρουσία ομάδων υδροξυλίου και μεθοξυλίου στο μόριο και επίσης από της παρουσία του κατιονικού μέρους στη δομή της ένωσης (π.χ. άτομο αζώτου στο ετεροκυκλικό σύστημα). Ακόμη, η δομή του αναστολέα που μοιάζει με υπόστρωμα (ή της ακετυλοχολίνης), υποδεικνύει την ανταγωνιστική αναστολή του ενζύμου και παρουσιάζει διάφορα προτερήματα στη φαρμακολογία. Στον αντίποδα, μεγάλα μόρια π.χ. γλυκοσιδικές μορφές των υπό δοκιμή ενώσεων, χαρακτηρίστηκαν από ασθενέστερη ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) λόγω της στερικής τους παρεμπόδισης στο ένζυμο. Επίσης, αξίζει να επισημανθεί πως ο διαφορετικός αριθμός και η θέση εντοπισμού διπλών δεσμών στο μόριο, κατά προτίμηση σε συζευγμένα συστήματα (π.χ. διαρυλοεπτανοειδή και αλκαλοειδή *Amaryllidaceae*) κατέχουν σπουδαίο ρόλο στην αναστολή. Με την αύξηση του αριθμού των συζευγμένων συστημάτων διπλού δεσμού καθώς και με την παρουσία υποκαταστατών που πολώνουν το αρωματικό σύστημα, αυξάνεται η ενέργεια δέσμευσης του αναστολέα με το υπόλειμμα πρωτεΐνης του ενζύμου.^[173] Η παρουσία αυτών των υποκαταστατών στις ενώσεις ήταν επίσης σημαντική στην αναστολή έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Αυτό μπορεί να σχετίζεται με την ικανότητα της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) να υδρολύει τόσο τη βουτυρυλοχολίνη όσο και την ακετυλοχολίνη.^[174] Η δομή του μορίου του ενζύμου της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) επιτρέπει την κατάλυση μεγάλων ομάδων ακυλίου, που το μόριο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) δεν είναι ικανό. Ως εκ τούτου, υπάρχουν πολλοί αναστολείς που είναι ανενεργοί έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), ενώ επιδεικνύουν μέτρια ή ισχυρή δραστηριότητα προς τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE). Αυτό μπορεί να οφείλεται στη στερική παρεμπόδιση του ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), λόγω των μεγάλων διακλαδισμένων δομών τέτοιων ενώσεων (π.χ. ξανθονοειδή από το φυτό *Gentiana campestris*).

7. Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΥΝΔΕΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΕ ΤΑ ΜΟΡΙΑ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΚΑΙ Ο ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΔΟΜΗΣ-ΣΥΝΔΕΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Η ενεργή περιοχή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) περιέχει δύο κύριες υποπεριοχές, τις «εστερικές» και τις «ανιονικές», που αντιστοιχούν στον καταλυτικό μηχανισμό και τον θύλακα δέσμευσης χολίνης αντίστοιχα. Όπως απεικονίζεται και στην εικόνα 61, η «εστερική» υποπεριοχή αποτελείται από υπολείμματα ιστιδίνης (His447), ενώ η «ανιονική» από υπολείμματα τρυπτοφάνης (Trp84), ικανά να δεσμεύουν τεταρτοταγείς συνδέτες οι οποίοι μπορεί να λειτουργήσουν ως ανταγωνιστικοί αναστολείς.^[175]

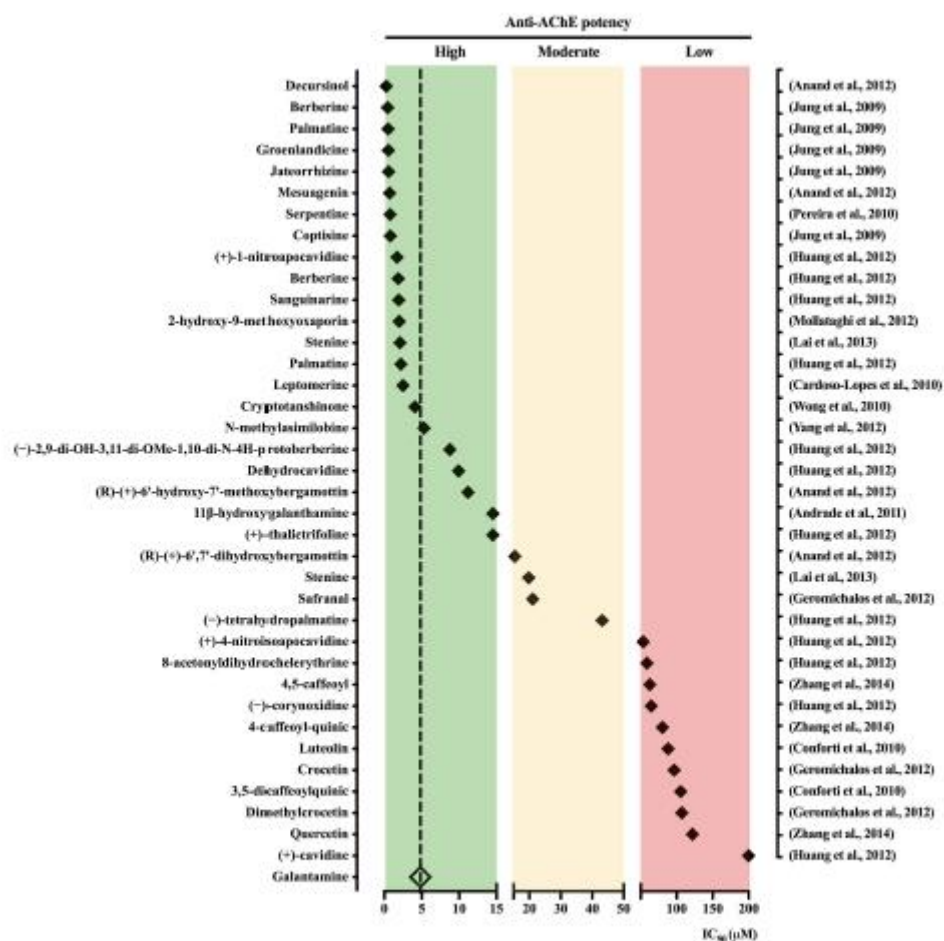
Η πλειοψηφία των φυσικών αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) ανήκουν στην ομάδα των αλκαλοειδών. Η αντι-AChE δράση των αλκαλοειδών αποδίδεται στις πολύπλοκες δομές αζώτου τους, οι οποίες όντας θετικά φορτισμένες δεσμεύονται στην «ανιονική» υποπεριοχή της ενεργής περιοχής της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^{[176][177]} Για παράδειγμα, η γκαλανταμίνη αναστέλλει την ακετυλοχολινεστεράση (AChE), δεσμευόμενη σταθερά με τα υπολείμματα τρυπτοφάνης (Trp84) καθώς και με υπολείμματα φαινυλαλανίνης στον θύλακα δέσμευσης ακυλίου.^[178] Από την άλλη πλευρά, αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) που δεν ανήκουν στην κατηγορία των αλκαλοειδών και περιλαμβάνουν τερπένια, φλαβονοειδή και άλλες φαινολικές ενώσεις, φαίνεται να δρουν ως μη ανταγωνιστικοί αναστολείς δεσμευόμενοι σε περιφερειακές ανιονικές θέσεις (PAS), οι οποίες αντιπροσωπεύονται κυρίως από τα υπολείμματα τυροσίνης (Tyr70), ασπαραγινικού οξέος (Asp74), τυροσίνης (Tyr121), τρυπτοφάνης (Trp279) και τυροσίνης (Tyr334).^[179]

Η εικόνα 62 απεικονίζει τις απομονωμένες ενώσεις που ταυτοποιούνται ως πιθανοί φυσικοί αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) και οι οποίες ταξινομήθηκαν σε τρεις κατηγορίες σύμφωνα με τις χαρακτηριστικές τιμές τους IC_{50} : υψηλής ισχύος με $IC_{50} < 15 \mu M$, μέτριας ισχύος με $15 \mu M < IC_{50} < 50 \mu M$ και χαμηλής ισχύος με $50 \mu M < IC_{50} < 1000 \mu M$. Ως ουσία αναφοράς λήφθηκε υπόψη η γκαλανταμίνη.



Εικόνα 61: Σχηματική αναπαράσταση των ενεργών θέσεων σύνδεσης της ακετυλοχολινεστεράσης για τις κύριες κατηγορίες φυσικών αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is). Ειδικότερα, εμφανίζεται ο θύλακας

φαραγγιού που αποτελείται από τις ακόλουθες θέσεις πρόσδεσης: εστερική θέση, ανιονική θέση, περιφερειακή ανιονική θέση (PAS) και υδρόφοβος θύλακας (HP). Οι έγχρωμοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τις κύριες θέσεις δέσμευσης για τις ενώσεις που σχετίζονται με τις υποδεικνυόμενες κατηγορίες.



Εικόνα 62: Φυτικοί αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) που δημοσιεύτηκαν στη μελέτη Pubmed από το 2007 έως το 2018 και οι οποίοι ταξινομήθηκαν σε φυσικές ενώσεις AChE-Is: υψηλής δραστηριότητας (πράσινο φόντο), μέτριας δραστηριότητας (πορτοκαλί φόντο) και χαμηλής δραστηριότητας (κόκκινο φόντο). Το σύμβολο του διαμαντιού αντιπροσωπεύει την τιμή IC₅₀ για κάθε ένωση (στα αριστερά) όπως αυτή περιγράφεται στην αντίστοιχη μελέτη (στα δεξιά).

Δεκαέξι ενώσεις παρουσίασαν αντι-AChE ισχύ υψηλότερη από αυτή της γκαλανταμίνης και οι οποίες περιλαμβάνουν 1 τερπένιο, 2 κουμαρίνες και 13 αλκαλοειδή. Άλλες είκοσι επιπλέον ενώσεις που σχετίζονται με флаβονοειδή και φαινολικά οξέα επιλέχθηκαν επίσης με IC₅₀ που κυμαίνεται από 5.33 έως 200µM (εικόνα 62).

Η διυδροπυρανοκουμαρίνη δεκουρσινόλη που απομονώθηκε από το φυτό *Angelica gigas* Nakai (Ariaceae) ήταν ο πιο ισχυρός αναστολέας ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-I) (IC₅₀=0.28µM).^[180] Η υψηλή ισχύς της αποδόθηκε αφενός μεν σε χαρακτηριστικά κυκλοποίησης της ισοπρενυλικής μονάδας στο άτομο άνθρακα C-6

και αφετέρου σε λειτουργικές ομάδες που συνδέονται με τον πυρήνα κουμαρίνης και οι οποίες διαφέρουν από αυτές άλλων κουμαρινών.^[181]

Τα κύρια αλκαλοειδή με αναγνωρισμένη αντι-AChE δράση είναι η γκαλανταμίνη και η χουπερζίνη Α.^{[182][183]} Ωστόσο, διαπιστώθηκε πως και άλλα προσφάτως ανακαλυφθέντα αλκαλοειδή από διάφορες υποκατηγορίες αξίζουν ιδιαίτερη έμφαση λόγω της σημαντικής ανασταλτικής τους δράσης έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^[184] Διάφοροι επιστήμονες αξιολόγησαν την αντι-AChE δράση πέντε αλκαλοειδών πρωτοβερβερίνης που απομονώθηκαν από το ρίζωμα του *Cortis spp.* (βερβερίνη, παλματίνη, groenlandicine, jateorrhizine και κοπτισίνη) με εύρος IC₅₀ από 0.44 έως 0.80 μΜ. Η groenlandicine ανέστειλε έντονα το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη διάσπαση της β-θέσης της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς, προσθέτοντας μια σημαντική ιδιότητα κατά της παθογένεσης της AD. Οι δυνατότητες των αλκαλοειδών πρωτοβερβερινών ως φυσικών αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is), ενισχύθηκαν περαιτέρω από την απομόνωση δώδεκα αλκαλοειδών ισοκινολίνης, συμπεριλαμβανομένων δύο νέων νιτροτετραϋδροπρωτοβερβερινών (2,9-διυδροξυ-3,11-διμεθοξυ-1,10-δινιτροτετραϋδροπρωτοβερβερίνη και 4-νιτροϊσοαποκαβιδίνη) που απομονώθηκαν από το φυτό *Corydalis saxicola Bunting* (Papaveraceae). Όλα τα αλκαλοειδή ήταν εκλεκτικά ενεργά έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) με IC₅₀<10 μΜ. Μελέτη σχέσης δομής-δραστηριότητας έδειξε ότι οι διαφορές ισχύος σχετίζονται με την παρουσία φαινολικών υδροξυ ομάδων, οι οποίες θα μπορούσαν να μειώσουν την αντι-AChE δραστηριότητα. Αντίθετα οι υποκαταστάτες νίτρο στον δακτύλιο Α, ειδικά στο άτομο άνθρακα C-1 στις τετραϋδροπρωτοβερβερίνες θα μπορούσαν να αυξήσουν την αντι-AChE δραστηριότητα.^[185]

Μελέτες για τους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους οι φυσικοί αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) αλληλεπιδρούν με τις υποπεριοχές δέσμευσης της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) είναι ακόμη ελάχιστες αν και ορισμένες μελέτες έχουν προσφέρει σημαντικές πληροφορίες επ' αυτού.

Η σερπεντίνη, το κύριο αλκαλοειδές που βρίσκεται στις ρίζες του *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), παρουσίασε ιδιαίτερα υψηλή αντι-AChE ισχύ (IC₅₀=0.77 μΜ) η οποία αποδόθηκε στη δέσμευση του τεταρτοταγούς αζώτου της σε ένα υπόλειμμα ασπαραγινικού οξέος (Asp) στην περιφερειακή ανιονική θέση της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE).^{[186][187]}

Σε μια άλλη αξιολόγηση αλκαλοειδών που εξήχθησαν από τις ρίζες του φυτού *Stemona sessilifolia* (Stemonaceae), αναγνωρίστηκε η ανασταλτική ισχύς έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) της στενίνης Β (IC₅₀=2.10 μΜ) και της στενίνης (IC₅₀=19.8 μΜ). Οι επιστήμονες απέδωσαν την ισχυρότερη δραστηριότητα της στενίνης Β στην ικανότητα της να χιτίζει δεσμούς υδρογόνου με το υπόλειμμα τυροσίνης (Tyr130), παρόμοια με τη χουπερζίνη Α. Επιπρόσθετα, χρωματογραφική κλασμάτωση του εκχυλίσματος φύλλων του φυτού *Nelumbo nucifera Gaertn* (Nelumbonaceae), οδήγησε σε απομόνωση τριών αλκαλοειδών τύπου απορφίνης, μιας σημαντικής υποκατηγορίας των φυσικών αναστολέων της

ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Μεταξύ αυτών, η Ν-μεθυλοσιμιλοβίνη εμφάνισε σημαντική αντι-AChE δράση με $IC_{50}=5.33\mu M$. Σύμφωνα με τις *in silico* μελέτες, αυτή η ισχύς οφειλόταν αφενός μεν σε μια ομάδα υδροξυλίου στο άτομο άνθρακα C-2 του αλκαλοειδούς, η οποία σχηματίζει δεσμό υδρογόνου με μια ομάδα καρβονυλίου του υπολείμματος σερίνης (Ser293) και αφετέρου σε έναν άλλο δεσμό υδρογόνου μεταξύ του τεταρτοταγούς αζώτου του αλκαλοειδούς και της υδροξυλομάδας του υπολείμματος τυροσίνης (Tyr124).^[188] Επίσης, είναι ευρέως γνωστό πως τα φυτά *Lamiaceae* έχουν χρησιμοποιηθεί για αιώνες για τα ευεργετικά τους αποτελέσματα στις διαταραχές της μνήμης.^{[189][190]}

Ορισμένοι διακεκριμένοι επιστήμονες απέδειξαν ότι το διτερπένιο κρυπτοτανσινόνη που εξάγεται από τη ρίζα του *Salvia miltiorrhiza Bunge* αποτελεί έναν αναστρέψιμο αναστολέα της ανθρώπινης ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ($IC_{50}=4.09\mu M$) και ότι η χρόνια χορήγηση του από το στόμα μπορεί να αναστρέψει τα γνωστικά ελλείμματα, όπως αποδείχθηκε μέσα από πειράματα σε αρουραίους. Στο σημείο αυτό χρήζουν αναφοράς και τα φλαβονοειδή, μια ετερογενής ομάδα πολυφαινολών που σήμερα θεωρούνται ως μια εξέχουσα πηγή ενώσεων για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer, κυρίως λόγω του ότι η πιθανή ανασταλτική τους δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) συνδυάζεται με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και συγχρόνως χαμηλή τοξικότητα.^{[191][192]} Όμως, η έρευνα δεν εντόπισε κάποιον εξαιρετικά ισχυρό και κατά συνέπεια εξέχοντα αναστολέα ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-I) που να σχετίζεται με την τάξη των φλαβονοειδών. Για παράδειγμα, η λουτεολίνη και το 3,5-δικαφεοϋλκινικό οξύ και διάφορες φαινολικές ενώσεις που εξήχθησαν από το φυτό *Phagnalon saxatile Cass.* (Compositae) παρουσίασαν χαμηλή δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) με τιμές IC_{50} 88 και $105\mu M$, αντίστοιχα.^[193]

8. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

Εκτός από τη γκαλανταμίνη, η χουπερζίνη Α είναι πιο κλινικά μελετημένος αναστολέας ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-I) από την κατηγορία των αλκαλοειδών.^[183] Η αποτελεσματικότητα της χουπερζίνης Α αποδείχθηκε στη θεραπεία 447 ασθενών με εξασθένιση της μνήμης ή άνοια που σχετίζεται με την ηλικία.^{[194][195]} Σε μια άλλη μελέτη στο στάδιο της φάσης II, τα αποτελέσματα δεν ήταν οριστικά για τις ευεργετικές γνωστικές επιδράσεις της χουπερζίνης Α στους ασθενείς με μέτρια AD, με συνέπεια να απαιτείται περαιτέρω έρευνα.^[196] Επίσης, σε μια κλινική δοκιμή με τις ρίζες του φυτού *Salvia officinalis L.* σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια AD, παρατηρήθηκε πως ύστερα από μια περίοδο 16 εβδομάδων, οι πάσχοντες παρουσίασαν βελτιωμένη γνωστική απόδοση.^[197] Το ίδιο φυτό μείωσε επίσης τη γνωστική εξασθένιση σε ασθενείς που έπασχαν από μέτρια έως σοβαρή AD, όταν χρησιμοποιήθηκε για διάρκεια έως και ένα έτος. Όμως, οι επιστήμονες αναγνώρισαν ότι μακροπρόθεσμα η αποτελεσματικότητα, η ασφάλεια και η στρατηγική

διαχείρισης απαιτούν επιπλέον έρευνες.^[198] Τα φυτά *Salvia spp.* είναι ιδιαίτερα πλούσια σε τερπένια, των οποίων η αντι-AChE ικανότητα έχει αξιολογηθεί μέσω αρκετών προκλινικών δοκιμών και αναμένονται οι τελικές κλινικές δοκιμές.^{[199][200]}

Σε μια τυχαιοποιημένη δοκιμή διάρκειας 22 εβδομάδων σε 54 άτομα που έπασχαν από ήπια έως μέτρια AD, διαπιστώθηκε ότι η ημερήσια πρόσληψη αποξηραμένου εκχυλίσματος *Crocus sativus L.* (Iridaceae) στη δόση των 30mg/ημέρα βελτίωσε σημαντικά τη γνωστική ικανότητα σε συγκρίσιμο βαθμό με αυτήν που παρατηρήθηκε σε ασθενείς που έλαβαν δονεπεζίλη.^[201]

9. ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΙΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ

Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση 43 τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών, ελεγχόμενων με εικονικό φάρμακο, έδειξε ότι οι αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) βελτίωσαν τη γνωστική λειτουργία, τη λειτουργική ικανότητα και τα γενικότερα συμπτώματα και επέφεραν στους ασθενείς μειωμένη θνησιμότητα.^[202] Ωστόσο, οι ασθενείς που έλαβαν αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is), παρουσίασαν υψηλότερη διακοπή λόγω παρενεργειών, γεγονός εξαιρετικά σημαντικό για την αντι-AChE θεραπεία. Όπως φαίνεται στην Παράρτημα Α, η πλειοψηφία των μελετών που βασίστηκαν σε φυτικά εκχυλίσματα που αναφέρονται σε αυτήν την ανασκόπηση δεν έχει αξιολογήσει την τοξικότητα τους στα ζώα ή τους ανθρώπους αν και είδη όπως τα *S.officinalis* και *P.hydroripes* θεωρούνται ως μη τοξικά.^{[200][203]} Ανάμεσα στις κύριες ενώσεις που δρουν ως φυσικοί αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is), η βερβερίνη και η σαφρανάλη φαίνεται ότι διαθέτουν περισσότερα πλεονεκτήματα παρά μειονεκτήματα. Παρ' όλα αυτά, η βερβερίνη εκτός από άλλες λιγότερο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες, έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί ήπιες γαστρεντερικές αντιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της διάρροιας και της δυσκοιλιότητας.^[204] Η σαφρανάλη έχει τοξικές επιδράσεις στους αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες και επάγει εμβρυϊκές δυσπλασίες σε μοντέλα ζώων σε υψηλές δόσεις.^[205]

10. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ

Ανασκοπήσεις έδειξαν ότι κατά την τελευταία δεκαετία αρκετά είδη φυτών και οι δυνητικά δραστικές τους ενώσεις ελέγχθηκαν για τη δράση τους έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Παρατηρώντας προσεκτικά τις μεμονωμένες ουσίες που συνοψίζονται στην εικόνα 62, οι περισσότερες ενώσεις υψηλής ισχύος που αξιολογήθηκαν κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, αφορούν την κατηγορία των αλκαλοειδών με πιο ισχυρή τη δεκουρσινόλη, μια διυδροπυρανοκουμαρίνη. Τα αλκαλοειδή είναι αναμφισβήτητα η πιο μελετημένη κατηγορία φυσικών αναστολέων

ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is), γεγονός που φαίνεται ότι έχει στρέψει την προσοχή των ερευνητών σε αυτήν την ομάδα ενώσεων, όταν αναζητούν νέους πιθανούς υποψηφίους αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is). Καθίσταται επιτακτική η ανάγκη αναζήτησης για δευτερογενείς φαρμακολογικές ιδιότητες, σχετικές με τη νόσο του Alzheimer μέσω πειραματικών προσεγγίσεων με σκοπό την εκμετάλλευση της ικανότητας τους να αποτρέπουν την παραγωγή οξειδωτικών βλαβών αντί της απλής απομάκρυνσης τους. Παρά την λειτουργική συνάφεια των νέων αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is), υπάρχει ελάχιστη γνώση για τις σχέσεις δομής-δραστηριότητας τους καθώς και για την τοξικολογική τους δράση. Για παράδειγμα, έχει αξιολογηθεί με επιτυχία η αντι-AChE δραστηριότητα της βερβερίνης και της πρωτοβερβερίνης, αλλά καμία μελέτη φάσης II δεν έχει διεξαχθεί μέχρι στιγμής. Τέτοιες μελέτες είναι απαραίτητες τόσο για την προώθηση της υψηλότερης ασφάλειας όσο και για την καθοδήγηση του σχεδιασμού νέων (ημι-)συνθετικών αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is). Έτσι, δεδομένης της πληθώρας φυτικών ειδών και των ενώσεων τους, η περαιτέρω αξιολόγηση μέσω κλινικών δοκιμών αντιπροσωπεύει το κύριο εμπόδιο που πρέπει να προσπελαστεί, προκειμένου να επεκταθεί και να βελτιωθεί η φαρμακολογική φροντίδα ασθενών με AD.

11. ΟΙ ΦΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΩΣ ΦΥΣΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΚΕΤΥΛΟΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ

Παρά την τεράστια έρευνα για τη νόσο του Alzheimer, η υποστηρικτική φροντίδα από την οικογένεια αντιπροσωπεύει ακόμα την κύρια θεραπεία, αν και η φαρμακοθεραπεία έχει εξελιχθεί σημαντικά κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας. Κατά την πρόοδο αυτή, πραγματοποιήθηκαν αρκετές μελέτες για την ταυτοποίηση και απομόνωση φυσικών μορίων, ιδανικών για το σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά της AD, ιδιαίτερα αυτών που αφορούν τις κατηγορίες αλκαλοειδών, τερπενίων, κουμαρινών και πολυφαινολών.^[206] Επομένως, η παρούσα βιβλιογραφική έρευνα συγκεφαλαιώνει τις μελέτες της τελευταίας δεκαετίας για την αντι-AChE δράση των διαφόρων φυτικών ειδών και των αντίστοιχων εκχυλισμάτων τους καθώς και μεμονωμένων ενώσεων, ικανών να βοηθήσουν τους ερευνητές με τη βιοπροβολή πιθανών νέων υποψηφίων αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is).

Η παρούσα ανασκόπηση αναθεωρεί διαθέσιμες μελέτες που δημοσιεύτηκαν στο πρώτο εξάμηνο μεταξύ των ετών 2007 και 2018 έχοντας τον ακόλουθο συνδυασμό περιγραφικών παραγόντων: «αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης και φυτικό εκχύλισμα». Η αντι-AChE δράση των φυτικών εκχυλισμάτων ή/και των απομονωμένων ενώσεων αξιολογήθηκαν σύμφωνα με τη μεθοδολογία Ellman's, η οποία θεωρείται ένα από τα πιο αξιόπιστα πρότυπα για τον προσυμπτωματικό έλεγχο των αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is).^{[207][208]} Οι έλεγχοι μπορεί να περιλαμβάνουν αλλά δεν περιορίζονται μόνο στην γκαλανταμίνη, την χουπερζίνη

Α και Β ή την φυσοστιγμίνη.^[209] Επίσης, η παρουσία της ημιμέγιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (IC_{50}) μας επιτρέπει να συγκρίνουμε τις ιδιότητες κατά της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) μεταξύ διαφορετικών φυτικών εκχυλισμάτων ή/και απομονωμένων ενώσεων.^[210] Συνολικά ανακτήθηκαν 207 πρωτότυπες μελέτες από τις οποίες οι 71 κρίθηκαν κατάλληλες. Οι λατινικές ονομασίες όλων των ειδών επικυρώθηκαν στο The Plant List (2013). Το όνομα που δόθηκε από τη μελέτη και το οποίο αναφέρθηκε ως συνώνυμο μέσα σε παρένθεση, διέφερε από αυτό που έγινε αποδεκτό στον κατάλογο φυτών και το κάθε φυτικό είδος αναγνωρίστηκε από το αποδεκτό, ακολουθούμενο από το συνώνυμο. Αυτό έγινε με σκοπό να βελτιωθεί η αναγνωσιμότητα του κειμένου και να αναγραφεί ορθά η ταυτότητα των ταξινομημένων φυτών για κάθε είδος, με εξαίρεση αυτά που αναφέρονται ως πηγή απομονωμένων ενώσεων, αλλά των οποίων τα εκχυλίσματα δεν αναλύθηκαν.

12. ΦΥΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΜΕ ANTI-AChE ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Τα Amaryllidaceae είναι η σπουδαιότερη οικογένεια των φυτών που έχουν αντι-AChE δράση, ιδιαίτερα τα *Galanthus* spp., τα οποία αποτελούν την αρχέγονη πηγή γκαλανταμίνης.^[211] Μετά την έγκριση της γκαλανταμίνης για τη θεραπεία της ήπιας έως μέτριας AD το έτος 2001, αξιολογήθηκε μια πληθώρα φυτικών ειδών σε μια προσπάθεια αναζήτησης νέων αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is). Στο χρονοδιάγραμμα της έρευνας που επακολούθησε εξετάστηκε ένα σύνολο από 39 μελέτες που ανέφεραν τη δράση κατά της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) για 51 φυτικά είδη από 29 διαφορετικές οικογένειες.

Οι πιο διαδεδομένες οικογένειες ήταν οι Amaryllidaceae, Lycopodiaceae και Polygonaceae, συνεισφέροντας με 5,5 και 4 είδη αντίστοιχα. Το φυτό *Huperzia* spp. συνέχισε να τραβά την προσοχή των ερευνητών φαρμακολογίας, παρά τα σταθερά και βασικά κλινικά στοιχεία που ήταν ήδη διαθέσιμα για την χουπερζίνη Α στη θεραπεία της AD.^{[212][213]}

Το Παράρτημα Α συνοψίζει τα υπό εξέταση είδη, τα οποία ταξινομήθηκαν σε τρεις κατηγορίες, σύμφωνα με τις τιμές IC_{50} που προσδιορίστηκαν για τα 12 αντίστοιχα εκχυλίσματα/κλάσματα τους: υψηλής δραστηριότητας με $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$, μέτριας δραστηριότητας με $20 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 200 \mu\text{g/mL}$ και χαμηλής δραστηριότητας με $200 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Τα παραπάνω αυτά όρια τιμών προέκυψαν σύμφωνα με τη μέση τιμή IC_{50} που περιγράφηκε για τη γκαλανταμίνη στη βιβλιογραφία ($2 \mu\text{M}$ ή $0.575 \mu\text{g/mL}$) πολλαπλασιασμένη επί έναν παράγοντα του 10.^{[214][215][216]}

24 είδη φυτών εμπίπτουν στην κατηγορία υψηλής δραστηριότητας με τιμές IC_{50} που κυμαίνονται από $0.3 \mu\text{g/mL}$ για εκχύλισμα βολβού οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Scadoxus puniceus* (Amaryllidaceae), για εκχύλισμα ρίζας οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Lansea schweinfurthii* (Anacardiaceae) και για κλάσμα ρίζας οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Carpolobia lutea* G. Don (Polygalaceae) μέχρι $18.9 \mu\text{g/mL}$ για το εκχύλισμα ρίζας οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Adenia gummifera* (Harv.) Harms (Passifloraceae) (Παράρτημα Α).^{[217][218]} Τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα,

αμφοτέρων των φυτών *runicus* και *L.schweinfurthii*, έδειξαν πολύ περιορισμένη αντιοξειδωτική δράση και ισχυρή αντι-AChE δράση λόγω του αλκαλοειδούς περιεχομένου τους.^[217] Η πρωτογενής εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα δεν καθιστά τα εκχυλίσματα πλούσια σε αλκαλοειδή και για αυτό απαιτείται εκτενέστερη μελέτη.^[219] Αναλύοντας τους διαλύτες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των ισχυρών εκχυλισμάτων αυτής της κατηγορίας (Παράρτημα Α), δεν προέκυψε άμεση συσχέτιση μεταξύ του διαλύτη, της πολικότητας και της αντι-AChE δράσης, ενισχύοντας την υπόθεση ότι οι μη αλκαλοειδείς δευτερογενείς μεταβολίτες όπως τα τερπενοειδή, τα φλαβονοειδή και άλλες φαινολικές ενώσεις θα ήταν τόσο δραστικοί όσο οι κλασικοί αλκαλοειδείς αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is).^[220] Για παράδειγμα, το κλάσμα ρίζας οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Carpolobia lutea* (Polygalaceae) του οποίου η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικό περιεχόμενο ήταν 296.5mg παρουσίασε χαρακτηριστική τιμή $IC_{50}=0.3\mu\text{g/mL}$ με περίπου την ίδια τιμή να προσδιορίζεται και στο αιθέριο έλαιο που απομονώθηκε από τα μέρη του φυτού *Salvia leriifolia* (Lamiaceae) το οποίο έδειξε μια τιμή $IC_{50}=0.32\mu\text{g/mL}$ και περιείχε καμφορά (10.5%), 1,8-κινεόλη (8.6%), καμφένιο (6.2%) και α-πινένιο (4.7%) ως κύρια συστατικά.^{[218][221]} Αντίθετα, το η-εξάνιο, ένα ολόκληρο κλάσμα ακατέργαστου εκχυλίσματος του φυτού *Polygonum hydropiper* (Polygonaceae), παρουσίασε μέτρια αντι-AChE δράση με τιμή $IC_{50}=35\mu\text{g/mL}$.^[222] Ακόμη, το αιθέριο έλαιο από τα φύλλα του ίδιου φυτού, έδειξε μια ισχύ σχεδόν τέσσερις φορές χαμηλότερη ($IC_{50}=120\mu\text{g/mL}$).^[223] Το αλκαλοειδές κλάσμα του εκχυλίσματος του φυτού *Esenbeckia leiocarpa* (Rutaceae) που λαμβάνεται με διαχωρισμό οξέος-βάσης της αιθανόλης, παρουσίασε $IC_{50}=1.6\mu\text{g/mL}$, τιμή η οποία αντιστοιχεί σε ανασταλτική ισχύ 30 περίπου φορές υψηλότερη συγκριτικά με το αρχικό ακατέργαστο εκχύλισμα ($IC_{50}=50.7\mu\text{g/mL}$).^[224] Επίσης, η αξιολόγηση της αντι-AChE δράσης του φυτού *Berberis aetnensis* και του εκχυλίσματος ρίζας του φυτού *Berberis libanotica*, των οποίων το κύριο συστατικό ήταν το αλκαλοειδές βερβερίνη, έδειξε 3 περίπου φορές υψηλότερη δραστηριότητα για το κλάσμα μεθανόλης ($IC_{50}=7.6$ και $16.9\mu\text{g/mL}$ αντίστοιχα) παρά για το κλάσμα πλούσιο σε αλκαλοειδή ($IC_{50}=24.5$ και $82.4\mu\text{g/mL}$ αντίστοιχα), υποστηρίζοντας τη συνέργεια μεταξύ αλκαλοειδών και μη αλκαλοειδών συστατικών εντός του κλάσματος μεθανόλης και από τα δύο είδη.^[225]

Αξίζει να τονιστεί ότι τα φυτά *Huperzia* spp. (Lycopodiaceae) έχουν χρησιμοποιηθεί για πάνω από 1000 χρόνια στην Κίνα για ποικίλες νευρωνικού τύπου ασθένειες.^[195] Σημείο αναφοράς για τη φαρμακευτική βιομηχανία υπήρξε η απομόνωση του αλκαλοειδούς της χουπερζίνης Α από το φυτό *H.serrata*.^[226] Έκτοτε, εκτενής έρευνα έχει επικεντρωθεί στην απομόνωση της χουπερζίνης Α και άλλων αλκαλοειδών *Lycopodium* από τα φυτά *Huperzia* spp. και άλλα είδη *Lycopodiaceae*.^{[212][213][227]} Στο πλαίσιο αυτής της έρευνας ανακτήθηκαν πρόσφατες μελέτες σχετικές με τη δράση κατά της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) 5 φυτικών ειδών *Huperzia* spp.: *H.serrata* (Ohba 2015), *H.squarrosa* (Tung 2017), *H.brevifolia*, *H.compacta* και *H.tetragona* (Armijos 2016).^{[228][229][230]} Στη μελέτη του Ohba (2015) το εμπλουτισμένο με αλκαλοειδή κλάσμα των μερών του φυτού *H.serrata*, του οποίου

το κύριο αλκαλοειδές συστατικό ήταν η χουπερζίνη Α (0.5%), παρουσίασε τιμή $IC_{50}=5.96\mu\text{g/mL}$.^[228] Στη μελέτη του Armijos (2016), ενώ το αλκαλοειδές κλάσμα των μερών του φυτού *H.tetragona* ανέστειλε έντονα την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) ($IC_{50}=0.9\mu\text{g/mL}$), τα φυτά *H.brevifolia* και *H.compacta* παρουσίασαν μέτρια ισχύ ($IC_{50}=39.6$ και $62.4\mu\text{g/mL}$ αντίστοιχα).^[230] Οι επιστήμονες απέδωσαν την υψηλή δραστηριότητα του *H.tetragona* σε άλλα αλκαλοειδή *Lycorodium*, κυρίως στην λυκοποδίνη και την *des-N-methyl-a-obscurine*, καθώς η χουπερζίνη Α δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα από τα αξιολογούμενα είδη. Ο Tung (2017) αξιολόγησε την αντι-AChE δράση σε τρία διαφορετικά κλάσματα που ελήφθησαν από το αιθανολικό εκχύλισμα των μερών του φυτού *H.squarrosa*.^[229] Τα κλάσματα EtOAc και BuOH παρουσίασαν μέτρια δραστηριότητα με τιμές $IC_{50}=23.44$ και $50.11\mu\text{g/mL}$ αντίστοιχα. Το κλάσμα n-εξανίου παρουσίασε τη χαμηλότερη ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ($IC_{50}=257.03\mu\text{g/mL}$). Όπως φάνηκε στις παραπάνω αυτές μελέτες, η αντι-AChE δράση των φυτικών εκχυλισμάτων είναι ιδιαίτερος μεταβλητή, ανεξάρτητα από την κυρίαρχη κατηγορία του δευτερογενούς μεταβολίτη ή την πολικότητα του διαλύτη εκχύλισης.

Επιπρόσθετα, οι περισσότεροι ερευνητές αξιολόγησαν και την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, προκειμένου να αποδειχθεί η διπλή τους αποτελεσματικότητα. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι περισσότερες μελέτες που αναφέρονται στο Παράρτημα Α έχουν είτε ποσοτικοποιημένη την ολική περιεκτικότητα σε φαινόλη, είτε υπολογισμένη την αντιοξειδωτική ικανότητα στα εκχυλίσματα τους. Τέτοιες εκτιμήσεις απαιτούν κατάλληλες μεθόδους που διερευνούν τον μηχανισμό της αντιοξειδωτικής δράσης και εστιάζουν στην κινητική των αντιδράσεων που αφορούν τα αντιοξειδωτικά (amorati και valgimigli, 2018).^[231] Η περιεκτικότητα σε φαινόλη μετρήθηκε κυρίως με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, η οποία ποσοτικοποιεί επίσης και τις μη φαινολικές ενώσεις, όπως αρωματικά αμινοξέα, σάκχαρα, ασκορβικό οξύ και οργανικά οξέα.^[232] Για το λόγο αυτό η μέθοδος αυτή δεν ενδείκνυται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ολικής φαινόλης. Η αντιοξειδωτική ικανότητα αξιολογήθηκε κυρίως με παγίδευση των ριζών DPPH· και ABTS·+, τα οποία είναι μη βιολογικά οξειδωτικά (amorati και valgimigli, 2018).^[231] Έτσι, τα περισσότερα φυτικά εκχυλίσματα προωθούνται στην αγορά του φαρμάκου ως διπλά αποτελεσματικά (αντι-AChE και αντιοξειδωτικά) και εξαιτίας αυτού χρήζουν μιας εκτενέστερης βιολογικής προσέγγισης.

13. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΩΝ

Η ανασκόπηση που θα επακολουθήσει εστιάζει στην πρόσφατη ερευνητική πρόοδο στο σχεδιασμό, τη σύνθεση και τη μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας των νέων αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) της τελευταίας δεκαετίας. Εξετάζοντας τα επιστημονικά ευρήματα από την οπτική γωνία του σχεδιασμού των ενώσεων-στόχων, διαπιστώθηκε ότι οι υπάρχοντες αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE)

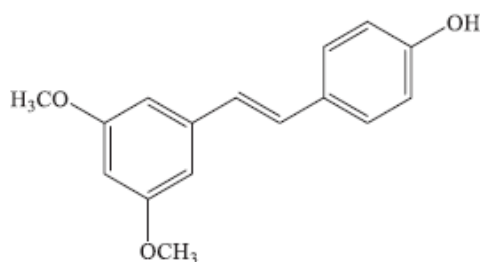
είχαν χρησιμοποιηθεί ως ενώσεις μολύβδου για δομική βελτιστοποίηση και οι αποτελεσματικές φαρμακοφορικές ομάδες είχαν συνδεθεί και συναρμολογηθεί σε νέες ενώσεις. Επιπλέον, ανακαλύφθηκαν και νέες ενώσεις στόχοι με αντι-AD δράση που προέκυψαν με δομική τροποποίηση των ουσιών διαφόρων φυσικών προϊόντων, γνωστών για την δραστηριότητά τους έναντι της νόσου του Alzheimer. Οι περισσότερες από τις ενώσεις-στόχους συντέθηκαν υιοθετώντας μεθόδους σύνθεσης αρκετά βολικές και αρκούντως αποτελεσματικές: ήπιες συνθήκες αντίδρασης, φθηνά και εύκολα διαθέσιμα αντιδραστήρια και ιδανική απόδοση προϊόντος. Αναλύοντας τα δεδομένα από την πτυχή της αντι-AD δραστηριότητας, ορισμένες από τις ενώσεις-στόχους έδειξαν καλή ανασταλτική δράση με τιμές IC_{50} σε μικρογραμμομοριακό ή νανογραμμομοριακό επίπεδο. Ταυτόχρονα, αυτές οι ενώσεις-στόχοι παρουσίασαν επίσης ικανοποιητική εκλεκτική αναστολή μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τυχόν παρενέργειες, γεγονός το οποίο χρήζει περαιτέρω μελέτης. Στόχος της σύνοψης της μελέτης SAR διαφόρων αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) είναι να παράσχει την απαραίτητη θεωρητική καθοδήγηση για περαιτέρω δομική βελτιστοποίηση ή επανασχεδιασμό της συνθετικής πορείας.

14. ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

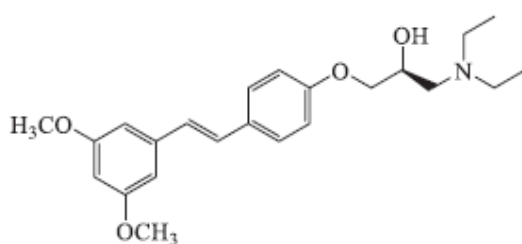
14.1 Παράγωγα πτεροστιλβενικής β-αμινο αλκοόλης

Το trans-3,5-διμεθοξυ-4'-υδροξυστιλβένιο (πτεροστιλβένιο) είναι μια φυσική ένωση που εξάγεται από το βατόμουρο. Εμφανίζει μια πληθώρα βιολογικών δραστηριοτήτων όπως αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αναστολή της αυτοεπαγόμενης συσσώρευσης Αβ και νευροπροστατευτική δράση.^[233] Αυτές οι βιολογικές δραστηριότητες υποδηλώνουν ότι το πτεροστιλβένιο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένωση μολύβδου στον σχεδιασμό ενός πολυλειτουργικού φαρμάκου.^[234] Έχει αναφερθεί ότι η μονάδα τριτοταγούς αμίνης αποτελεί ένα βασικό φαρμακοφορικό θραύσμα του αναστολέα της χολινεστεράσης, το οποίο μπορεί να προάγει την αλληλεπίδραση δεσμού υδρογόνου μεταξύ της ραχοκοκαλιάς της ένωσης και της καταλυτικής θέσης της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), αναστέλλοντας έτσι τη δραστηριότητά της.^{[234][235]} Ως εκ τούτου, ο Zheng (2018) στη μελέτη του ανέφερε ότι ένα βασικό θραύσμα πτεροστιλβενίου υβριδοποιήθηκε με μια μονάδα τριτοταγούς αμίνης χρησιμοποιώντας μια αλυσίδα άνθρακα που περιέχει μια χειραλική υδροξυλομάδα προκειμένου να σχεδιαστούν παράγωγα β-αμινοαλκοόλης με αντι-AD δράση.^[236] Η συνθετική διαδρομή ήταν απλή με λίγα βήματα αντίδρασης και υψηλή απόδοση. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων της *in vitro* επιλεκτικής αναστολής των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) έδειξαν ότι όλες οι ενώσεις-στόχοι είχαν ισχυρότερη ανασταλτική δράση από το πτεροστιλβένιο, αν και καμία από αυτές δεν κατάφερε να εμφανίσει χαμηλότερη τιμή IC_{50} από τη δονεπεζίλη ($IC_{50}=0.015\pm 0.002\mu M$). Μόνη η ένωση της εικόνας 64 έδειξε παρόμοια ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ($IC_{50}=24.04\pm 1.48\mu M$) σε σχέση με αυτήν της ριβαστιγμίνης ($IC_{50}=12.5\pm 1.6\mu M$), γεγονός που υποδηλώνει ότι η ένωση

αυτή μπορεί να αποτελέσει μια πιθανή νέα αφετηρία για περαιτέρω ανάπτυξη φαρμάκων έναντι της AD.



Εικόνα 63: Χημική δομή του πτεροστιλβενίου

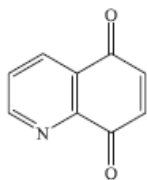


Εικόνα 64: Χημική δομή της πιο δραστήριας ένωσης των παραγώγων πτεροστιλβενικής β-αμινο αλκοόλης

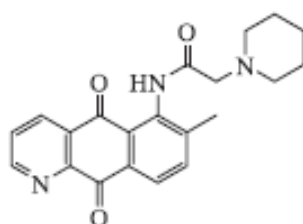
14.2 Παράγωγα αζανθρακινόνης

Οι ανθρακινόνες έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Ειδικά, η 9,10-ανθρακινόνη έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικός αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE). Ταυτόχρονα, οι ανθρακινόνες και τα παράγωγά τους μπορούν να μειώσουν το σχηματισμό ινών Αβ και την κυτταροτοξικότητα.^[237] Επιπλέον, οι ανθρακινόνες έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικοί αναστολείς της συσσώρευσης πρωτεΐνης ταυ.^[238] Τα αλκαλοειδή της αζανθρακινόνης έχουν μερική δομή βενζο[g]κινολίνης-5,10-διόνης και κατανέμονται ευρέως στα φυτά Annonaceae.^[239] Τα αλκαλοειδή αζανθρακινόνης που προέρχονται από φυτά εμφανίζουν αντιϊικές, αντιμυκητιακές, αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές δραστηριότητες.^[240] Όμως, τέτοια αλκαλοειδή έχουν επίσης και υψηλή τοξικότητα, κακή υδατοδιαλυτότητα και περιορισμένη ποσότητα, χαρακτηριστικά που περιορίζουν την περαιτέρω ανάπτυξή τους και κλινική εφαρμογή.^[241] Συνεπώς, ο Wang ανέφερε ότι σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν νέα παράγωγα 6-υποκατεστημένης αζανθρακινόνης με την εισαγωγή μιας πλευρικής αλυσίδας αλκυλο-αμινο στη θέση 6 της αζανθρακινόνης, τα οποία παρουσίασαν υψηλή διαλυτότητα στο νερό, χαμηλή τοξικότητα και αντι-AD δραστηριότητα.^[242] Για την ολοκλήρωση της σύνθεσης των παραγώγων αζανθρακινόνης, χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη κινόνη. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων της *in vitro* επιλεκτικής αναστολής των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) έδειξαν ότι όλες οι ενώσεις-στόχοι είχαν ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και η τιμή IC₅₀ της δραστηριότητας τους ανήκε στη μικρογραμμομοριακή κλίμακα. Μόνο η ένωση της

εικόνας 66 ($IC_{50}=1.08\pm 0.01\mu M$) εμφάνισε αντιφλεγμονώδη δράση, ισχυρή νευροπροστατευτική ικανότητα και υψηλή διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού με συγχρόνως χαμηλή τοξικότητα. Έτσι, τα νέα παράγωγα 6-υποκατεστημένης αζανθρακινόνης χρήζουν περαιτέρω μελέτης ως ενώσεις υποψήφιας για τη συμπτωματολογική καταπολέμηση της νόσου του Alzheimer.



Εικόνα 65: Χημική δομή της κινόνης

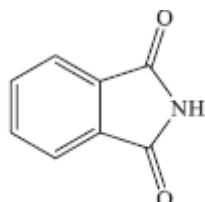


Εικόνα 66: Χημική δομή της πιο δραστηρικής ένωσης των παραγώγων αζανθρακινόνης

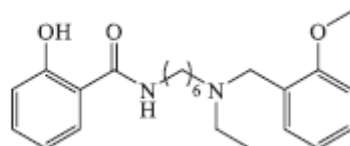
14.3 Παράγωγα σαλικυλαμιδίου

Το σαλικυλικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως αντιφλεγμονώδες φάρμακο για πολλά χρόνια.^[243] Με την ανακάλυψη και την περαιτέρω μελέτη του ρόλου της νευροφλεγμονής στη νόσο του Alzheimer, οι βιολογικές δραστηριότητες του σαλικυλικού οξέος και των παραγώγων του έχουν προσελκύσει μεγάλη προσοχή. Σχετικές μελέτες έχουν δείξει ότι το σαλικυλικό οξύ και τα παράγωγά του έχουν δράση αντι-χολινεστεράσης, η οποία μπορεί να αναστείλει την ενεργοποίηση μικρογλοίων και αστροκυττάρων και να μειώσει την παραγωγή σχετικών προφλεγμονωδών παραγόντων.^[244] Σε πειράματα in vivo, τα παράγωγα του σαλικυλικού οξέος βελτίωσαν σημαντικά τις γνωστικές και μνημονικές λειτουργίες των διαγονιδιακών ποντικών.^[245] Έχει αποδειχθεί ότι η εισαγωγή της ομάδας αλκυλοβενζυλαμίνης σε χρωμόνη συνεισφέρει σε μεγάλο βαθμό στην αύξηση της ανασταλτικής δράσης έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Οι Chromone-2-καρβοξαμιδο-αλκυλοβενζυλαμίνες, ένα παράγωγο χρωμόνης, είναι ένα φάρμακο πολλαπλών στόχων για τη θεραπεία της AD.^[246] Το υψηλότερο μοριακό βάρος αυτής της ένωσης επηρεάζει τη διαπερατότητα της μεμβράνης της και κατ' επέκταση μειώνει το θεραπευτικό της αποτέλεσμα.^[247] Επομένως, στην προσπάθεια αναζήτησης ενώσεων-στόχων με μικρότερο μοριακό βάρος, ο μητρικός πυρήνας των παραγώγων χρωμόνης αντικαταστάθηκε από σαλικυλικό οξύ. Έτσι, προέκυψαν τα παράγωγα σαλικυλαμιδίου (μια σειρά N-αλκυλοβενζυλαμίνης) τα οποία σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν για να μειωθεί το μοριακό βάρος και για να διαμορφωθούν ενώσεις-στόχοι με καλύτερη διαπερατότητα μεμβράνης. Για να επιτευχθεί αυτό, χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη φθαλιμίδιο. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων της in vitro επιλεκτικής αναστολής των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράσης

(AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) έδειξαν ότι οι περισσότερες από τις ενώσεις-στόχους είχαν καλή ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Μόνο η ένωση της εικόνας 68 ($IC_{50}=10.4\pm 0.478\mu M$) αποδείχθηκε πώς εκτός από δυνατότητες αντί-νευροφλεγμονής, διαθέτει και πολύ καλή ικανότητα να αναστέλλει και να αποπολυμερίζει το Αβ1-42. Το γεγονός αυτό καθιστά επιτακτική την ανάγκη η ένωση-στόχος της εικόνας 68 να δοκιμαστεί περαιτέρω *in vivo* ως υποψήφιο φάρμακο για τη θεραπεία της AD.



Εικόνα 67: Χημική δομή του φθαλιμιδίου

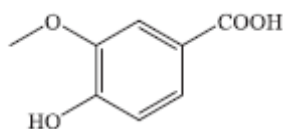


Εικόνα 68: Χημική δομή της πιο δραστηρικής ένωσης των παραγώγων σαλικυλαμιδίου

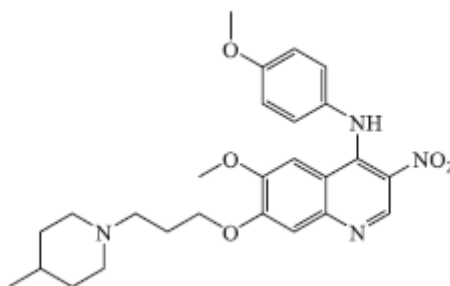
14.4 Παράγωγα 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης

Τα παράγωγα κινολίνης έχουν ποικίλες βιολογικές δραστηριότητες κατά της ελονοσίας, κατά των όγκων και κατά της χολινεστεράσης (ChE).^[248] Η ταρκονίνη χρησιμοποιήθηκε ως πρώτος αναστολέας αντί-AChE στη θεραπεία της AD.^[249] Τα τελευταία χρόνια έχει αναφερθεί ότι κάποια ανάλογα 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης αναστέλλουν τη δραστηριότητα της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Κατ' επέκταση, η 4-N-φαινυλαμινοκινολίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως η βασική δομή του σκελετού για την αναστολή των δραστηριοτήτων των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) και ακολούθως μέσω αυτής να επιτευχθεί δομική τροποποίηση των ενώσεων-στόχων.^[250] Είναι ευρέως γνωστό πως οι περισσότεροι αναστολείς χολινεστεράσης (ChE) τυπικά περιέχουν δακτύλιο ή μονάδα τριτοταγούς αμίνης ανοιχτής αλυσίδας, η οποία μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη δραστηριότητά τους.^[251] Στηριζόμενος σε αυτή τη βάση ο Cai, κατέστρωσε το σχέδιο για τη σύνθεση νέων παραγώγων της σειράς ενώσεων της 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης.^[252] Για να επιτευχθεί αυτό χρησιμοποίησαν μεθόδους μοριακού υβριδισμού και αλληλικής υποκατάστασης για να αντικαταστήσουν την ομάδα της N-μεθυλβενζυλαμίνης της ένωσης μολύβδου με την αλληλική δομή του θραύσματος της 4-μεθυλπιπεριδίνης, γεγονός που άλλαξε τη χωρική δομή της ένωσης-στόχου και μείωσε το δομικό της βάρος. Για την έναρξη της διαδικασίας σύνθεσης των ενώσεων-στόχων χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη βανιλικό οξύ. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων της *in vitro* επιλεκτικής αναστολής των ενζύμων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) έδειξαν ότι τα παράγωγα της 4-N-

φαινυλαμινοκινολίνης είχαν ανασταλτική επίδραση στην ακετυλοχολινεστεράση (AChE) με τιμές IC_{50} από 1.20 ± 0.18 έως $12.34 \pm 3 \mu M$, ενώ οι περισσότερες από τις ενώσεις έδειξαν μια πολύ ασθενή ανασταλτική δράση έναντι της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE). Μόνο η ένωση της εικόνας 70 είχε ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) από τη γκαλανταμίνη. Ειδικότερα, αναλύσεις της κινητικής και μοριακές μελέτες σύνδεσης έδειξαν ότι η ένωση της εικόνας 70 εκτός από αναστρέψιμος αναστολέας, αλληλεπιδρά έντονα τόσο με τις υποπεριοχές CAS όσο και με τις PAS της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE). Συνεπώς, με βάση τα υπάρχοντα αποτελέσματα, η 4-N-φαινυλαμινοκινολίνη μπορεί να αποτελέσει τη βασική σκελετική δομή υποψηφίων φαρμάκων για τη θεραπεία της AD και πιο συγκεκριμένα η ένωση της εικόνας 70 ($IC_{50} = 1.20 \pm 0.18 \mu M$) μπορεί να είναι το σημείο εκκίνησης για ανάπτυξη νέων θεραπευτικών φαρμάκων.



Εικόνα 69: Χημική δομή του θανιλικού οξέος

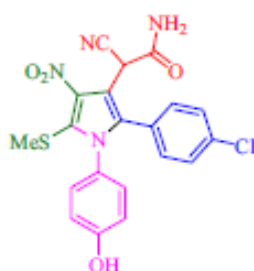


Εικόνα 70: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης

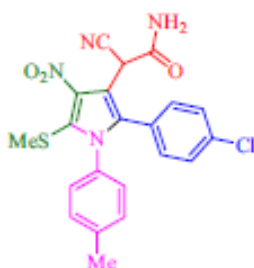
14.5 Παράγωγα πολυυποκατεστημένης πυρρόλης

Είναι γνωστό ότι ενώσεις που περιέχουν N-ετεροκυκλικούς σκελετούς παρουσιάζουν διάφορες βιολογικές και φαρμακευτικές δραστηριότητες. Μεταξύ αυτών των ενώσεων, τα παράγωγα πυρρολίου αποδεικνύεται ότι εμφανίζουν μια πληθώρα βιολογικών δραστηριοτήτων όπως αντιοξειδωτικές, αντιμυκητιακές, αντιφυματικές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές, αντιδιαβητικές και αντικαρκινικές.^{[253][254][255][256][257][258][259][260][261][262]} Επιπλέον, η πυρρόλη αποτελεί ένα σημαντικό τμήμα πυρήνα σε πολλές βιολογικές ενώσεις όπως η χλωροφύλλη, η αίμη, η βιταμίνη B12, χολικές χρωστικές και αλκαλοειδή.^{[263][264]} Μέχρι στιγμής έχει αναφερθεί ένας διόλου αμελητέος αριθμός συνθετικών στρατηγικών για την κατασκευή παραγώγων υποκατεστημένης πυρρόλης, όπως η αντίδραση Knorr44, η αντίδραση Paal-Knorr45, η σύνθεση Hantzsch46 και διάφορες μέθοδοι κυκλοπροσθήκης.^{[265][266][267][268]} Άρα, λόγω των ελκυστικών φαρμακευτικών ιδιοτήτων των παραγώγων πυρρόλης, η ανάπτυξη μιας νέας και απλής συνθετικής στρατηγικής για την αποτελεσματική σύνθεση πολυυποκατεστημένων πυρρολών θα

είναι μια χρήσιμη και ελκυστική πρόκληση.^{[269][270][271][272]}Υστερα από μοριακές μελέτες σύνδεσης και μοριακής δυναμικής για την αξιολόγηση της δεσμευτικής συγγένειας και του τρόπου δράσης εντός της θέσης δέσμευσης του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), αποδείχθηκε ότι οι πιο ισχυροί αναστολείς της ήταν οι ενώσεις των εικόνων 71 και 72 με τιμές $IC_{50}=2.95\pm 1.31\mu M$ και $IC_{50}=4.78\pm 1.6\mu M$ αντίστοιχα. Οι ενώσεις αυτές λόγω του μικρού τους μεγέθους τοποθετήθηκαν σωστά στην ενεργό θέση της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και η δέσμευση αυτή σταθεροποιήθηκε από δεσμούς υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις με τα κρίσιμα υπολείμματα του θύλακα δέσμευσης της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Έτσι, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι ενώσεις των εικόνων 71 και 72 διαθέτουν έναν βέλτιστο χημικό σκελετό, ο οποίος τις καθιστά ιδανικές ως δυνητικά φαρμακευτικά μόρια.



Εικόνα 71: Χημική δομή της πιο δραστηκής ένωσης των παραγώγων πολυυποκατεστημένης πυρρόλης



Εικόνα 72: Χημική δομή μιας από τις πιο δραστηκές ενώσεις των παραγώγων πολυυποκατεστημένης πυρρόλης

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα βιβλιογραφική έρευνα απαντώνται σε υλικά φυσικής προέλευσης με τη μορφή μιγμάτων. Για να προσδιοριστεί η αλλαγή στη δραστηριότητα του ενζύμου λόγω μιας συγκεκριμένης ένωσης, είναι απαραίτητος ο καθαρισμός των δειγμάτων ή ακόμη και η κλασματοποίηση τους. Μελέτες της ανασταλτικής δραστηριότητας έναντι των χολινεστερασών σε επιστημονικές εκθέσεις πραγματοποιούνται σύμφωνα με διαφορετικές μεθόδους και διαδικασίες. Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις όπως και στην παρούσα έρευνα, οι αναλύσεις βασίστηκαν στη μέθοδο του Ellman.^[207] Η μέθοδος πρέπει να είναι απλή, γρήγορη στην εκτέλεση, ευαίσθητη και φθηνή.^{[273][274]} Η πλειοψηφία των μεθόδων ανάλυσης βασίζεται σε χρωματομετρικό προσδιορισμό με χρήση χρωματογραφικών, φθοριομετρικών και φασματοφωτομετρικών τεχνικών καθώς και με χρήση TLC. Επιπρόσθετα, στις μεθόδους αυτές πραγματοποιείται μέτρηση των αλλαγών στις ενδεικτικές παραμέτρους της δραστηριότητας του ενζύμου πριν και μετά την εισαγωγή του αναστολέα στο σύστημα. Έστω και μικρές μεταβολές σε θερμοκρασία, χρόνο επώασης, pH, συγκέντρωση των υποστρωμάτων και του ενζύμου καθώς και η παρουσία άλλων παρεμβαλλόμενων ενώσεων (ιόντα βαρέων μετάλλων) μπορεί να επηρεάσει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Είναι σημαντικό να μελετηθούν καθαρά φυτικά υλικά από αντίστοιχες ελεγμένες πηγές και να καθαριστούν επαρκώς τα δείγματα.

Τα αποτελέσματα της ίδιας ένωσης όταν αυτά σχετίζονται με την ακετυλοχολινεστεράση (AChE) και τη βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE) μπορεί να διαφέρουν.^[275] Η σύγκριση των τιμών IC₅₀ είναι δυνατή μόνο μεταξύ συγκεκριμένων ενώσεων και όταν αυτές προσδιορίζονται κάτω από σχετικά παρόμοιες συνθήκες, χρησιμοποιώντας τις ίδιες μεθόδους και σε σύγκριση με τις ίδιες ενώσεις αναφοράς, καταλήγοντας έτσι στην ισχύ. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε μια μέθοδος και τα αποτελέσματα σπάνια επιβεβαιώθηκαν χρησιμοποιώντας άλλη μέθοδο. Αυξημένος αριθμός μελετών με επίκεντρο την εξέταση των ανασταλτικών επιδράσεων και στις δύο χολινεστεράσες θα ήταν εξαιρετικά επωφελής. Το γεγονός αυτό κρίνεται αναγκαίο διότι ορισμένες από τις παρούσες μελέτες δεν περιελάμβαναν προσδιορισμούς δραστηριότητας και προς τις δύο χολινεστεράσες. Επιπλέον, θα ήταν χρήσιμο να χρησιμοποιηθούν πολλές ουσίες αναφοράς σε μια μελέτη που θα επέτρεπε μια καλύτερη σύγκριση των διαθέσιμων αποτελεσμάτων αναστολής.

Στην παρούσα μελέτη εκτός από τον προσδιορισμό της αναστολής και των δύο χολινεστερασών, επιχειρήθηκε να αναλυθεί η δομή και η αλληλεπίδραση ενζύμου-αναστολέα. Σύμφωνα με τα καθιερωμένα κριτήρια, ισχυρή δράση κατά της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) ή κατά της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) έδειξαν αρκετές ενώσεις. Μεταξύ αυτών, η μεγαλύτερη ομάδα ενώσεων με ισχυρή επίδραση έναντι και των δύο ενζύμων ήταν τα αλκαλοειδή. Ενώσεις από αυτήν την ομάδα εμφάνισαν την πιο ισχυρή αναστολή έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Μάλιστα, ιδιαίτερα ισχυρά αποτελέσματα αναστολής έναντι και των δύο

χολινεστερασών καταδείχθηκαν για τα αλκαλοειδή από τις οικογένειες φυτών Amaryllidaceae και Papaveraceae. Από την άλλη πλευρά, περισσότερο ισχυρή αναστολή έναντι της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BuChE) παρουσιάστηκε από ενώσεις από διάφορες ομάδες όπως αλκαλοειδή, κουμαρίνες, φλαβονοειδή, φαυλοπροπανοειδή, πολυφαινόλες, φαινανθρένια, φθαλικές ενώσεις, στερόλες και στεροειδή, τριτερπενοειδή, ξανθονοειδή καθώς επίσης και φλωροτανίνες.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης της δομής των αναστολέων της παρούσας διπλωματικής εργασίας μπορεί να είναι ευεργετικά για τον προσδιορισμό και σχεδιασμό περαιτέρω σταδίων έρευνας για τις ενώσεις που παρατέθηκαν. Αυτά τα δεδομένα μπορεί επίσης να συνεισφέρουν στην αναζήτηση και σύνθεση νέων ημισυνθετικών ή συνθετικών παραγώγων καθώς και νέων βιολογικά δραστικών ουσιών. Κατ' επέκταση, ιδιαίτερα επιτακτική καθίσταται η ανάγκη εύρεσης σύνθετων παραγώγων με πιο συγκεκριμένα και προτιμότερα χαρακτηριστικά σε σύγκριση με αυτά που απαντώνται στις φυτικές ουσίες. Ταυτόχρονα, η δυνατότητα τροποποίησης τους επιτρέπει ακόμα καλύτερες παραμέτρους του φαρμάκου, όπως εντονότερη δραστηριότητα, καλύτερη συμβατότητα με τον υποδοχέα, μετριασμένες παρενέργειες και μεγαλύτερη διάρκεια δράσης. Η ενσωμάτωση της φυτοχημείας και των συνεργατικών κλάδων της μοριακής μοντελοποίησης και της χημικής σύνθεσης παρέχει τη δυνατότητα εύρεσης αποτελεσματικότερων φαρμάκων. Προς την κατεύθυνση αυτή συνηγορεί και η αφθονία των ενώσεων φυσικής προέλευσης. Η παρατηρούμενη επίμονη ανεπάρκεια αποτελεσματικών θεραπειών για νευρολογικές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένης της νόσου του Alzheimer, απαιτεί από τους ερευνητές να αναζητήσουν νέες θεραπευτικές ουσίες. Η ανεύρεση και η ανάλυση των φυσικών αναστολέων της χολινεστεράσης δεν έχει ακόμα εξαντληθεί. Συνοψίζοντας τις μέχρι τώρα *in vitro* μελέτες, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η δυνατότητα χρήσης των αναστολέων χολινεστεράσης δεν έχει διερευνηθεί πλήρως. Μόνο μερικοί από αυτούς έχουν δοκιμαστεί *in vivo* και για αρκετούς από αυτούς έχουν επιχειρηθεί κλινικές μελέτες. Τα ευρήματα που παρατίθενται στην παρούσα βιβλιογραφική έρευνα δείχνουν ότι οι φυσικές πηγές αποτελούν μια τεράστια δεξαμενή για την εφεύρεση νέων θεραπευτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων της χολινεστεράσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Scuderi, C., Bronzuoli, M. R., Facchinetti, R., Pace, L., Ferraro, L., & Broad, K. D. (2018). Ultramicronized palmitoylethanolamide rescues learning and memory impairments in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease by exerting anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Translational Psychiatry*, 8, 32–51. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0076-4>
2. Zhou, S., Huang, G., & Chen, G. (2020). The antagonistic activity of H1 receptor antagonists as medicinal foods. *Trends in Food Science and Technology*, 105, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.018>
3. Takizawa, C., Thompson, P. L., Van Walsem, A., Faure, C., and Maier, W. C. (2015). Epidemiological and economic burden of Alzheimer's disease: a systematic literature review of data across Europe and the United States of America. *J. Alzheimers Dis.* 43, 1271–1284. doi: 10.3233/JAD-141134
4. Fiest, K. M., Roberts, J. I., Maxwell, C. J., Hogan, D. B., Smith, E. E., Frolkis, A., et al. (2016). The prevalence and incidence of dementia due to Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Can. J. Neurol. Sci.* 43, S51–S82. doi: 10.1017/cjn.2016.36
5. Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., De Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., et al. (2016). Alzheimer's disease. *Lancet* 388, 505–517. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01124-1
6. Prince, M. J. (2015). *World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia: An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends*. London: Alzheimer's Disease International.
7. Tarawneh, R., and Holtzman, D. M. (2012). The clinical problem of symptomatic Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Cold Spring Harbor Perspect. Med.* 2:a006148. doi: 10.1101/cshperspect.a006148
8. Zhou, S., Zou, H., Chen, G., & Huang, G. (2019). Synthesis and biological activities of chemical drugs for the treatment antirheumatoid. *Topics in Current Chemistry*, 377(5), 28.
9. De Filippis, B., Ammazalorso, A., Fantacuzzi, M., Giampietro, L., Maccallini, C., & Amoroso, R. (2017). Anticancer activity of stilbene-based derivatives. *ChemMedChem*, 12, 558–570
10. AlFadly, E. D., Elzahhar, P. A., Tamarin, A., Elkazaz, S., Shaltout, H., Abu-Serie, M.-M., Janockova, J., Soukup, O., Dhareeb, D. A., El-Yazbi, A. L., Rafeh, R. W., Bakkar, N.-M.-Z., Kobeissy, F., Iriepa, I., Moraleda, I., Saudi, M. N. S., Bartolini, M., & Belal, A. S. F. (2019). Tackling neuroinflammation and cholinergic deficit in Alzheimer's disease: Multi-target inhibitors of cholinesterases, cyclooxygenase- and 15-lipoxygenase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 167, 161–186.
11. Craig, L. A., Hong, N. S., and McDonald, R. J. (2011). Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1397–1409. doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.03.001
12. Madeo, J., and Elsayad, C. (2013). The role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. Parkinsonism* 3, 116–121. doi: 10.4172/2161-0460.1000116
13. Godyn, J., Jonczyk, J., Panek, D., and Malawska, B. (2016). Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials. *Pharmacol. Rep.* 68, 127–138. doi: 10.1016/j.pharep.2015.07.006

14. Henstridge, C. M., Pickett, E., and Spires-Jones, T. L. (2016). Synaptic pathology: a shared mechanism in neurological disease. *Ageing Res. Rev.* 28, 72–84. doi: 10.1016/j.arr.2016.04.005
15. Yang, Z., Song, Q., Cao, Z., Yu, G., Liu, Z., Tan, Z., Den, Y., Kishore, N., Kumar, P., Shanker, K., & Verma, A. K. (2019). Human disorders associated with inflammation and the evolving role of natural products to overcome. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 272–309. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.034>
16. Watkins, P.B., Zimmerman, H.J., Knapp, M.J., Gracon, S.I., Lewis, K.W., 1994. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *J. Am. Med. Assoc.* 271 (13), 992–998.
17. Amenta, F., Parnetti, L., Gallai, V., Wallin, A., 2001. Treatment of cognitive dysfunction associated with Alzheimer's disease with cholinergic precursors. Ineffective treatments or inappropriate approaches? *Mech. Ageing Dev.* 122, 2025–2040. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00310-4](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00310-4).
18. Bartus, R.T., Dean, R.L., Beer, B., Lippa, A.S., 1982. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217, 408–414. <https://doi.org/10.1126/science.7046051>.
19. Heilbronn, E., 1961. Inhibition of cholinesterase by tetrahydroaminacrin. *A. Chem. Scand* 15, 1386–1390. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.15-1386>.
20. Wlodek, S.T., Antosiewicz, J., McCammon, J.A., Straatsma, T.P., Gilson, M.K., Briggs, J. M., Humblet, C., Sussman, J.L., 1996. Binding of tacrine and 6-chlorotacrine by acetylcholinesterase. *Biopolymers* 38 (1), 109–117. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0282\(199601\)38:13.O.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(199601)38:13.O.CO;2-#).
21. Saxena, M., Dubey, R., 2019. Target enzyme in Alzheimer's disease: acetylcholinesterase inhibitors. *Curr. Top. Med. Chem.* 19 (4), 264–275. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190128125912>.
22. Soukup, O., Jun, D., Zdarova-Karasova, J., Patocka, J., Musilek, K., Korabecny, J., Krusek, J., Kaniakova, M., Sepsova, V., Mandikova, J., Trejtnar, F., Pohanka, M., Drtinova, L., Pavlik, M., Tobin, G., Kuca, K., 2013. A resurrection of 7-MEOTA: a comparison with tacrine. *Curr. Alzheimer Res.* 10 (8), 893–906. <https://doi.org/10.2174/1567205011310080011>.
23. Kozurkova, M., Hamulakova, S., Gazova, Z., Paulikova, H., Kristian, P., 2011. Neuroactive multifunctional tacrine congeners with cholinesterase, anti-amyloid aggregation and neuroprotective properties. *Pharmaceuticals* 4 (2), 382–418. <https://doi.org/10.3390/ph4020382>.
24. Sameem, B., Saeedi, M., Mahdavi, M., Shafiee, A., 2017. A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 128, 332–345. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.060>.
25. Lin, H., Li, Q., Gu, K., Zhu, J., Jiang, X., Chen, Y., Sun, H., 2017. Therapeutic agents in Alzheimer's disease through a multitarget directed ligands strategy: recent progress based on tacrine core. *Curr. Top. Med. Chem.* 17 (27), 3000–3016. <https://doi.org/10.2174/1568026617666170717114944>.
26. Ismaili, L., Refouvelet, B., Benchekroun, M., Brogi, S., Brindisi, M., Gemma, S., Campiani, G., Filipic, S., Agbaba, D., Esteban, G., Unzeta, M., Nikolic, K., Butini, S., Marco-Contelles, J., 2017. Multitarget compounds bearing tacrine- and donepezillike structural and functional motifs for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Prog. Neurobiol.* 151, 4–34. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.003>.

27. Pang, Y.P., Brimijoin, S., 1997. The Analogs Useful as Cholinesterase inhibitors. Mayo Foundation For Medical Education And Research, USA. Patent WO1997021681.
28. Zhang, C., Du, Q.Y., Chen, L.D., Wu, W.H., Liao, S.Y., Yu, L.H., Liang, X.T., 2016. Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as multitargeted compounds against Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 116, 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.077>.
29. Fancellu, G., Chand, K., Tomas, D., Orlandini, E., Piemontese, L., Silva, D.F., Cardoso, S. M., Chaves, S., Santos, M.A., 2020. Novel tacrine-benzofuran hybrids as potential multi-target drug candidates for the treatment of Alzheimer's Disease. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 35 (1), 211–226. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1689237>.
30. Korabecny, J., Zemeka, F., Soukup, O., Spilovska, K., Musilek, K., Junb, D., Nepovimova, E., Kuc, K., 2014. Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease: Current State and Future Perspectives Drug Design and Discovery in Alzheimer's Disease, pp. 3–39. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803959-5.50001-5>.
31. Reid, R.T., Sabbagh, M.N., 2008. Effects of cholinesterase inhibitors on rat nicotinic receptor levels in vivo and in vitro. *J. Neural. Transm.* 115 (10), 1437–1444. <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0107-7>
32. Nordberg, A., Ballard, C., Bullock, R., Darreh-Shori, T., Somogyi, M., 2013. A review of butyrylcholinesterase as a therapeutic target in the treatment of Alzheimer's disease. *Prim. Care Companion CNS Disord.* 15 (2) <https://doi.org/10.4088/PCC.12r01412>.
33. Jarrott, B., 2017. Tacrine: in vivo veritas. *Pharmacol. Res.* 116, 29–31. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.12.033>
34. Snape, M.F., Misra, A., Murray, T.K., De Souza, R.J., Williams, J.L., Cross, A.J., Green, A. R., 1999. A comparative study in rats of the in vitro and in vivo pharmacology of the acetylcholinesterase inhibitors tacrine, donepezil and NXX-066. *Neuropharmacology* 38 (1), 181–193. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(98\)00164-6](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(98)00164-6).
35. Gracon, S.I., Knapp, M.J., Berghoff, W.G., Pierce, M., DeJong, R., Lobbstaal, S.J., Symons, J., Dombey, S.L., Luscombe, F.A., Kraemer, D., 1998. Safety of tacrine: clinical trials, treatment IND, and postmarketing experience. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 12 (2), 93–101. <https://doi.org/10.1097/00002093-199806000-00007>.
36. Wagstaff, A.J., McTavish, D., 1994. Tacrine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 4 (6), 510–540. <https://doi.org/10.2165/00002512-199404060-00006>.
37. Sugimoto, H., Ogura, H., Arai, Y., Limura, Y., Yamanishi, Y., 2002. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. *Jpn. J. Pharmacol.* 89 (1), 7–20. <https://doi.org/10.1254/jjp.89.7>.
38. English, C., 2012. Donepezil 23 mg: is it more advantageous compared to the original? *Ment. Health Clin.* 1 (11), 272–273. <https://doi.org/10.9740/mhc.n106739>.
39. Szeto, J.Y.Y., Lewis, S.J.G., 2016. Current treatment options for Alzheimer's disease and Parkinson's disease dementia. *Curr. Neuropharmacol.* 14 (4), 326–338. <https://doi.org/10.2174/1570159X146666151208112754>.
40. Alipour, M., Khoobi, M., Moradi, A., Nadri, H., Homayouni Moghadam, F., Emami, S., Hasanpour, Z., Foroumadi, A., Shafiee, A., 2014. Synthesis and anti-cholinesterase activity of new 7-hydroxycoumarin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 82, 536–544. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.05.056>.
41. Bautista-Aguilera, O.M., Esteban, G., Bolea, I., Nikolic, K., Agbaba, D., Moraleda, I., Iriepa, I., Samadi, A., Soriano, E., Unzeta, M., Marco-Contelles, J., 2014. Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and

- ADMET of novel donepezil-indolyl hybrids as multipotent cholinesterase/ monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 75, 82–95. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.028>.
42. Samadi, A., de la Fuente Revenga, M., Pérez, C., Iriepa, I., Moraleda, I., Rodríguez-Franco, M.I., Marco-Contelles, J., 2013. Synthesis, pharmacological assessment, and molecular modeling of 6-chloropyridonepezils: new dual AChE inhibitors as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 67, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.06.021>.
 43. Meng, F.C., Mao, F., Shan, W.J., Qin, F., Huang, L., Li, X.S., 2012. Design, synthesis, and evaluation of indanone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors and metalchelating agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett* 22 (13), 4462–4466. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.04.029>.
 44. Samadi, A., Estrada, M., Pérez, C., Rodríguez-Franco, M.I., Iriepa, I., Moraleda, I., Chioua, M., Marco-Contelles, J., 2012. Pyridonepezils, new dual AChE inhibitors as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease: synthesis, biological assessment, and molecular modeling. *Eur. J. Med. Chem.* 57, 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.030>.
 45. Bolea, I., Juárez-Jiménez, J., de Los Ríos, C., Chioua, M., Pouplana, R., Luque, F.J., Unzeta, M., Marco-Contelles, J., Samadi, A., 2011. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of donepezil and N-[(5-(benzyloxy)-1-methyl-1H-indol-2-yl)methyl]-N-methylprop-2-yn-1-amine hybrids as new multipotent cholinesterase/ monoamine oxidase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 54 (24), 8251–8270. <https://doi.org/10.1021/jm200853t>.
 46. Shen, Y., Sheng, R., Zhang, J., He, Q., Yang, B., Hu, Y., 2008. 2-Phenoxy-indan-1-one derivatives as acetylcholinesterase inhibitors: a study on the importance of modifications at the side chain on the activity. *Bioorg. Med. Chem.* 16 (16), 7646–7653. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.014>.
 47. Piazzini, L., Rampa, A., Bisi, A., Gobbi, S., Belluti, F., Cavalli, A., Bartolini, M., Andrisano, V., Valenti, P., Recanatini, M., 2003. 3-(4-[[benzyl(methyl)amino] methyl]phenyl)-6,7-dimethoxy-2H-2-chromenone (AP2238) inhibits both acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation: a dual function lead for Alzheimer's disease therapy. *J. Med. Chem.* 46, 2279–2282. <https://doi.org/10.1021/jm0340602>.
 48. Rizzo, S., Bartolini, M., Ceccarini, L., Piazzini, L., Gobbi, S., Cavalli, A., Recanatini, M., Andrisano, V., Rampa, A., 2010. Targeting Alzheimer's disease: Novel indanone hybrids bearing a pharmacophoric fragment of AP2238. *Bioorg. Med. Chem.* 18 (5), 1749–1760. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.01.071>.
 49. Wu, M.Y., Esteban, G., Brogi, S., Shionoya, M., Wang, L., Campiani, G., Unzeta, M., Inokuchi, T., Butini, S., Marco-Contelles, J., 2017. Donepezil-like multifunctional agents: Design, synthesis, molecular modeling and biological evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 121, 864–879. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.10.001>.
 50. Sola, I., Viayna, E., Gomez, T., Galdeano, C., Cassina, M., Camps, P., Romeo, M., Diomede, L., Salmona, M., Franco-Schaeffer, M., Colantuono, D., Robin, D., Brunner, D., Taub, N., Hutter-Paier, B., Muñoz-Torrero, D., 2015. Multigram synthesis and in vivo efficacy studies of a novel multitarget anti-Alzheimer's compound. *Molecules* 20 (3), 4492–4515. <https://doi.org/10.3390/molecules20034492>.
 51. Dias Viegas, F.P., de Freitas Silva, M., Divino da Rocha, M., Castelli, M.R., Riquiel, M.M., Machado, R.P., Vaz, S.M., Simoes de Lima, L.M., Mancini, K.C., Marques de Oliveira,

- P.C., Morais, E.P., Gontijo, V.S., da Silva, F.M.R., D'Alincourt da Fonseca Peçanha, D., Castro, N.G., Neves, G.A., Giusti-Paiva, A., Vilela, F.C., Orlandi, L., Camps, I., Veloso, M.P., Leomil Coelho, L.F., Ionta, M., Ferreira-Silva, G.A., Pereira, R.M., Dardenne, L.E., Guedes, I.A., de Oliveira Carneiro Junior, W., Quaglio Bellozi P, M., Pinheiro de Oliveira, A.C., Ferreira, F.F., Pruccoli, L., Tarozzi, A., Viegas Jr., C., 2018. Design, synthesis and pharmacological evaluation of N-benzylpiperidinyl-aryl-acylhydrazone derivatives as donepezil hybrids: discovery of novel multi-target anti-alzheimer prototype drug candidates. *Eur. J. Med. Chem.* 147, 48–65. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.066>.
52. Terra, B.S., da Silva, P.H.C., Tamarin, A., Franco, L.L., da Cunha, E.F.F., Macedo Junior, F., Ramalho, T.C., Bartolini, M., Bolognesi, M.L., de Fatima, A., 2018. Two novel donepezil-lipoic acid hybrids: synthesis, anticholinesterase and antioxidant activities and theoretical studies. *J. Braz. Chem. Soc.* 29, 738–747. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170196>.
53. Amenta, F., Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Martì Navia, A., Ngouadjeu Ngnintedem, M.A., Ricciutelli, M., Spinaci, A., Volpini, R., Marucci, G., 2018. Ex vivo absorption study of lysine R-lipoate salt, a new pharmaceutical form of R-ALA. *Eur. J. Pharmaceut. Sci.* 15 (118), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.03.025>.
54. Jacobson, S.A., Sabbagh, M.N., 2008. Donepezil: potential neuroprotective and diseasemodifying effects. *Expet Opin. Drug Metabol. Toxicol.* 4, 1363–1369. <https://doi.org/10.1517/17425255.4.10.1363>.
55. Xu, A.J., Chen, Z., Yanai, K., Huang, Y.W., Wei, E.Q., 2002. Effect of 3-[1-(phenylmethyl)-4-piperidinyl]-1-(2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-8-yl)-1-propanone fumarate, a novel acetylcholinesterase inhibitor, on spatial cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Neurosci. Lett.* 331 (1), 33–36. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(02\)00830-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(02)00830-3).
56. Hernandez, C.M., Gearhart, D.A., Parikh, V., Hohnadel, E.J., Davis, L.W., Middlemore, M. L., Warsi, S.P., Waller, J.L., Terry, A.V.J., 2006. Comparison of Galantamine and Donepezil for effects on nerve growth factor, cholinergic markers, and memory performance in aged rats. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 316, 679–694. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.093047>.
57. Abe, Y., Aoyagi, A., Hara, T., Abe, K., Yamazaki, R., Kumagae, Y., Naruto, S., Koyama, K., Marumoto, S., Tago, K., Toda, N., Takami, K., Yamada, N., Ori, M., Kogen, H., Kaneko, T., 2003. Pharmacological characterization of RS-1259, an orally active dual inhibitor of acetylcholinesterase and serotonin transporter, in rodents: possible treatment of Alzheimer's disease. *J. Pharmaceut. Sci.* 93, 95–105. <https://doi.org/10.1254/jphs.93.95>.
58. Spowart-Manning, L., van der Staay, F.J., 2005. Spatial discrimination deficits by excitotoxic lesions in the Morris water escape task. *Behav. Brain Res.* 156 (2), 269–276. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.05.031>.
59. Barnes, C.A., Meltzer, J., Houston, F., Orr, G., McGann, K., Wenk, G.L., 2000. Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neuroscience* 99, 17–23. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00180-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00180-9).
60. Yuede, C.M., Dong, H., Csernanskya, J.G., 2007. Anti-dementia drugs and hippocampal dependent memory in rodents. *Behav. Pharmacol.* 18 (5–6), 347–363. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282da278d>.

61. Kim, S.H., Kandiah, N., Hsu, J.L., Suthisisang, C., Udommongkol, C., Dash, A., 2017. Beyond symptomatic effects: potential of donepezil as a neuroprotective agent and disease modifier in Alzheimer's disease. *Br. J. Pharmacol.* 174, 4224–4232. <https://doi.org/10.1111/bph.14030>.
62. Zhou, J., Fu, Y., Tang, X.C., 2001. Huperzine A and donepezil protect rat pheochromocytoma cells against oxygen-glucose deprivation. *Neurosci. Lett.* 306 (1–2), 53–56. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)01855-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)01855-9).
63. Shigeta, M., Homma, A., 2001. Donepezil for Alzheimer's disease: pharmacodynamic, pharmacokinetic, and clinical profiles. *CNS Drug Rev.* 7 (4), 353–368. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2001.tb00204.x>.
64. Adlimoghaddam, A., Neuendorff, M., Roy, B., Albeni, B., 2018. A review of clinical treatment considerations of donepezil in severe Alzheimer's disease. *CNS Neurosci. Ther.* 1–13. <https://doi.org/10.1111/cns.13035>.
65. Grossberg, G.T., Desai, A.K., 2003. Management of Alzheimer's disease. *J. Gerontol. Med. Sci.* 58 (4), 331–353. <https://doi.org/10.1093/gerona/58.4.M331>.
66. Grossberg, G.T., 2003. Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 64, 216–235. [https://doi.org/10.1016/S0011-393X\(03\)00059-6](https://doi.org/10.1016/S0011-393X(03)00059-6).
67. Enz, A., Amstutz, R., Boddeke, H., Gmelin, G., Malanoski, J., 1993. Brain selective inhibition of acetylcholinesterase: a novel approach to therapy for Alzheimer's disease. *Brain Res.* 98, 431–438. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)62429-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)62429-2).
68. Desai, A.K., Grossberg, G.T., 2005. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Expert Rev. Neurother.* 5 (5), 563–580. <https://doi.org/10.1586/14737175.5.5.563>.
69. Jann, M.W., 2000. Rivastigmine, a new-generation cholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Pharmacotherapy* 20, 1–12. <https://doi.org/10.1592/phco.20.1.1.34664>.
70. Eldufani, J., Blaise, G., 2019. The role of acetylcholinesterase inhibitors such as neostigmine and rivastigmine on chronic pain and cognitive function in aging: a review of recent clinical applications. *Alzheimer's Dementia* 5, 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2019.03.004>.
71. Onor, M.L., Trevisiol, M., Aguglia, E., 2007. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. *Clin. Interv. Aging* 2 (1), 17–32. <https://doi.org/10.2147/ciia.2007.2.1.17>
72. Roy, K.K., Tota, S.K., Shukla, R., Nath, C., Saxena, A.K., 2015. Substituted 1, 2, 3, 4-Tetrahydroquinolin-7-Yl Carbamates Their Preparation and Use There of as Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's and Other Neurodegenerative Disease. US8946261B2.
73. Bohn, P., Gourand, F., Papamicael, C., Ibazizene, M., Dhilly, M., Gembus, V., Alix, F., Mihaela Liliana, T., Marsais, F., Barr'e, L., Levacheet, V., 2015. Dihydroquinoline carbamate derivatives as "biooxidizable" prodrugs for brain delivery of acetylcholinesterase inhibitors: [11C] radiosynthesis and biological evaluation. *Chem. Neurosci.* 6, 737–744. <https://doi.org/10.1021/cn5003539>.
74. Mesulam, M., Guillozet, A., Shaw, P., Quinn, B., 2002. Widely spread butyrylcholinesterase can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain. *Neurobiol. Dis.* 9, 88–93. <https://doi.org/10.1006/nbdi.2001.0462>.
75. Enz, A., Gentsch, C., 2004. Co-administration of memantine has not effect on the in vitro or ex vivo determined acetylcholinesterase inhibition of rivastigmine in the rat brain. *Neurofarmacology* 38, 408–413.

76. Ogura, H., Kosasa, T., Kuriya, Y., Yamanishi, Y., 2000. Comparison of inhibitory activities of donepezil and other cholinesterase inhibitors on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in vitro. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 22 (8), 609–613. <https://doi.org/10.1358/mf.2000.22.8.701373>.
77. Cerbai, F., Giovannini, M.G., Melani, C., Enz, A., Pepeu, G., 2007. N1phenethylnorcymserine, a selective butyrylcholinesterase inhibitor, increases acetylcholine release in rat cerebral cortex: a comparison with donepezil and rivastigmine. *Eur. J. Pharmacol.* 572 (2–3), 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.06.053>.
78. Furukawa-Hibi, Y., Alkam, T., Nitta, A., Matsuyama, A., Mizoguchi, H., Suzuki, K., Moussaoui, S., Yu, Q.S., Greige, N.H., Nagai, T., Yamada, K., 2011. Butyrylcholinesterase inhibitors ameliorate cognitive dysfunction induced by amyloid- β peptide in mice. *Behav. Brain Res.* 225 (1), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.07.035>.
79. Enz, A., Amstutz, R., Boddeke, H., Gmelin, G., Malanoski, J., 1993. Brain selective inhibition of acetylcholinesterase: a novel approach to therapy for Alzheimer's disease. *Brain Res.* 98, 431–438. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)62429-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)62429-2).
80. Bailey, J.A., Lahiri, D.K., 2010. A novel effect of rivastigmine on pre-synaptic proteins and neuronal viability in a neurodegeneration model of fetal rat primary cortical cultures and its implication in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 112, 843–853. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06490.x>.
81. Multum, C., 2019. Donepezil Medically Reviewed by Drugs com <https://www.drugs.com /mtm/donepezil.html>.
82. Mercier, F., Lefevre, G., Huang, H.L., 2007. Rivastigmine exposure provided by a transdermal patch versus capsules. *Curr. Med. Res. Opin.* 23, 3199–3204. <https://doi.org/10.1185/030079908X253438>.
83. Corey-Bloom, J., Anand, R., Veach, J., 1998. 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. Psychiatr.* 1, 55–65. <https://doi.org/10.3329/sjps.v4i1.8878>.
84. Rosler, M., Anand, R., Cicin-Sain, A., Gauthier, S., Agid, Y., Dal-Bianco, P., St` ahelin, H.B., Hartman, R., Gharabawi, M., 1999. Efficacy and safety of rivastigmine in patients with Alzheimer's disease: international randomised controlled trial. *BMJ* 318 (7184), 633–638. <https://doi.org/10.1136/bmj.318.7184.633>.
85. Potkin, S.G., Anand, R., Fleming, K., Alva, G., Keator, D., Carreon, D., Messina, J., Wu, J. C., Hartman, R., Fallon, J.H., 2001. Brain metabolic and clinical effects of rivastigmine in Alzheimer's disease. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 4 (3), 223–230. <https://doi.org/10.1017/S1461145701002528>.
86. Parnetti, L., Chiasserini, D., Andreasson, U., Ohlson, M., Hüls, C., Zetterberg, H., Minthon, L., Wallin, A.K., Andreasen, N., Talesa, V.N., Blennow, K., 2011. Changes in CSF acetyl and butyrylcholinesterase activity after long-term treatment with AChE inhibitors in Alzheimer's disease. *Acta Neurol. Scand.* 124 (2), 122–129. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2010.01435>.
87. Farlow, M.R., Grossberg, G.T., Sadowsky, C.H., Meng, X., Somogyi, M.A., 2013. 24-week, randomized, controlled trial of rivastigmine patch 13.3 mg/24 h versus 4.6 mg/24 h in severe Alzheimer's dementia. *CNS Neurosci. Ther.* 19 (10) <https://doi.org/10.1111/cns.12158>, 745–552.

88. Birks, J.S., Grimley Evans, J., 2015. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 4, CD001191. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001191.pub3>.
89. Coelho, F., Birks, J., 2001. Physostigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2), CD001499. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001499>.
90. Olin, J., Schneide, r L., 2006. Galantamine for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst. Rev.* 1 (1) <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001747.pub3>.
91. Rinner, U., Dankcand, C., Hudlickyd, T., 2017. GALANTHAMINE (chapter 11). <http://dx.medra.org/10.17374/targets.2017.20.283>.
92. Maelicke, A., Hoeffle-Maas, A., Ludwig, J., Maus, A., Samochock, M., Jordis, U., Koepke, A.K.E., 2010. Memogain is a galantamine pro-drug having dramatically reduced adverse effects and enhanced efficacy. *J. Mol. Neurosci.* 40 (1–2), 135–137. <https://doi.org/10.1007/s12031-009-9269-5>.
93. Atanasova, M., Stavrakov, G., Philipova, I., Zheleva, D., Yordanov, N., Doytchinova, I., 2015. Galantamine derivatives with indole moiety: docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. *Bioorg. Med. Chem.* 23 (17), 5382–5389. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.07.058>.
94. Bautista-Aguilera, O.M., Esteban, G., Bolea, I., Nikolic, K., Agbaba, D., Moraleda, I., Iriepa, I., Samadi, A., Soriano, E., Unzeta, M., Marco-Contelles, J., 2014. Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and ADMET of novel donepezil-indolyl hybrids as multipotent cholinesterase/ monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* 75, 82–95. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.12.028>.
95. Buckler, J.N., Taher, E.S., Fraser, N.J., Willis, A.C., Carr, P.D., Jackson, C.J., Banwell, M. G., 2017. The synthesis of certain derivatives and analogues of (–)– and (+)–Galanthamine and an assessment of their capacities to inhibit acetylcholine esterase. *J. Org. Chem.* 82, 7869–7886. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b01062>.
96. Darvesh, S., Walsh, R., Kumar, R., Caines, A., Roberts, S., Magee, D., Rockwood, K., Martin, E., 2003. Inhibition of human cholinesterases by drugs used to treat Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 17 (2), 117–126. <https://doi.org/10.1097/00002093-200304000-00011>.
97. Maelicke, A., 2000. Allosteric modulation of nicotinic receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cognit. Disord.* 11 (Suppl. 1), 11–18. <https://doi.org/10.1159/000051227>.
98. Perry, E., Martin-Ruiz, C., Lee, M., Griffiths, M., Johnson, M., Piggott, M., Haroutunian, V., Buxbaum, J.D., N~ asland, J., Davis, K., Gotti, C., Clementi, F., Tzartos, S., Cohen, O., Soreq, H., Jaros, E., Perry, R., Ballard, C., McKeith, I., Court, J., 2000. Nicotinic receptor subtypes in human brain ageing. *Alzheimer and Lewy body diseases. Eur. J. Pharmacol.* 393, 215–222. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00064-9).
99. Mohapel, P., Leanza, G., Kokaia, M., Lindvall, O., 2005. Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. *Neurobiol. Aging* 26, 939–946. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.07.015>.
100. Kita, Y., Ago, Y., Higashino, K., Asada, K., Takano, E., Takuma, K., Matsuda, T., 2014. Galantamine promotes adult hippocampal neurogenesis via M1 muscarinic and $\alpha 7$ nicotinic receptors in mice. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17 (12), 1957–1968. <https://doi.org/10.1017/S1461145714000613>
101. Bhattacharya, S., Haertel, C., Maelicke, A., Montag, D., 2014. Galantamine slows down plaque formation and behavioral decline in the 5XFAD mouse model of

- Alzheimer's disease. *PLoS One* 9, e89454. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089454>.
102. Wu, Z., Zhao, L., Chen, X., Cheng, X., Zhang, Y., 2015. Galantamine attenuates amyloid- β deposition and astrocyte activation in APP/PS1 transgenic mice. *Exp. Gerontol.* 72, 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2015.10.015>
 103. Dimitrova, D.S., Getova-Spassova, D.P., 2006. Effects of galantamine and donepezil on active and passive avoidance tests in rats with induced hypoxia. *J. Pharmacol. Sci.* 101, 199–204. <https://doi.org/10.1254/jphs.FPE05006X>.
 104. Liu, Y., Zhang, Y., Zheng, X., Fang, T., Yang, X., Luo, X., Guo, A., Newell, K.A., Huang, X. F., Yu, Y., 2018. Galantamine improves cognition, hippocampal inflammation, and synaptic plasticity impairments induced by lipopolysaccharide in mice. *J. Neuroinflammation* 15 (1), 112. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1141-5>.
 105. Mishra, D.N., 2019. Nose to brain delivery of galantamine loaded nanoparticles: in-vivo pharmacodynamic and biochemical study in mice. *Curr. Drug Deliv.* 16 (1), 51–58. <https://doi.org/10.2174/1567201815666181004094707>.
 106. Alexander, A., Saraf, S., Saraf, S., 2015. A comparative study of chitosan and poloxamer based thermosensitive hydrogel for the delivery of PEGylated melphalan conjugates. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 41, 1954–1961. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1011167>.
 107. Alexander, A., Ajazuddin, M., Patel, R.J., Saraf, S., Saraf, S., 2016. Recent expansion of pharmaceutical nanotechnologies and targeting strategies in the field of phytopharmaceuticals for the delivery of herbal extracts and bioactives. *J. Contr. Release* 241, 110–124. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.017>.
 108. Alexander, A., Ajazuddin, M., Swarna, M., Sharma, M., Tripathi, D.K., 2011. Polymers and permeation enhancers: specialized components of mucoadhesives. *Stamford J. Pharm. Sci.* 4, 91–95. <https://doi.org/10.3329/sjps.v4i1.8878>
 109. Seltzer, B., 2010. Galantamine-ER for the treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Clin. Interv. Aging* 5, 1–6. <https://doi.org/10.2147/CIA.S4819>.
 110. Mohammad, D., Chan, P., Bradley, J., 2017. Acetylcholinesterase inhibitors for treating dementia symptoms- a safety evaluation. *Expet Opin. Drug Saf.* 16 (9), 1009–1019. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1351540>.
 111. Farlow, M.R., 2003. Clinical pharmacokinetics of galantamine. *Clin. Pharmacokinet.* 42 (15), 1383–1392. <http://doi.org-443.webvpn.fjmu.edu.cn/10.2165/00003088-200342150-00005>.
 112. Scott, L.J., Goa, K.L., 2000. Galantamine: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs* 60 (5), 1095–1122. <https://doi.org/10.2165/00003495-200060050-00008>
 113. Raskind, M.A., Peskind, E.R., Wessel, T., Yuan, W., 2000. Galantamine in AD: a 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension. *Neurology* 54 (12), 2261–2268. <https://doi.org/10.1212/WNL.54.12.2261>.
 114. Tariot, P.N., Solomon, P.R., Morris, J.C., Kershaw, P., Lilienfeld, S., Ding, C., 2000. A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurology* 54 (12), 2269–2276. <https://doi.org/10.1212/WNL.54.12.2269>.
 115. Wilcock, G.K., Lilienfeld, S., Gaens, E., 2000. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. Galantamine International-1 Study Group. *BMJ* 321 (7274), 1445–1449. <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7274.1445>.

116. Rockwood, K., Fay, S., Gorman, M., 2010. The ADAS-cog and clinically meaningful change in the VISTA clinical trial of galantamine for Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatr.* 25 (2), 191–201. <https://doi.org/10.1002/gps.2319>.
117. Wilkinson, D., Murray, J., 2001. Galantamine: a randomized, double-blind, dose comparison in patients with Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatr.* 16 (9), 852–857. <https://doi.org/10.1002/gps.409>.
118. Brodaty, H., Corey-Bloom, J., Potocnik, F.C., Truyen, L., Gold, M., Damaraju, C.R., 2005. Galantamine prolonged-release formulation in the treatment of mild to moderate Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cognit. Disord.* 20 (2–3), 120–132. <https://doi.org/10.1159/000086613>.
119. Jiang, D., Yang, X., Li, M., Wang, Y., Wang, Y., 2015. Efficacy and safety of galantamine treatment for patients with Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Neural. Transm.* 122, 1157–1166. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1358-0>.
120. Kavanagh, S., Gaudig, M., Van Baelen, B., Adami, M., Delgado, A., Guzman, C., Jedenius, E., Schauble, B., 2011. Galantamine and behavior in Alzheimer disease: analysis of four trials. *Acta Neurol. Scand.* 124, 302–308. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2011.01525.x>.
121. Amenta, F., Carotenuto, A., Fasanaro, A.M., Rea, R., Traini, E., 2014. The ASCOMALVA (association between the cholinesterase inhibitor donepezil and the cholinergic precursor choline alphoscerate in alzheimer's disease) trial: interim results after two years of treatment. *J Alzheimers Dis.* 42 (Suppl. 3), S281–S288. <https://doi.org/10.3233/JAD-140150>
122. Carotenuto, A., Rea, R., Traini, E., et al., 2017. The effect of the association between donepezil and choline alphoscerate on behavioral disturbances in alzheimer's disease: interim results of the ASCOMALVA trial. *J Alzheimers Dis.* 56 (2), 805–815. <https://doi.org/10.3233/JAD-160675>.
123. Traini, E., Carotenuto, A., Fasanaro, A.M., Amenta, F., 2020. Volume Analysis of brain cognitive areas in alzheimer's disease: interim 3-year results from the ASCOMALVA trial. *J Alzheimers Dis.* 76 (1), 317–329. <https://doi.org/10.3233/JAD-190623>.
124. Adler, G., Mueller, B., Articus, K., 2014. The transdermal formulation of rivastigmine improves caregiver burden and treatment adherence of patients with Alzheimer's disease under daily practice conditions. *Int. J. Clin. Pract.* 68, 465–470. <https://doi.org/10.1111/ijcp.12374>.
125. Brewer, L., Bennett, K., McGreevy, C., Williams, D., 2013. A population based study of dosing and persistence with anti-dementia medications. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 69, 1467–1475. <https://doi.org/10.1007/s00228-013-1483-y>.
126. Grossberg, G.T., Manes, F., Allegri, R.F., Gutierrez-Robledo, L.M., Gloger, S., Xie, L., 2013. The safety, tolerability, and efficacy of once-daily memantine (28 mg): a multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients with moderate-to-severe Alzheimer's disease taking cholinesterase inhibitors. *CNS Drugs* 27, 469–478. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0077-7>.
127. Greig, S.L., 2015. Memantine ER/donepezil: a review in alzheimer's disease. *CNS Drugs* 29, 963–970. <https://doi.org/10.1007/s40263-015-0287-2>.
128. Boinpally, R., Chen, L., Zukin, S.R., McClure, N., Hofbauer, R.K., Periclou, A., 2015. 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. *Clin. Drug Invest.* 35, 427–435. <https://doi.org/10.1007/s40261-015-0296-4>.
129. Deardorff, W.J., Grossberg, G.T., 2016. A fixed-dose combination of memantine extended-release and donepezil in the treatment of moderate-to-severe Alzheimer's disease. *Drug Des. Dev. Ther.* 10, 3267–3327. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S86463>.
 130. Johnson, J.A., Johnson, D.A., Kraft, A.D., Calkins, M.J., Jakel, R.J., Vargas, M.R., Chen, P.C., 2008. The Nrf2-ARE pathway: an indicator and modulator of oxidative stress in neurodegeneration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1147, 61–69. <https://doi.org/10.1196/annals.1427.036>.
 131. Tufekci, K.U., Bathway, E., Genc, S., Genc, K., 2011. The Nrf2/ARE pathway: a promising target to counteract mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 314082. <https://doi.org/10.4061/2011/314082>.
 132. Campos, A.C., Moreira, F.A., Gomes, F.V., Del Bel, E.A., Guimaraes, ~ F.S., 2012. Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* 367, 3364–3378. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0389>.
 133. Russo, E., Guy, G.W., 2006. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol *Med. Hypotheses* 66, 234–246. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2005.08.026>.
 134. Rong, C., Lee, Y., Carmona, N.E., Cha, D.S., Ragguett, R.M., Rosenblat, J.D., Mansur, R. B., Ho, R.C., McIntyre, R.S., 2017. Cannabidiol in medical marijuana: research vistas and potential opportunities. *Pharmacol. Res.* 121, 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.005>.
 135. Karl, T., Garner, B., Cheng, D., 2017. The therapeutic potential of the phytocannabinoid cannabidiol for Alzheimer's disease. *Behav. Pharmacol.* 28, 142–160. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000247>.
 136. Joe, E., Ringman, J.M., 2019. Cognitive symptoms of Alzheimer's disease: clinical management and prevention. *BMJ* 367, l6217. <https://doi.org/10.1136/bmj.l6217>
 137. Knight, R., Khondoker, M., Magill, N., Stewart, R., Landau, S., 2018. A systematic review and meta-analysis of the effectiveness of acetylcholinesterase inhibitors and memantine in treating the cognitive symptoms of dementia. *Dement. Geriatr. Cognit. Disord.* 45, 131–151. <https://doi.org/10.1159/000486546>.
 138. Courtney, C., Farrell, D., Gray, R., 2004. AD2000 Collaborative Group. Long-term donepezil treatment in 565 patients with Alzheimer's disease (AD2000): randomised double-blind trial. *Lancet* 363, 2105–2115. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16499-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16499-4).
 139. Howard, R., McShane, R., Lindesay, J., Ritchie, C., Baldwin, A., Barber, R., Burns, A., Denning, T., Findlay, D., Holmes, C., Jones, R., Jones, R., McKeith, I., Macharouthu, A., O'Brien, J., Sheehan, B., Juszczak, E., Katona, C., Hills, R., Knapp, M., Ballard, C., Brown, R.G., Banerjee, S., Adams, J., Johnson, T., Bentham, P., Phillips, P.P., 2015. Nursing home placement in the Donepezil and Memantine in Moderate to Severe Alzheimer's Disease (DOMINO-AD) trial: secondary and post-hoc analyses. *Lancet Neurol.* 14 (12), 1171–1181. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00258-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00258-6).
 140. Rosenblatt, A., Gao, J., Mackell, J., Richardson, S., 2010. Efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease in assisted living facilities. *Am. J.*

- Alzheimer's Dis. Other Dementias 25, 483–489.
<https://doi.org/10.1177/1533317510372923>.
141. Kishi, T., Matsunaga, S., Oya, K., Ikuta, T., Iwata, N., 2015. Protection against brain atrophy by anti-dementia medication in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: meta-analysis of longitudinal randomized placebo-controlled trials. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 18, 1–7. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv070>.
 142. Tsoi, K.K.F., Hirai, H.W., Chan, J.Y.C., Kwok, T.C.Y., 2016. Time to treatment initiation in people with Alzheimer disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 17, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2015.08.007>.
 143. Pinho, B.R.; Ferreres, F.; Valentão, P.; Andrade, P.B. Nature as a source of metabolites with cholinesterase-inhibitory activity: An approach to Alzheimer's disease treatment. *J. Pharm. Pharmacol.* 2013, 65, 1681–1700.
 144. Matławska, I.; Byłka, W.; Gawron-Gzella, A.; Sikorska, M.; Szauffer-Hajdrych, M.; Wojcińska, M.; Dudek-Makuch, M.; Witkowska-Banaszczak, E. *Farmakognozja. Podręcznik dla Studentów Farmacji*, 3rd ed.; Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Medycznego im; Karola Marcinkowskiego w Poznaniu: Warszawa, Poland, 2008; ISBN 978-83-7597-004-3.
 145. Berkov, S.; Ivanov, I.; Georgiev, V.; Codina, C.; Pavlov, A. Galanthamine biosynthesis in plant in vitro systems. *Eng. Life Sci.* 2014, 14, 643–650.
 146. Rhee, I.K.; van de Meent, M.; Ingkaninan, K.; Verpoorte, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *J. Chromatogr. A* 2001, 915, 217–223.
 147. Gulcan, H.O.; Orhan, I.E.; Sener, B. Chemical and Molecular Aspects on Interactions of Galanthamine and Its Derivatives with Cholinesterases. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2015, 16, 252–258.
 148. McNulty, J.; Nair, J.J.; Little, J.R.; Brennan, J.D.; Bastida, J. Structure–activity studies on acetylcholinesterase inhibition in the lycorine series of Amaryllidaceae alkaloids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 5290–5294
 149. Liew, S.Y.; Khaw, K.Y.; Murugaiyah, V.; Looi, C.Y.; Wong, Y.L.; Mustafa, M.R.; Litaudon, M.; Awang, K. Natural indole butyrylcholinesterase inhibitors from *Nauclea officinalis*. *Phytomedicine* 2015, 22, 45–48.
 150. Berkov, S.; Codina, C.; Viladomat, F.; Bastida, J. N-Alkylated galanthamine derivatives: Potent acetylcholinesterase inhibitors from *Leucojum aestivum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 2263–2266.
 151. Sarikaya, B.B.; Kaya, G.I.; Onur, M.A.; Bastida, J.; Somer, N.U. Phytochemical investigation of *Galanthus woronowii*. *Biochem. Syst. Ecol.* 2013, 51, 276–279.
 152. Ortiz, J.E.; Garro, A.; Pigni, N.B.; Agüero, M.B.; Roitman, G.; Slanis, A.; Enriz, R.D.; Feresin, G.E.; Bastida, J.; Tapia, A. Cholinesterase-inhibitory effect and in silico analysis of alkaloids from bulbs of *Hieronymiella* species. *Phytomedicine* 2017, 39, 66–74.
 153. Song, H.-P.; Zhang, H.; Hu, R.; Xiao, H.-H.; Guo, H.; Yuan, W.-H.; Han, X.-T.; Xu, X.-Y.; Zhang, X.; Ding, Z.-X.; et al. A strategy to discover lead chemome from traditional Chinese medicines based on natural chromatogram-effect correlation (NCEC) and natural structure-effect correlation (NSEC): *Mahonia bealei* and *Mahonia fortunei* as a case study. *J. Chromatogr. B* 2021, 1181, 122922.

154. Hirasawa, Y.; Kato, E.; Kobayashi, J.; Kawahara, N.; Goda, Y.; Shiro, M.; Morita, H. Lycoparins A–C, new alkaloids from *Lycopodium casuarinoides* inhibiting acetylcholinesterase. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 6167–6171.
155. Zhan, Z.-J.; Yu, Q.; Wang, Z.-L.; Shan, W.-G. Indole alkaloids from *Ervatamia hainanensis* with potent acetylcholinesterase inhibition activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 6185–6187.
156. Skalicka-Woźniak, K.; Orhan, I.E.; Cordell, G.A.; Nabavi, S.M.; Budzyńska, B. Implication of coumarins towards central nervous system disorders. *Pharmacol. Res.* 2016, 103, 188–203.
157. Youkwan, J.; Sutthivaiyakit, S.; Sutthivaiyakit, P. Citrusosides A–D and Furanocoumarins with Cholinesterase Inhibitory Activity from the Fruit Peels of *Citrus hystrix*. *J. Nat. Prod.* 2010, 73, 1879–1883.
158. Wszelaki, N.; Paradowska, K.; Jamróz, M.K.; Granica, S.; Kiss, A.K. Bioactivity-Guided Fractionation for the Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity of Furanocoumarins from *Angelica archangelica* L. Roots and Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 9186–9193.
159. Awang, K.; Chan, G.; Litaudon, M.; Ismail, N.H.; Martin, M.-T.; Gueritte, F. 4-Phenylcoumarins from *Mesua elegans* with acetylcholinesterase inhibitory activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 18, 7873–7877.
160. Lv, H.; She, G. Naturally Occurring Diarylheptanoids—A Supplementary Version. *Rec. Nat. Prod.* 2012, 13, 321–333.
161. Lee, J.S.; Kim, J.H.; Han, Y.K.; Ma, J.Y.; Kim, Y.H.; Li, W.; Yang, S.Y. Cholinesterases inhibition studies of biological active compounds from the rhizomes of *Alpinia officinarum* Hance and in silico molecular dynamics. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, 120, 2442–2447.
162. Xie, Y.; Yang, W.; Chen, X.; Xiao, J. Inhibition of flavonoids on acetylcholine esterase: Binding and structure–activity relationship. *Food Funct.* 2014, 5, 2582–2589.
163. Ryu, H.W.; Curtis-Long, M.J.; Jung, S.; Jeong, I.Y.; Kim, D.S.; Kang, K.Y.; Park, K.H. Anticholinesterase potential of flavonols from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) and their kinetic studies. *Food Chem.* 2012, 132, 1244–1250.
164. Cho, J.K.; Ryu, Y.B.; Curtis-Long, M.J.; Ryu, H.W.; Yuk, H.J.; Kim, D.W.; Kim, H.J.; Lee, W.S.; Park, K.H. Cholinesterase inhibitory effects of geranylated flavonoids from *Paulownia tomentosa* fruits. *Bioorg. Med. Chem.* 2012, 20, 2595–2602.
165. Katalinić, M.; Rusak, G.; Barović, J.D.; Šinko, G.; Jelić, D.; Antolović, R.; Kovarik, Z. Structural aspects of flavonoids as inhibitors of human butyrylcholinesterase. *Eur. J. Med. Chem.* 2010, 45, 186–192.
166. Kovács, A.; Vasas, A.; Hohmann, J. Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry* 2008, 69, 1084–1110.
167. Liu, Y.; Tu, Y.; Kang, Y.; Zhu, C.; Wu, C.; Chen, G.; Liu, Z.; Li, Y. Biological evaluation, molecular modeling and dynamics simulation of phenanthrenes isolated from *Bletilla striata* as butyrylcholinesterase inhibitors. *Sci. Rep.* 2022, 12, 13649.
168. Ren, Y.; Houghton, P.J.; Hider, R.C.; Howes, M.-J.R. Novel Diterpenoid Acetylcholinesterase Inhibitors from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med.* 2004, 70, 201–204.
169. Zhou, Y.; Li, W.; Xu, L.; Chen, L. In *Salvia miltiorrhiza*, phenolic acids possess protective properties against amyloid β -induced cytotoxicity, and tanshinones act as acetylcholinesterase inhibitors. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2011, 31, 443–452.

170. Raut, N.A.; Dhore, P.W.; Saoji, S.D.; Kokare, D.M. Chapter 9—Selected Bioactive Natural Products for Diabetes Mellitus. In *Studies in Natural Products Chemistry*; Atta-ur-Rahman, Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; Volume 48, pp. 287–322.
171. Urbain, A.; Marston, A.; Queiroz, E.F.; Ndjoko, K.; Hostettmann, K. Xanthones from *Gentiana campestris* as New Acetylcholinesterase Inhibitors. *Planta Med.* 2004, 70, 1011–1014.
172. Urbain, A.; Marston, A.; Grilo, L.S.; Bravo, J.; Purev, O.; Purevsuren, B.; Batsuren, D.; Reist, M.; Carrupt, P.-A.; Hostettmann, K. Xanthones from *Gentianella amarella* ssp. *acuta* with Acetylcholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibitory Activities. *J. Nat. Prod.* 2008, 71, 895–897.
173. Fink, K.; Boratyński, J. Oddziaływanie Niekowalencyjne Kation- π —Ich Rola w Przyrodzie. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2014, 68, 1276–1286.
174. Liu, L.; Yin, Q.-M.; Gao, Q.; Li, J.; Jiang, Y.; Tu, P.-F. New biphenanthrenes with butyrylcholinesterase inhibitory activity from *Cremastra appendiculata*. *Nat. Prod. Res.* 2019, 35, 750–756.
175. Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L., and Sussman, J. L. (2010).
176. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chem. Biol. Interact.* 187, 177. 10–22. doi: 10.1016/j.cbi.2010.01.042
178. Hostettmann, K., Borloz, A., Urbain, A., and Marston, A. (2006). Natural product inhibitors of acetylcholinesterase. *Curr. Org. Chem.* 10, 825–847. doi: 10.2174/138527206776894410
179. Houghton, P. J., Ren, Y., and Howes, M.-J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Nat. Product Rep.* 23, 181–199. doi: 10.1039/b508966m
180. Greenblatt, H. M., Kryger, G., Lewis, T., Silman, I., and Sussman, J. L. (1999). Structure of acetylcholinesterase complexed with (-)-galanthamine at 2.3 Å resolution. *FEBS Lett.* 463, 321–326. doi: 10.1016/S0014-5793(99)01637-3
181. Johnson, G., and Moore, S. W. (2006). The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: structure, functions and potential role in rational drug design. *Curr. Pharm. Des.* 12, 217–225. doi: 10.2174/138161206775193127
182. Anand, P., Singh, B., and Singh, N. (2012). A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer’s disease. *Bioorg. Med. Chem.* 20, 1175–1180. doi: 10.1016/j.bmc.2011.12.042
183. Kang, S. Y., Lee, K. Y., Sung, S. H., Park, M. J., and Kim, Y. C. (2001). Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *J. Nat. Prod.* 64, 683–685. doi: 10.1021/np000441w
184. Gulcan, H. O., Orhan, I. E., and Sener, B. (2015). Chemical and molecular aspects on interactions of galanthamine and its derivatives with cholinesterases. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 16, 252–258. doi: 10.2174/1389201015666141202105105
185. Qian, Z. M., and Ke, Y. (2014). Huperzine A: is it an effective disease-modifying drug for Alzheimer’s disease? *Front. Aging Neurosci.* 6:216. doi: 10.3389/fnagi.2014.00216
186. Jung, H. A., Min, B.-S., Yokozawa, T., Lee, J.-H., Kim, Y. S., and Choi, J. S. (2009). Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids. *Biol. Pharm. Bull.* 32, 1433–1438. doi: 10.1248/bpb.32.1433

187. Huang, Q.-Q., Bi, J.-L., Sun, Q.-Y., Yang, F.-M., Wang, Y.-H., Tang, G.-H., et al. (2012). Bioactive isoquinoline alkaloids from *Corydalis saxicola*. *Planta Med.* 78, 65–70. doi: 10.1055/s-0031-1280126
188. Pereira, D. M., Ferreres, F., Oliveira, J. M., Gaspar, L., Faria, J., Valentão, P., et al. (2010). Pharmacological effects of *Catharanthus roseus* root alkaloids in acetylcholinesterase inhibition and cholinergic neurotransmission. *Phytomedicine* 17, 646–652. doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.008
189. Lai, D.-H., Yang, Z.-D., Xue, W.-W., Sheng, J., Shi, Y., and Yao, X.-J. (2013). Isolation, characterization and acetylcholinesterase inhibitory activity of alkaloids from roots of *Stemona sessilifolia*. *Fitoterapia* 89, 257–264. doi: 10.1016/j.fitote.2013.06.010
190. Yang, Z.-D., Zhang, X., Du, J., Ma, Z.-J., Guo, F., Li, S., et al. (2012). An aporphine alkaloid from *Nelumbo nucifera* as an acetylcholinesterase inhibitor and the primary investigation for structure–activity correlations. *Nat. Prod. Res.* 26, 387–392. doi: 10.1080/14786419.2010.487188
191. Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., and Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *J. Tradit. Complement. Med.* 4, 82–88. doi: 10.4103/2225-4110.130373
192. Wong, K. K.-K., Ho, M. T.-W., Lin, H. Q., Lau, K.-F., Rudd, J. A., Chung, R. C.-K., et al. (2010). Cryptotanshinone, an acetylcholinesterase inhibitor from *Salvia miltiorrhiza*, ameliorates scopolamine-induced amnesia in Morris water maze task. *Planta Med.* 76, 228–234. doi: 10.1055/s-0029-1186084
193. Khan, H., Amin, S., Kamal, M. A., and Patel, S. (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: current therapeutic standing and future prospects. *Biomed. Pharmacother.* 101, 860–870. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.007
194. Uriarte-Pueyo, I., and Calvo, M. (2011). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 18, 5289–5302. doi: 10.2174/092986711798184325
195. Conforti, F., Rigano, D., Formisano, C., Bruno, M., Loizzo, M. R., Menichini, F., et al. (2010). Metabolite profile and in vitro activities of *Phagnalon saxatile* (L.) Cass. relevant to treatment of Alzheimer’s disease. *J. Enz. Inhibit. Med. Chem.* 25, 97–104. doi: 10.3109/14756360903018260
196. Shu, Y.-Z. (1998). Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J. Nat. Prod.* 61, 1053–1071. doi: 10.1021/np9800102
197. Ma, X., Tan, C., Zhu, D., Gang, D. R., and Xiao, P. (2007). Huperzine A from *Huperzia* species—an ethnopharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* 113, 15–34. doi: 10.1016/j.jep.2007.05.030
198. Rafii, M., Walsh, S., Little, J., Behan, K., Reynolds, B., Ward, C., et al. (2011). A phase II trial of huperzine A in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology* 76, 1389–1394. doi: 10.1212/WNL.0b013e318216eb7b
199. Perry, N. S., Bollen, C., Perry, E. K., and Ballard, C. (2003). *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 651–659. doi: 10.1016/S0091-3057(03)00108-4
200. Tune, L. E. (2001). Anticholinergic effects of medication in elderly patients. *J. Clin. Psychiatry* 62, 11–14.

201. Rollinger, J. M., Hornick, A., Langer, T., Stuppner, H., and Prast, H. (2004). Acetylcholinesterase inhibitory activity of scopolin and scopoletin discovered by virtual screening of natural products. *J. Med. Chem.* 47, 6248–6254. doi: 10.1021/jm049655r
202. Kennedy, D. O., and Scholey, A. B. (2006). The psychopharmacology of European herbs with cognition-enhancing properties. *Curr. Pharm. Design* 12, 4613–4623. doi: 10.2174/138161206779010387
203. Akhondzadeh, S., Shafiee Sabet, M., Harirchian, M. H., Togha, M., Cheraghmakani, H., Razeghi, S., et al. (2010). A 22-week, multicenter, randomized, double-blind controlled trial of *Crocus sativus* in the treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Psychopharmacology* 207, 637–643. doi: 10.1007/s00213-009-1706-1
204. Blanco-Silvente, L., Castells, X., Saez, M., Barcelo, M. A., Garre-Olmo, J., Vilalta-Franch, J., et al. (2017). Discontinuation, efficacy, and safety of cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: a meta-analysis and metaregression of 43 randomized clinical trials enrolling 16 106 patients. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 20, 519–528. doi: 10.1093/ijnp/pyx012
205. Huq, A. K., Jamal, J. A., and Stanslas, J. (2014). Ethnobotanical, phytochemical, pharmacological, and toxicological aspects of *Persicaria hydropiper* (L.) delarbre. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2014:782830. doi: 10.1155/2014/782830
206. Imenshahidi, M., and Hosseinzadeh, H. (2016). *Berberis vulgaris* and berberine: an update review. *Phytother. Res.* 30, 1745–1764. doi: 10.1002/ptr.5693
207. Bostan, H. B., Mehri, S., and Hosseinzadeh, H. (2017). Toxicology effects of saffron and its constituents: a review. *Iran J. Basic Med. Sci.* 20, 110–121. doi: 10.22038/ijbms.2017.8230
208. Huang, L., Su, T., and Li, X. (2013). Natural products as sources of new lead compounds for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr. Top. Med. Chem.* 13, 1864–1878. doi: 10.2174/15680266113139990142
209. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres V. Jr., and Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7, 88–95. doi: 10.1016/0006-2952(61)90145-9
210. Holas, O., Musilek, K., Pohanka, M., and Kuca, K. (2012). The progress in the cholinesterase quantification methods. *Expert Opin. Drug Discov.* 7, 1207–1223. doi: 10.1517/17460441.2012.729037
211. Mehta, M., Adem, A., and Sabbagh, M. (2012). New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Int. J. Alzheimers Dis.* 2012:728983. doi: 10.1155/2012/728983
212. Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M., and Vasic, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr. Neuropharmacol.* 11, 315–335. doi: 10.2174/1570159X11311030006
213. Heinrich, M. (2010). Galanthamine from *Galanthus* and other amaryllidaceae—chemistry and biology based on traditional use. *Alkaloids Chem. Biol.* 68, 157–165. doi: 10.1016/S1099-4831(10)06804-5
214. Ha, G. T., Wong, R. K., and Zhang, Y. (2011). Huperzine A as potential treatment of Alzheimer's disease: an assessment on chemistry, pharmacology, and clinical studies. *Chem. Biodivers.* 8, 1189–1204. doi: 10.1002/cbdv.201000269

215. Sahoo, A. K., Dandapat, J., Dash, U. C., and Kanhar, S. (2018). Features and outcomes of drugs for combination therapy as multi-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *J. Ethnopharmacol.* 215, 42–73. doi: 10.1016/j.jep.2017.12.015
216. Lopez, S., Bastida, J., Viladomat, F., and Codina, C. (2002). Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Sci.* 71, 2521–2529. doi: 10.1016/S0024-3205(02)02034-9
217. Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., and Thongnoi, W. (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *J. Ethnopharmacol.* 89, 261–264. doi: 10.1016/j.jep.2003.08.008
218. Berkov, S., Codina, C., Viladomat, F., and Bastida, J. (2008). N-Alkylated galanthamine derivatives: potent acetylcholinesterase inhibitors from *Leucojum aestivum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 2263–2266. doi: 10.1016/j.bmcl.2008.03.008
219. Adewusi, E. A., and Steenkamp, V. (2011). In vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. *Asian Pacif. J. Trop. Med.* 4, 829–835. doi: 10.1016/S1995-7645(11)60203-4
220. Nwidu, L. L., Elmorsy, E., Thornton, J., Wijamunige, B., Wijesekara, A., Tarbox, R., et al. (2017). Anti-acetylcholinesterase activity and antioxidant properties of extracts and fractions of *Carpolobia lutea*. *Pharm. Biol.* 55, 1875–1883. doi: 10.1080/13880209.2017.1339283
221. Sarker, S. D., Latif, Z., and Gray, A. I. (2005). *Natural Products Isolation*. Totowa, NJ: Humana Press.
222. Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza, N. P., and Cavallaro, V. (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Curr. Neuropharmacol.* 11, 388–413. doi: 10.2174/1570159X11311040004
223. Loizzo, M. R., Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Conforti, F., Nadjafi, F., et al. (2009). In vitro biological activity of *Salvia leriifolia* Benth essential oil relevant to the treatment of Alzheimer's disease. *J. Oleo Sci.* 58, 443–446. doi: 10.5650/jos.58.443
224. Ayaz, M., Junaid, M., Ahmed, J., Ullah, F., Sadiq, A., Ahmad, S., et al. (2014). Phenolic contents, antioxidant and anticholinesterase potentials of crude extract, subsequent fractions and crude saponins from *Polygonum hydropiper* L. *BMC Complement. Altern. Med.* 14:145. doi: 10.1186/1472-6882-14-145
225. Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Sadiq, A., Khan, M. A., Ahmad, W., et al. (2015). Comparative chemical profiling, cholinesterase inhibitions and anti-radicals properties of essential oils from *Polygonum hydropiper* L: a preliminary anti-Alzheimer's study. *Lipids Health Dis.* 14:141. doi: 10.1186/s12944-015-0145-8
226. Cardoso-Lopes, E. M., Maier, J. A., Silva, M. R. D., Regasini, L. O., Simote, S. Y., Lopes, N. P., et al. (2010). Alkaloids from stems of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) as potential treatment for Alzheimer disease. *Molecules* 15, 9205–9213. doi: 10.3390/molecules15129205
227. Bonesi, M., Loizzo, M. R., Conforti, F., Passalacqua, N. G., Saab, A., Menichini, F., et al. (2013). *Berberis aetnensis* and *B. libanotica*: a comparative study on the chemical composition, inhibitory effect on key enzymes linked to Alzheimer's disease and antioxidant activity. *J. Pharmacy Pharmacol.* 65, 1726–1735. doi: 10.1111/jphp.12172

228. Liu, J.-S., Zhu, Y.-L., Yu, C.-M., Zhou, Y.-Z., Han, Y.-Y., Wu, F.-W., et al. (1986). The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *Can. J. Chem.* 64, 837–839. doi: 10.1139/v86-137
229. Damar, U., Gersner, R., Johnstone, J. T., Schachter, S., and Rotenberg, A. (2016). Huperzine A as a neuroprotective and antiepileptic drug: a review of preclinical research. *Expert Rev. Neurother.* 16, 671–680. doi: 10.1080/14737175.2016.1175303
230. Ohba, T., Yoshino, Y., Ishisaka, M., Abe, N., Tsuruma, K., Shimazawa, M., et al. (2015). Japanese *Huperzia serrata* extract and the constituent, huperzine A, ameliorate the scopolamine-induced cognitive impairment in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79, 1838–1844. doi: 10.1080/09168451.2015.1052773
231. Tung, B. T., Hai, N. T., and Thu, D. K. (2017). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities in vitro of different fraction of *Huperzia squarrosa* (Forst.) Trevis extract and attenuation of scopolamine-induced cognitive impairment in mice. *J. Ethnopharmacol.* 198, 24–32. doi: 10.1016/j.jep.2016.12.037
232. Armijos, C., Gilardoni, G., Amay, L., Lozano, A., Bracco, F., Ramirez, J., et al. (2016). Phytochemical and ethnomedicinal study of *Huperzia* species used in the traditional medicine of Saraguros in Southern Ecuador; AChE and MAO inhibitory activity. *J. Ethnopharmacol.* 193, 546–554. doi: 10.1016/j.jep.2016.09.049
233. Amorati, R., and Valgimigli, L. (2018). Methods to measure the antioxidant activity of phytochemicals and plant extracts. *J. Agric. Food Chem.* 66, 3324–3329. doi: 10.1021/acs.jafc.8b01079
234. Pueyo, I. U., and Calvo, M. I. (2009). Assay conditions and validation of a new UV spectrophotometric method using microplates for the determination of polyphenol content. *Fitoterapia* 80, 465–467. doi: 10.1016/j.fitote.2009.06.008
235. Tönnies, E., & Trushina, E. (2017). Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57, 1105–1121.
236. Li, Y. X., Qiang, X. M., Li, Y., Yang, X., Li, L., Xiao, G., & Cao, Z. (2016). Pterostilbene-O-acetamidoalkylbenzylamines derivatives as novel dual inhibitors of cholinesterase with anti- β amyloid aggregation and antioxidant properties for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26, 2035–2039.
237. Tang, H., Zhao, L. Z., Zhao, H. T., Huang, S. L., Zhong, S. M., Qin, J. K., Chen, Z. F., Huang, Z. S., & Liang, H. (2011). Hybrids of oxoisoaporphine-tacrine congeners: Novel acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β -amyloid aggregation inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 4970–4979.
238. Zheng, Y., Qiang, X., Xu, R., Song, Q., Tian, C., Liu, H., Li, W., Tan, Z., & Deng, Y. (2018). Design, synthesis and evaluation of pterostilbene β -amino alcohol derivatives as multifunctional agents for Alzheimer's disease treatment. *Bioorganic Chemistry*, 81, 2306.
239. Tonelli, M., Catto, M., Tasso, B., Novelli, F., Canu, C., Iusco, G., Pisani, L., De Stradis, A., Denora, N., Sparatore, A., Boido, V., Carotti, A., & Sparatore, F. (2015). Multitarget therapeutic leads for Alzheimer's Disease: Quinolizidinyl derivatives of bi- and tricyclic systems as dual inhibitors of cholinesterases and β amyloid ($A\beta$) aggregation. *ChemMedChem*, 10, 1040–1053.
240. Garcia, M. E., Borioni, J. L., Cavallaro, V., Puiatti, M., Pierini, A. B., Murray, A. P., & Penenory, A. B. (2015). Solanocapsine derivatives as potential inhibitors of

- acetylcholinesterase: Synthesis, molecular docking and biological studies. *Steroids*, 104, 95–110.
241. Hong, C., Luo, W., Yao, D., Su, Y.-B., Zhang, X., Tian, R.-G., & Wang, C.-J. (2014). Novel aromatic–polyamine conjugates as cholinesterase inhibitors with notable selectivity toward butyrylcholinesterase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 3213–3219. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.03.045>
 242. Nordin, N., Karimian, H., Rahman, M. A., Majid, N. A., Mohan, S., Dehghan, F., Ali, H. M., & Hashim, N. M. (2016). Cleistopholine isolated from *Enicosanthellum pulchrum* exhibits apoptogenic properties in human ovarian cancer cells. *Phytomedicine*, 23, 406–416. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.016>
 243. Jacobs, N., Lang, S., Panisch, R., Wittstock, G., Groth, U., & Nasiri, H. R. (2015). Investigation on the electrochemistry and cytotoxicity of the natural product marcanine A and its synthetic derivatives. *RSC Advances*, 5, 58561–58565. <https://doi.org/10.1039/C5RA11078E>
 244. Wang, J., Li, W., Qin, J., Wang, L., Wei, S., & Tang, H. (2018). Assessment of novel azaanthraquinone derivatives as potent multi-target inhibitors of inflammation and amyloid- β aggregation in Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 81, 2607.
 245. Venneti, S., Wiley, C. A., & Kofler, J. (2009). Imaging microglial activation during neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 4, 227–243. <https://doi.org/10.1007/s11481-008-9142-2>
 246. Wyss-Coray, T. (2006). Inflammation in Alzheimer disease: Driving force, bystander or beneficial response? *Nature Medicine*, 12, 1005–1015.
 247. Lan, X., Liu, R., Sun, L., Zhang, T., & Du, G. (2011). Methyl salicylate 2-O- β -D-lactoside, a novel salicylic acid analogue, acts as an anti-inflammatory agent on microglia and astrocytes. *Journal of Neuroinflammation*, 8, 98.
 248. Rankovic, Z. (2017). CNS physicochemical property space shaped by a diverse set of molecules with experimentally determined exposure in the mouse brain. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 5943–5954.
 249. Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1, 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>
 250. Prati, F., Bergamini, C., Fato, R., Soukup, O., Korabecny, J., Andrisano, V., Bartolini, M., & Bolognesi, M. L. (2016). Novel 8-hydroxyquinoline derivatives as multitarget compounds for the treatment of Alzheimer's disease. *ChemMedChem*, 11, 1284–1295.
 251. Zhu, J., Wang, L., Cai, R., Geng, S., Dong, Y., & Liu, Y. (2019). Design, synthesis, evaluation and molecular modeling study of 4-N-phenylaminoquinolines for Alzheimer disease treatment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29, 1325–1329.
 252. Meena, P., Nemaysh, V., Khatri, M., Manral, A., Luthra, P. M., & Tiwari, M. (2015). Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of novel piperidine and piperazine derivatives as multi-targeted agents to treat Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 1135–1148.
 253. He, Q., Liu, J., Lan, J., Ding, J., Sun, Y., Fang, Y., Jiang, N., Yang, Z., Sun, L., Jin, Y., & Xie, S. (2018). Coumarin-dithiocarbamate hybrids as novel multitarget AChE and MAO-B inhibitors against Alzheimer's disease: Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 81, 512–528.

254. Cai, R., Wang, L. N., Fan, J. J., Geng, S. Q., & Liu, Y. M. (2019). New 4-N-phenylaminoquinoline derivatives as antioxidant, metal chelating and cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 82, 103328.
255. Çapan, İ & Servi, S. Synthesis of novel aza-heterocyclic derivatives from diester and diacid chlorides having the dibenzobarrelene skeleton. *Synth. Commun.* 48(10), 1164–1171 (2018).
256. Sanaeishoar, T., Tavakkoli, H. & Mohave, F. A facile and eco-friendly synthesis of imidazo [1, 2-a] pyridines using nano-sized LaMnO₃ perovskite-type oxide as an efficient catalyst under solvent-free conditions. *Appl. Catal. A* 470, 56–62 (2014).
257. Ueda, T., Mase, H., Oda, N. & Ito, I. Synthesis of pyrazolone derivatives. XXXIX. Synthesis and analgesic activity of pyrano [2, 3-c] pyrazoles. *Chem. Pharma. Bull.* 29(12), 3522–3528 (1981).
258. Zaiter, J. et al. An easy synthetic access to new pyrazole spiro derivatives from 3-amino-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one. *New J. Chem.* 39(9), 6738–6741 (2015).
259. Arumugam, N. et al. Regio and stereoselective synthesis of anticancer spirooxindolopyrrolidine embedded piperidone heterocyclic hybrids derived from one-pot cascade protocol. *Chem. Cent. J.* 12(1), 95–95 (2018).
260. Onnis, V. et al. 2-Acylhydrazino-5-arylpyrrole derivatives: Synthesis and antifungal activity evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 44(3), 1288–1295 (2009).
261. Surineni, G. et al. Design, synthesis, and in vitro biological evaluation of novel benzimidazole tethered allylidenehydrazinylmethylthiazole derivatives as potent inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Medchemcomm* 10(1), 49–60 (2018).
262. Shin, J.-S. et al. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of new synthetic 3-(4-hydroxyphenyl)-4-(4-thiomethoxyphenyl)-1Hpyrrole-2, 5-dione. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22(6), 2221–2225 (2012).
263. Battilocchio, C. et al. A class of pyrrole derivatives endowed with analgesic/anti-inflammatory activity. *Bioorg. Med. Chem.* 21(13), 3695–3701 (2013).
264. Goel, A. et al. Antihyperglycemic activity of 2-methyl-3,4,5-triaryl-1H-pyrroles in SLM and STZ models. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14(5), 1089–1092 (2004).
265. Lv, K. et al. Synthesis and antitumor activity of 5-[1-(3-(dimethylamino)propyl)-5-halogenated-2-oxoindolin-(3Z)-ylidene-methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxamides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21(10), 3062–3065 (2011).
266. Osmaniye, D. et al. Novel thiosemicarbazone derivatives: In vitro and in silico evaluation as potential MAO-B inhibitors. *Molecules* 26(21), 6640 (2021).
267. Manley, J. M. et al. Early amidation approach to 3-[(4-amido) pyrrol-2-yl]-2-indolinones. *J. Org. Chem.* 68(16), 6447–6450 (2003).
268. Paal, C. Synthese von Tiophen-und Pyrrolderivaten. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 18(2), 2251–2254 (1885).
269. Hantzsch, A. Neue bildungsweise von pyrrolderivaten. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 23(1), 1474–1476 (1890).
270. Bullington, J. L., Wolf, R. R. & Jackson, P. F. Regioselective preparation of 2-substituted 3, 4-diaryl pyrroles: A concise total synthesis of ningalin B. *J. Org. Chem.* 67(26), 9439–9442 (2002).
271. Maryamabadi, A., Hasaninejad, A., Nowrouzi, N. & Mohebbi, G. Green synthesis of novel spiro-indenoquinoxaline derivatives and their cholinesterases inhibition activity. *Bioorg. Med. Chem.* 25(7), 2057–2064 (2017).

272. Beyrati, M. & Hasaninejad, A. One-pot, three-component synthesis of spiroindoloquinazoline derivatives under solvent-free conditions using ammonium acetate as a dual activating catalyst. *Tetrahedron Lett.* 58(20), 1947–1951 (2017).
273. Beyrati, M. & Hasaninejad, A. One-pot, sequential four-component synthesis of novel heterocyclic [3.3.3] propellane derivatives at room temperature. *RSC Adv.* 8(26), 14171–14176 (2018).
274. Safari, E., Maryamabadi, A. & Hasaninejad, A. Highly efficient, one-pot synthesis of novel bis-spirooxindoles with skeletal diversity via sequential multi-component reaction in PEG-400 as a biodegradable solvent. *RSC Adv.* 7(63), 39502–39511 (2017).
275. Mroczek, T. Highly efficient, selective and sensitive molecular screening of acetylcholinesterase inhibitors of natural origin by solidphase extraction-liquid chromatography/electrospray ionisation-octopole-orthogonal acceleration time-of-flight-mass spectrometry and novel thin-layer chromatography-based bioautography. *J. Chromatogr. A* 2009, 1216, 2519–2528.
276. Hostettmann, K.; Borloz, A.; Urbain, A.; Marston, A. Natural Product Inhibitors of Acetylcholinesterase. *Curr. Org. Chem.* 2006, 10, 825–847.
277. Ryu, H.W.; Oh, S.-R.; Curtis-Long, M.J.; Lee, J.H.; Song, H.-H.; Park, K.H. Rapid Identification of Cholinesterase Inhibitors from the Seedcases of Mangosteen Using an Enzyme Affinity Assay. *J. Agric. Food Chem.* 2014, 62, 1338–1343.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α-ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΑ ΦΥΤΩΝ ΜΕ IN VITRO ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΧΟΛΙΝΕΣΤΕΡΑΣΗΣ

Τα εκχυλίσματα φυτών με in vitro δράση αντιχολινεστεράσης αξιολογήθηκαν με τη μέθοδο Ellman's και ανεγράφησαν στο Pubmed το πρώτο εξάμηνο από το έτος 2007 έως το 2018. Τα φυτικά είδη και τα αντίστοιχα εκχυλίσματα τους ταξινομήθηκαν σε: υψηλής ισχύος (πράσινο φόντο), μέτριας ισχύος (πορτοκαλί φόντο) και χαμηλής ισχύος (κόκκινο φόντο).

Plant species (Families)	Type of extract or fraction (plant's part)	IC ₅₀ (μg/mL)	Toxicological assessment [#]	References
<i>Scadoxus puniceus</i> (L.) Frits & Nordal (Amaryllidaceae)	Ethyl acetate extract (bulb)	0.3	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Lannea schweinfurthii</i> Engl. (Anacardiaceae)	Ethyl acetate extract (root)	0.3	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Carpobolia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Ethyl acetate fraction (root)	0.3	≤100 μg/mL	Nwidi et al., 2017
<i>Xysmalobium undulatum</i> (L.) W. T. Aiton (Apocynaceae)	Ethyl acetate extract (root)	0.5	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Phlegmarium tetragonum</i> (Hook. & Grev.) B. Olig. (Lycopodiaceae)*	Alkaloidal fraction (aerial parts)	0.9	Not assessed	Amijos et al., 2016
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl. (Rutaceae)	Alkaloidal fraction (stems)	1.6	Not assessed	Cardoso-Lopes et al., 2010
<i>Melissa officinalis</i> L. (Lamiaceae)	Ethanol extract (leaves)	1.7	Not assessed	Dastmalchi et al., 2009
<i>Carpobolia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Aqueous fraction (root)	2	≤100 μg/mL	Nwidi et al., 2017
<i>Citrum bulbispermum</i> (Burm. f.) Milne-Redh. & Schweick. (Amaryllidaceae)	Ethyl acetate extract (bulb)	2.1	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Morus alba</i> L. (Moraceae)	Ethyl acetate fraction (root-bark)	2.5	Not assessed	Kuk et al., 2017
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae)	Aqueous fraction (whole plant)	2.6	Not assessed	All et al., 2015
<i>Carpobolia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Methanolic extract (root)	3	≤100 μg/mL	Nwidi et al., 2017
<i>Buchanania axillaris</i> (Desr.) Ramamoorthy (Anacardiaceae)	Methanolic extract (aerial parts)	4.9	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge (Lamiaceae)	Ethanol extract (whole plant)	5.0	Not assessed	Lin et al., 2008
<i>Huperzia serrata</i> (Thunb.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Alkaloids fraction (whole plant)	6.0	Not assessed	Ohba et al., 2015
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl. (Rutaceae)	Hexanic fraction (stems)	6.0	Not assessed	Cardoso-Lopes et al., 2010
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae)	Buthanolic fraction (whole plant)	6.0	Not assessed	All et al., 2015
<i>Berberis aethensis</i> C. Presl (Berberidaceae)	Methanolic fraction (root)	7.6	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H. S. Irwin & Barneby. (Leguminosae)	Ethyl acetate fraction (leaves)	9.4	Not assessed	Jung et al., 2016
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae)	Ethyl acetate fraction (whole plant)	9.7	Not assessed	All et al., 2015
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S. Irwin & Barneby. (Leguminosae)	Buthanolic fraction (leaves)	9.9	Not assessed	Jung et al., 2016
<i>Zanthoxylum davyi</i> Walerm. (Rutaceae)	Methanolic extract (roots)	10	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Ziziphus mucronata</i> Willd. (Rhamnaceae)	Ethyl acetate extract (root)	11.2	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Morus alba</i> L. (Moraceae)	Methanolic extract (root-bark)	11.4	Not assessed	Kuk et al., 2017
<i>Zanthoxylum davyi</i> Walerm. (Rutaceae)	Ethyl acetate extract (roots)	11.6	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Buchanania axillaris</i> (Desr.) Ramamoorthy (Anacardiaceae)	Chloroform fraction (aerial parts)	12.3	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S. Irwin & Barneby. (Leguminosae)	Chloroform fraction (leaves)	12.7	Not assessed	Jung et al., 2016
<i>Morus alba</i> L. (Moraceae)	Chloroform fraction (root-bark)	13.4	Not assessed	Kuk et al., 2017
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae)	Chloroform fraction (whole plant)	13.7	Not assessed	All et al., 2015
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H. S. Irwin & Barneby. (Leguminosae)	Aqueous fraction (leaves)	14.5	Not assessed	Jung et al., 2016

Plant species (Families)	Type of extract or fraction (plant's part)	IC ₅₀ (µg/mL)	Toxicological assessment [#]	References
<i>Citrum bulbisperrum</i> (Burm. f.) Milne-Redh. & Schwick. (Amaryllidaceae)	Methanolic extract (bulb)	14.8	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Ethyl acetate fraction (stem and leaves)	16	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. (Apiaceae)	Methanolic extract (whole plant)	16.6	Not assessed	All et al., 2015
<i>Berberis lbanotica</i> Ehrenb. ex C.K. Schneid. (Berberidaceae)	Methanolic fraction (root)	16.9	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Pavetta indica</i> L. (Rubiaceae)	Methanolic extract (aerial parts)	17.8	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Zephyranthes carinata</i> Herb. (Amaryllidaceae)	Alkaloidal fraction (bulb)	18.0	Not assessed	Cortes et al., 2015
<i>Citrum jagus</i> (J. Thomps.) Dandy (Amaryllidaceae)	Alkaloidal fraction (bulb)	18.3	≤28.7 µg/mL	Cortes et al., 2015
<i>Adenia gummifera</i> (Harv.) Harms (Passifloraceae)	Ethyl acetate extract (root)	18.9	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Berberis lbanotica</i> Ehrenb. ex C.K. Schneid. (Berberidaceae)	Methanolic extract (root)	21.7	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Huperzia squarrosa</i> (G. Forst.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Ethyl acetate fraction (aerial parts)	23.4	Not assessed	Tung et al., 2017
<i>Berberis astnensis</i> C. Presl (Berberidaceae)	Alkaloidal fraction (root)	24.5	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Ochna obtusata</i> DC. (Ochnaceae)	Chloroform fraction (aerial parts)	25.7	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Gossypium herbaceum</i> L. (Malvaceae)	Hydroalcoholic extracts (flowers)	28.1	Not assessed	Zhao et al., 2013
<i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.) Voss. (Amaryllidaceae)	Alkaloid fraction (bulb)	28.1	≤28.7 µg/mL	Cortes et al., 2015
<i>Hemidesmus indicus</i> (L.) R. Br. ex Schult. (Apocynaceae)	Chloroform fraction (aerial part)	28.1	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Buthanolic fraction (stems and leaves)	29.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S. Irwin & Barneby. (Leguminosae)	Methanolic fraction (leaves)	29.2	Not assessed	Jung et al., 2016
<i>Morus alba</i> L. (Moraceae)	Buthanolic fraction (root-bark)	36.6	Not assessed	Kuk et al., 2017
<i>Ficus sur</i> Forsk. (Moraceae)	Ethyl acetate extract (fruit)	31.9	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Rumex hastatus</i> D. Don (Polygonaceae)	Essential Oils (aerial parts)	32.5	Not assessed	Ahmad et al., 2016
<i>Acalypha ahnfolia</i> Klein ex Willd. (Euphorbiaceae)	Chloroform fraction (aerial parts)	32.9	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Olea nana</i> Wall. ex Benth. (Oleaceae)	Methanolic extract (leaves)	33.2	Not assessed	Ovalis et al., 2018
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (Nelumbonaceae)	Buthanolic fraction (leaves)	33.2	Not assessed	Jung et al., 2015
<i>Persicaria hydropiper</i> (L.) Delarbre. (Polygonaceae)**	Hexanic fraction (whole plant)	35.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Berberis astnensis</i> C. Presl (Berberidaceae)	Hexanic fraction (root)	36.5	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Citrum bulbisperrum</i> (Burm. f.) Milne-Redh. & Schwick. (Amaryllidaceae)	Ethyl acetate extract (root)	39.3	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011
<i>Huperzia brevifolia</i> (Grev. & Hook.) Holub (Lycopodiaceae)	Alkaloidal fraction (aerial parts)	39.6	Not assessed	Amijos et al., 2016
<i>Piper capense</i> L. f. (Piperaceae)	Ethyl acetate extract (root)	40.7	Not assessed	Adewusi and Steenkamp, 2011

Plant species (Families)	Type of extract or fraction (plant's part)	IC ₅₀ (µg/mL)	Toxicological assessment [#]	References
<i>Searsia mysorensis</i> (G. Don) Moffett. (Anacardiaceae)	Chloroform fraction (aerial part)	41.3	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Morus alba</i> L. (Moraceae)	Aqueous fraction (root-bark)	43.0	Not assessed	Kuk et al., 2017
<i>Hemidesmus indicus</i> (L.) R. Br. ex Schult. (Apocynaceae)	Methanolic extract (aerial part)	48.6	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Huperzia squarrosa</i> (G. Forst.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Buthanolic fraction (aerial parts)	50.1	Not assessed	Tung et al., 2017
<i>Esenbeckia leocarpa</i> Engl. (Rutaceae)	Ethanollic extract (stems)	50.7	Not assessed	Cardoso-Lopes et al., 2010
<i>Scabiosa arenaria</i> Forssk. (Caprifoliaceae)	Ethyl Acetate fraction (flowers)	51.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Pavetta indica</i> L. (Rubiaceae)	Chloroform fraction (aerial parts)	52.1	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Chloroform fraction (whole plant)	55.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Acalypha ahnfolia</i> Klein ex Willd. (Euphorbiaceae)	Methanolic extrac (aerial parts)	59.2	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Carpobolia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Chloroform fraction (leaves)	60.0	≤ 100 µg/mL	Nwidu et al., 2017
<i>Pavetta indica</i> L. (Rubiaceae)	Buthanolic fraction (aerial parts)	60.1	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (Nelumbonaceae)	Ethylacetate fraction (leaves)	61.1	Not assessed	Jung et al., 2015
<i>Huperzia compacta</i> (Hook.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Alkaloid fraction (aerial parts)	62.4	Not assessed	Amijjos et al., 2016
<i>Acalypha ahnfolia</i> Klein ex Willd. (Euphorbiaceae)	Aqueous fraction (aerial parts)	64.8	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (Nelumbonaceae)	Chloroform fraction (leaves)	67.3	Not assessed	Jung et al., 2015
<i>Buchanania axillaris</i> (Desr.) Ramamoorthy (Anacardiaceae)	Buthanolic fraction (aerial parts)	67.5	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Scabiosa arenaria</i> Forssk. (Caprifoliaceae)	Buthanolic fraction (flowers)	74.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Rumex hastatus</i> D. Don (Polygonaceae)	Chloroform fraction (whole plant)	75.0	Not assessed	Ahmad et al., 2015
<i>Scabiosa arenaria</i> Forssk. (Caprifoliaceae)	Methanolic extract (flowers)	80.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Carpobolia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Ethanollic fraction (leaves)	81.0	≤ 100 µg/mL	Nwidu et al., 2017
<i>Ochna obtusata</i> DC. (Ochnaceae)	Methanolic extrac (aerial parts)	82.2	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Berberis ibanatica</i> Ehrenb. ex C.K. Schneid. (Berberidaceae)	Alkaloidal extract (root)	82.4	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Searsia mysorensis</i> (G. Don) Moffett. (Anacardiaceae)	Buthanolic fraction (aerial part)	83.5	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Searsia mysorensis</i> (G. Don) Moffett. (Anacardiaceae)	Aqueous fraction (aerial part)	93.7	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Berberis ibanatica</i> Ehrenb. ex C.K. Schneid. (Berberidaceae)	Hexanic extract (root)	95.5	Not assessed	Bonesi et al., 2013
<i>Jatropha gossypifolia</i> L. (Euphorbiaceae)	Ethyl acetate fraction (leaves)	95.7	Not assessed	Saleem et al., 2016
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Aqueous fraction (whole plant)	100.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Pavetta indica</i> L. (Rubiaceae)	Aqueous fraction (aerial parts)	100.4	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Stemona sessilifolia</i> (Miq.) Miq. (Stemonaceae)	Alkaloidal extracts (root)	102.6	Not assessed	Lai et al., 2013
<i>Huperzia squarrosa</i> (G. Forst.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Ethanollic extract (aerial parts)	112.2	Not assessed	Tung et al., 2017

Plant species (Families)	Type of extract or fraction (plant's part)	IC ₅₀ (µg/mL)	Toxicological assessment [#]	References
<i>Hemidesmus indicus</i> (L.) R. Br. ex Schult. (Apocynaceae)	Buthanolic fraction (aerial part)	113.5	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Rumex hastatus</i> D. Don (Polygonaceae)	Ethyl acetate fraction (whole plant)	115.0	Not assessed	Ahmad et al., 2015
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (Nelumbonaceae)	Aqueous fraction (leaves)	119.6	Not assessed	Jung et al., 2015
<i>Persicaria hydropiper</i> (L.) Delarbre. (Polygonaceae)***	Essential Oils (leaves)	130.0	Not assessed	Ayaz et al., 2015
<i>Hemidesmus indicus</i> (L.) R. Br. ex Schult. (Apocynaceae)	Aqueous fraction (aerial part)	129.4	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Buchanania axillaris</i> (Desr.) Ramamoorthy (Anacardiaceae)	Aqueous fraction (aerial parts)	136.2	Not assessed	Penumala et al., 2018
<i>Carpolobia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Ethanollic extract (stem-bark)	140.0	≤100 µg/mL	Nwidu et al., 2017
<i>Carpolobia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Hexanic fraction oil (stem)	140.0	≤100 µg/mL	Nwidu et al., 2017
<i>Carpolobia lutea</i> G. Don (Polygalaceae)	Methanolic fraction (stem)	142.0	≤100 µg/mL	Nwidu et al., 2017
<i>Elatostema papillosum</i> Wedd. (Urticaceae)	Methanolic extract (leaves)	165.4	Not assessed	Reza et al., 2018
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Aqueous fraction (flowers)	170	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Ochna obtusata</i> DC. (Ochnaceae)	Buthanolic fraction (aerial parts)	174.4	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Jatropha gossypifolia</i> L. (Euphorbiaceae)	Dichloromethane extract (root)	176.0	Not assessed	Saleem et al., 2016
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (Nelumbonaceae)	Methanolic fraction (leaves)	184.5	Not assessed	Jung et al., 2015
<i>Rumex hastatus</i> D. Don (Polygonaceae)	Methanolic extract (whole plant)	218.0	Not assessed	Ahmad et al., 2015
<i>Jatropha gossypifolia</i> L. (Euphorbiaceae)	Methanolic extract (root)	222.0	Not assessed	Saleem et al., 2016
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Essential Oils (flowers)	225.0	Not assessed	Ayaz et al., 2015
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Methanolic extract (stems and leaves)	230.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Diptaxis simplex</i> Asch. ex Rohits (Brassicaceae)	Aqueous extract (seeds)	233.0	Not assessed	Bahloui et al., 2016
<i>Persicaria minor</i> (Huds.) Optz. (Polygonaceae)****	Aqueous extract (leaves)	234.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Buthanolic fraction (fruits)	240.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Buthanolic fraction (whole plant)	240.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Huperzia squarrosa</i> (G. Forst.) Trevis. (Lycopodiaceae)	Hexanic fraction (aerial parts)	257.0	Not assessed	Tung et al., 2017
<i>Acalypha ahnfolia</i> Klein ex Willd. (Euphorbiaceae)	Buthanolic fraction (aerial parts)	257.5	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Atriplex lachnala</i> L. (Amaranthaceae)	Aqueous fraction (whole plant)	267.0	Not assessed	Kamal et al., 2015
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Methanolic extract (fruits)	270.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Atriplex lachnala</i> L. (Amaranthaceae)	Ethyl acetate fraction (whole plant)	270.0	Not assessed	Kamal et al., 2015
<i>Atriplex lachnala</i> L. (Amaranthaceae)	Methanolic extract (whole plant)	280.0	Not assessed	Kamal et al., 2015
<i>Jatropha gossypifolia</i> L. (Euphorbiaceae)	Dichloromethane extract (leaves)	289.0	Not assessed	Saleem et al., 2016
<i>Justicia adhatoda</i> L. (Acanthaceae)	Methanolic extract (leaves)	294.0	Not assessed	Ali et al., 2013

Plant species (Families)	Type of extract or fraction (plant's part)	IC ₅₀ (µg/mL)	Toxicological assessment [#]	References
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Ethyl acetate fraction (whole plant)	310.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Atriplex lachnata</i> L. (Amaranthaceae)	Hexanic fraction (whole plant)	310.0	Not assessed	Kamal et al., 2015
<i>Diptaxis harr</i> (Forsk.) Bolss. (Brassicaceae)	Aqueous extract (seeds)	313.0	Not assessed	Bahloul et al., 2016
<i>Polygonum hydropiper</i> L. (Polygonaceae)	Methanolic extract (whole plant)	330.0	Not assessed	Ayaz et al., 2014
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Methanolic extract (leaves)	342.8	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Ochna obtusata</i> DC. (Ochnaceae)	Aqueous fraction (aerial parts)	369.1	Not assessed	Penumala et al., 2017
<i>Atriplex lachnata</i> L. (Amaranthaceae)	Chloroform fraction (whole plant)	390.0	Not assessed	Kamal et al., 2015
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Aqueous fraction (stems and leaves)	410.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Diptaxis simplex</i> Asch. ex Rohltz (Brassicaceae)	Aqueous extract (flowers)	420.0	Not assessed	Bahloul et al., 2016
<i>Salsola vermiculata</i> L. (Amaranthaceae)	Methanol extract (roots)	450.0	Not assessed	Rasheed et al., 2013
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Dichloromethane extract (leaves)	478.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Scabiosa arenaria</i> Forsk. (Caprifoliaceae)	Ethyl acetate fraction (fruits)	500.0	Not assessed	Besbes Hilla et al., 2013
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Aqueous extract (stem)	581.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Salvia lentifolia</i> Benth. (Lamiaceae)	Hexane fraction (leaves)	590.0	Not assessed	Lotzto et al., 2010
<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC. (Bignoniaceae)	Aqueous extract (leaves)	670.2	Not assessed	Ferreres et al., 2013
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Dichloromethane extract (leaves)	770.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Diptaxis harr</i> (Forsk.) Bolss. (Brassicaceae)	Aqueous extract (flowers)	760.0	Not assessed	Bahloul et al., 2016
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Methanolic extract (stem)	809.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Salvia lentifolia</i> Benth. (Lamiaceae)	Dichloromethane fraction (leaves)	840.0	Not assessed	Lotzto et al., 2010
<i>Salvia lentifolia</i> Benth. (Lamiaceae)	Ethyl acetate fraction (leaves)	870.0	Not assessed	Lotzto et al., 2010
<i>Rhizophora lamarckii</i> Montrouz. (Rhizophoraceae)	Methanol extract (leaves)	910.0	Not assessed	Suganthy et al., 2009
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Ethanol extract (leaves)	910.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Polygonum minus</i> Huds. (Polygonaceae)	Ethanol extract (stem)	930.0	Not assessed	Ahmad et al., 2014
<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC. (Bignoniaceae)	Hydromethanolic extracts (leaves)	1000.4	Not assessed	Ferreres et al., 2013

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Χημική δομή της τακρίνης.....	9
Εικόνα 2: Χημική δομή της δισ-(6-χλωρο)-τακρίνης συνδεδεμένης με επτυλένιο	10
Εικόνα 3: Χημική δομή του πιο δραστικού υβριδίου τακρίνης-βενζοφουρανίου	10
Εικόνα 4: Χημική δομή της δονεπεζίλης	12
Εικόνα 5: Χημική δομή της ένωσης AP2238	13
Εικόνα 6: Γενική χημική δομή των υβριδικών ενώσεων που φέρουν ένα φαρμακοφορικό θραύσμα δονεπεζίλης και AP2238.....	14
Εικόνα 7: Χημική δομή της ένωσης AVCRI104P4.....	14
Εικόνα 8: Γενική χημική δομή των υβριδικών N-βενζυλ-πιπεριδίνη-αρυλ-ακυλυδραζονών .	14
Εικόνα 9: Χημική δομή της ριβασιγμίνης	16
Εικόνα 10: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης της σειράς 1,2,3,4 τετραϋδροκινολιν-6(ή -7) -υλιο καρβαμικά	17
Εικόνα 11: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης της σειράς βιο-οξειδώσιμων προ-φαρμάκων	17
Εικόνα 12: Χημική δομή της γκαλανταμίνης.....	21
Εικόνα 13: Χημική δομή του Memogain	22
Εικόνα 14: Χημική δομή της ναρβεδίνης	22
Εικόνα 15: Χημική δομή της πιο δραστικής γκαλανταμίνης-ινδόλης.....	22
Εικόνα 16: Χημική δομή της γαλανθαμίνης	32
Εικόνα 17: Χημική δομή της αγγουσιδίνης	33
Εικόνα 18: Χημική δομή των αλκαλοειδών τύπου λυκορίνης	33
Εικόνα 19: Χημική δομή της N-αλλυλ-νορ-γαλανθαμίνης.....	34
Εικόνα 20: Χημική δομή της N-(14-μεθυλαλλυλ)-νορ-γαλανθαμίνης	34
Εικόνα 21: Χημική δομή της σαγκουινίνης	34
Εικόνα 22: Χημική δομή της βερβερίνης	35
Εικόνα 23: Χημική δομή της διϋδροβερβερίνης	35
Εικόνα 24: Χημική δομή της κοπτισίνης	35
Εικόνα 25: Χημική δομή της λυκοπαρίνης A.....	36
Εικόνα 26: Χημική δομή της λυκοπαρίνης B.....	36
Εικόνα 27: Χημική δομή της λυκοπαρίνηςC.....	36
Εικόνα 28: Χημική δομή της κοροναριδίνης	37
Εικόνα 29: Χημική δομή της βοακανγκίνης	37
Εικόνα 30: Χημική δομή της 6'-υδροξυ-7'-μεθοξυμπεργαμοστίνης.....	38
Εικόνα 31: Χημική δομή της 6',7'-διυδροξυμπεργαμοστίνης.....	38
Εικόνα 32: Χημική δομή της ιμπερατορίνης	38
Εικόνα 33: Χημική δομή της ηρακλενόλης.....	39
Εικόνα 34: Χημική δομή της ισοϊμπερατορίνης.....	39
Εικόνα 35: Χημική δομή της βυακαγγελικίνης.....	39
Εικόνα 36: Χημική δομή της μεσουαγενίνης B	40
Εικόνα 37: Χημική δομή της 5,7-διυδροξυ-8-(3-μεθυλ-βουτανουόλ)-6-[3,7-διμεθυλοοκτα 2,6-διενυλ]-4-φαινυλ-2H-χρωμεν-2-όνης	40
Εικόνα 38: Χημική δομή του (-)-αλπιννοειδούς B.....	41
Εικόνα 39: Χημική δομή της 1,7-διφαινυλ-4-επτεν-3-όνης	41
Εικόνα 40: Χημική δομή της dihydroyashsbushiketol.....	41
Εικόνα 41: Χημική δομή των δακτυλίων του φλαβονοειδούς.....	41
Εικόνα 42: Χημική δομή των δακτυλίων της φλαβανόνης	42

Εικόνα 43: Χημική δομή των δακτυλίων της φλαβονόλης	42
Εικόνα 44: Χημική δομή των δακτυλίων της ισοφλαβόνης	42
Εικόνα 45: Χημική δομή της διπλακόνης	43
Εικόνα 46: Χημική δομή της εριοδικτούλης.....	43
Εικόνα 47: Χημική δομή της μεθυλοδιπλακόνης.....	43
Εικόνα 48: Χημική δομή της μεθυλοδιπλακόνης.....	44
Εικόνα 49: Χημική δομή της γαλαγγίνης.....	44
Εικόνα 50: Χημική δομή της καεμπφερόλης.....	44
Εικόνα 51: Χημική δομή της ρουτίνης.....	45
Εικόνα 52: Χημική δομή της 1-[(4-υδροξυφαινυλ)μεθυλ]-4-μεθοξυ-2,7-φαινανθρενοδιόλης	45
Εικόνα 53: Χημική δομή της 1-(4-υδροξυβενζυλ)-4,7-διμεθοξυφαινανθρενο-2,8-διόλης	46
Εικόνα 54: Χημική δομή της διυδροτανσινόνης I	47
Εικόνα 55: Χημική δομή της κρυπτοτανσινόνης	47
Εικόνα 56: Χημική δομή της τανσινόνης I.....	47
Εικόνα 57: Χημική δομή της τανσινόνης IIA.....	47
Εικόνα 58: Χημική δομή της μπελλιδιφολίνης.....	48
Εικόνα 59: Χημική δομή της μπελλιδίνης	48
Εικόνα 60: Χημική δομή της τριπτεξανθοζίτης C	49
Εικόνα 61: Σχηματική αναπαράσταση των ενεργών θέσεων σύνδεσης της ακετυλοχολινεστεράσης για τις κύριες κατηγορίες φυσικών αναστολέων ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is). Ειδικότερα, εμφανίζεται ο θύλακας φαραγγιού που αποτελείται από τις ακόλουθες θέσεις πρόσδεσης: εστερική θέση, ανιονική θέση, περιφερειακή ανιονική θέση (PAS) και υδρόφοβος θύλακας (HP). Οι έγχρωμοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν τις κύριες θέσεις δέσμωσης για τις ενώσεις που σχετίζονται με τις υποδεικνυόμενες κατηγορίες.	50
Εικόνα 62: Φυσικοί αναστολείς ακετυλοχολινεστεράσης (AChE-Is) που δημοσιεύτηκαν στη μελέτη Pubmed από το 2007 έως το 2018 και οι οποίοι ταξινομήθηκαν σε φυσικές ενώσεις AChE-Is: υψηλής δραστηριότητας (πράσινο φόντο), μέτριας δραστηριότητας (πορτοκαλί φόντο) και χαμηλής δραστηριότητας (κόκκινο φόντο). Το σύμβολο του διαμαντιού αντιπροσωπεύει την τιμή IC ₅₀ για κάθε ένωση (στα αριστερά) όπως αυτή περιγράφεται στην αντίστοιχη μελέτη (στα δεξιά).	51
Εικόνα 63: Χημική δομή του πτεροστιλβενίου	60
Εικόνα 64: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων πτεροστιλβενικής β-αμινο αλκοόλης	60
Εικόνα 65: Χημική δομή της κινόνης.....	61
Εικόνα 66: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων αζανθρακινόνης	61
Εικόνα 67: Χημική δομή του φθαλιμιδίου	62
Εικόνα 68: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων σαλικυλαμιδίου	62
Εικόνα 69: Χημική δομή του βανιλικού οξέος	63
Εικόνα 70: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων 4-N-φαινυλαμινοκινολίνης	63
Εικόνα 71: Χημική δομή της πιο δραστικής ένωσης των παραγώγων πολυυποκατεστημένης πυρρόλης.....	64
Εικόνα 72: Χημική δομή μιας από τις πιο δραστικές ενώσεις των παραγώγων πολυυποκατεστημένης πυρρόλης	64