



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE



Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

Progettazione, sintesi e valutazione di nuovi derivati dell'acido ferulico come multi-target per il trattamento della patologia Alzheimer"

Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Ferulic Acid Derivatives as Multi-Target-Directed Ligands for the Treatment of Alzheimer's Disease

Tesi di Laurea di:
di:
Flavia Bucciarelli

Docente Referente
Chiar.mo Prof.
Roberta Galeazzi

Sessione Luglio 2022
Anno Accademico 2021/2022



La demenza di Alzheimer (AD) è un disordine neurodegenerativo che si manifesta con un progressivo decadimento cognitivo associato ad una perdita dell'autonomia funzionale

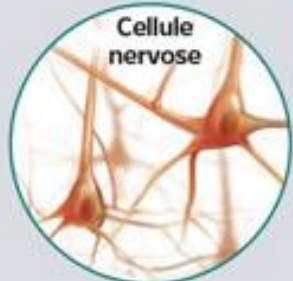
Descritta per la prima volta da Alois Alzheimer nel 1907

Così agisce la malattia

UNA SEZIONE DEL CERVELLO IN UN SOGGETTO SANO:
LA MASSA È REGOLARE

Corteccia cerebrale
(aree coinvolte nel pensiero, la pianificazione e il ricordo)

Ippocampo
(area della corteccia deputata alla formazione di nuovi ricordi)

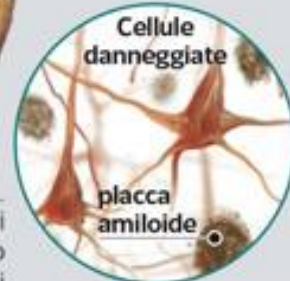


Ventricoli
(spazi riempiti di fluido cerebrospinale)

LA STESSA SEZIONE IN UN SOGGETTO MALATO:
LA MASSA È RIDOTTA

La corteccia si "accartocchia"

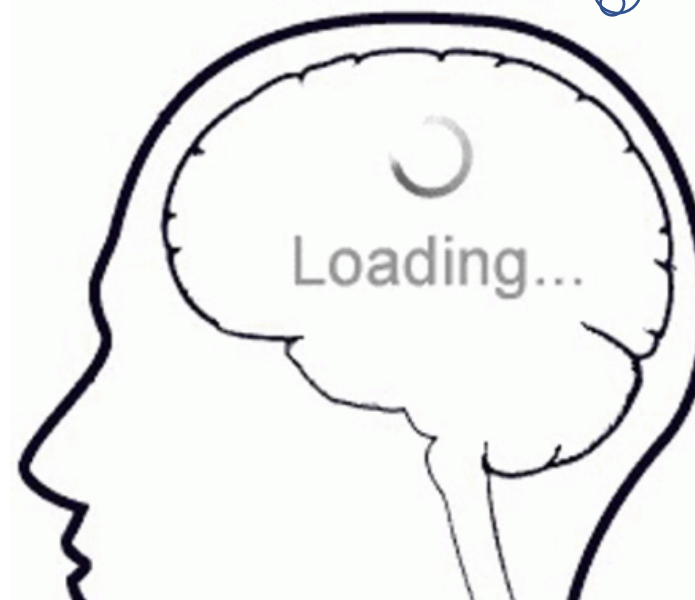
Nell'ippocampo la riduzione è particolarmente grave



I ventricoli diventano più ampi

Fonte: Alzheimer's Association

Corriere della Sera



Ma da cosa è causato l'Alzheimer?

1° Ipotesi colinergica

La teoria dell'AD colinergica afferma che la diminuzione di acetilcolina porta al deficit corticale della neurotrasmissione e contribuisce al caratteristico deterioramento cognitivo del paziente.

L'acetilcolina (ACh) e
butirilcolina (BCh) sono
neurotrasmettitori
coinvolti
nell'apprendimento e nella
memoria, assicurano una
neurotrasmissione rapida.



Ma da cosa è causato l'Alzheimer?

2° Ipotesi stress ossidativo



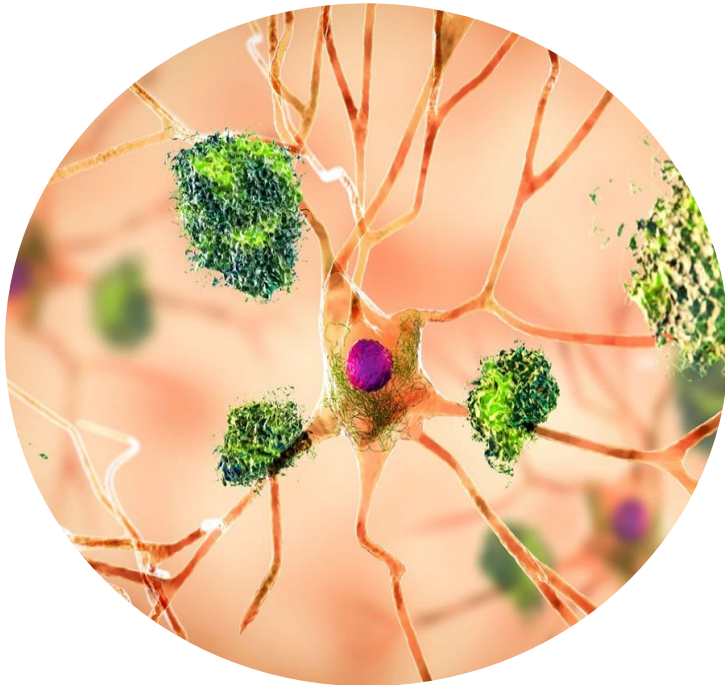
Perdita di omeostasi causata dalla sovrapproduzione di ossidanti rispetto alla produzione di antiossidanti.

Radicale libero è una qualsiasi atomo o molecola, che, avendo elettroni spaiati nei suoi orbitali, tende ad accoppiarli, nelle reazioni con altre specie, cedendone o acquistandone per eliminare la situazione di disaccoppiamento.

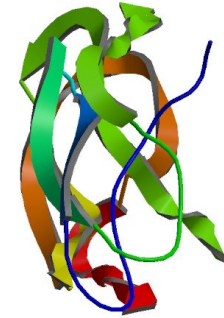


Ma da cosa è causato l'Alzheimer?

3° Ipotesi amiloide



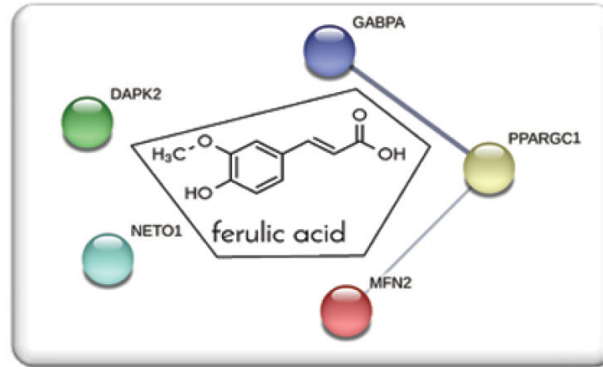
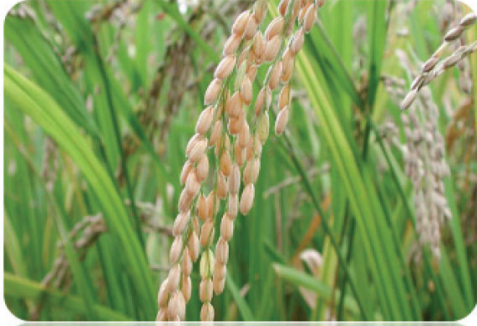
Le placche amiloidi ostacolano il trafficking cellulare, portando ad errori di comunicazione tra i neuroni e con l'evolvere della malattia, conducendo a una grave perdita neuronale



Amiloidi derivano dal processo di scissione proteolitica della proteina APP avviene in maniera difettosa causando ammassi di amiloidi

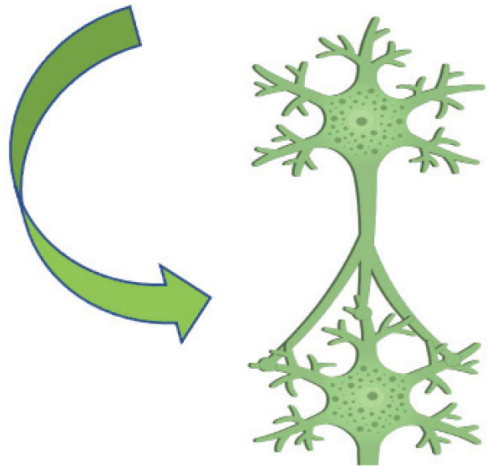


L'acido ferulico (FA, 4-idrossi-3-metossicinnamico) è un acido costituente delle piante, isolato da *Ferula foetida*



Ferulic acid and its derivatives

Alterations in gene expression profiling



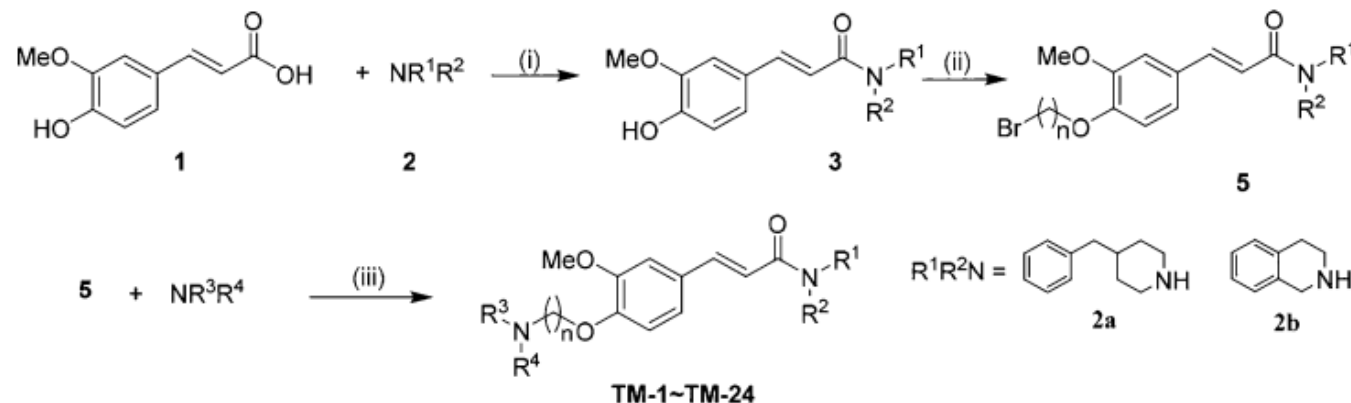
Biological effects on neurons

- Preventing A β -fibril formation
- Acting as an anti-inflammatory agent
- Modulating free radical generation
- Inhibiting acetylcholinesterase enzyme activity
- Chelating metal ions



Dall'acido ferulico, attraverso una serie di reazioni, ottengo i composti target Tm1-Tm-24

Scheme 1. Synthesis of Ferulic Acid Derivatives TM-1–TM-24⁴⁴



TM-1		4	
TM-2		4	
TM-3		3	
TM-4		3	
TM-5		3	
TM-6		3	
TM-7		4	
TM-8		4	
TM-9		4	
TM-10		4	

Tutti i composti bersaglio TM-1-TM 24 sono inibitori di BuChE.
In particolare, il composto **TM-10** ha mostrato la migliore attività inibitoria di BuChE, con IC₅₀ = 8,9 nM



Dove lega il Tm-10 con BuChE? Ecco cosa riportano i dati del docking molecolare

ACS Chemical Neuroscience

Research Article

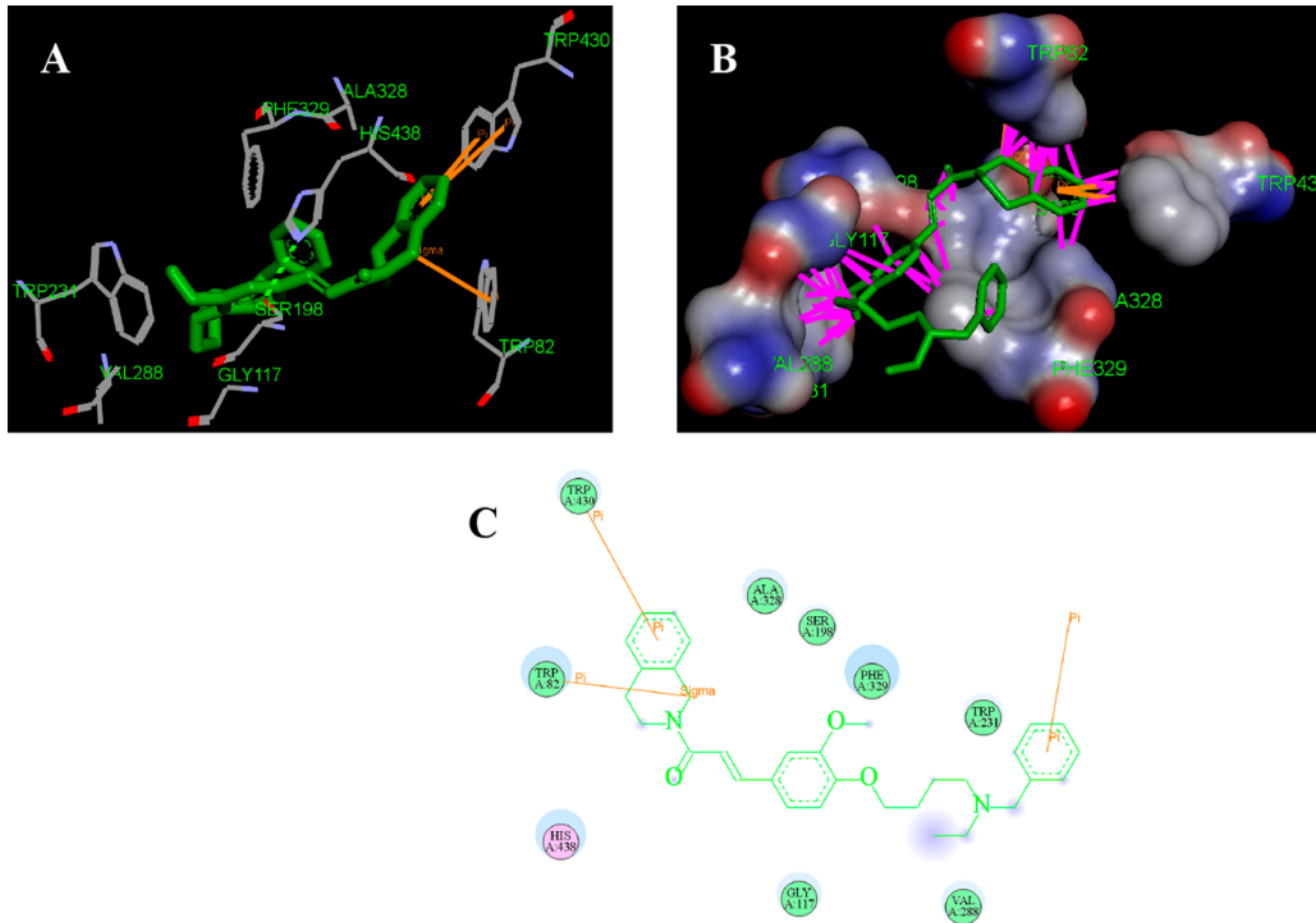


Figure 2. (A) Representation of compound **TM-10** (green stick) interacting with residues in the binding site of *huBuChE* (PDB code: 4TPK), highlighting the protein residues that participate in the main interactions with the inhibitor. (B) 3D docking model of **TM-10** (green stick) with *huBuChE*. (C) 2D schematic diagram of docking model of **TM-10** with *huBuChE*.

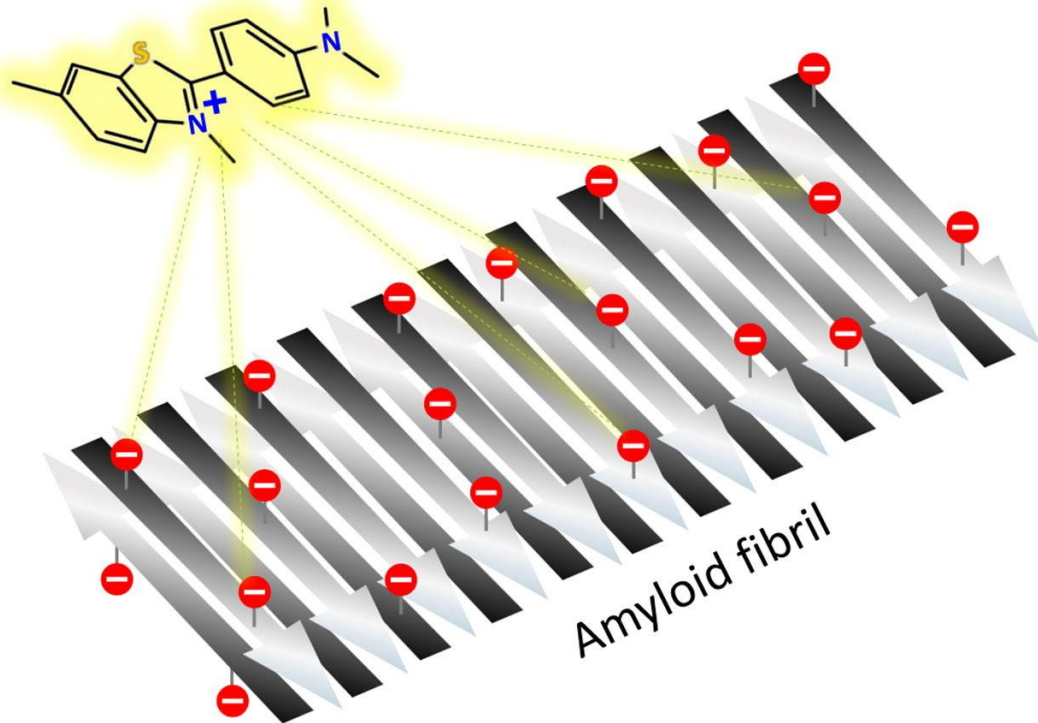
Docking:
permette lo studio
di interazione tra
due molecole



Effetti Tm-10

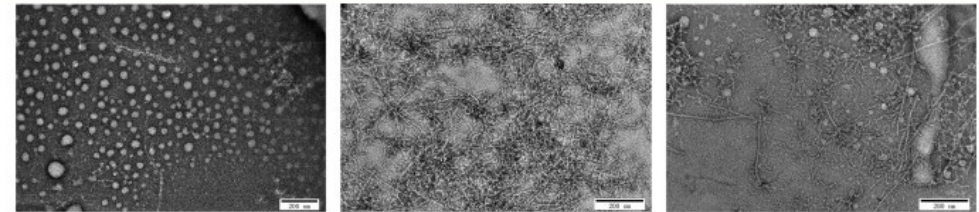
Utilizzo metodo della fluorescenza della tioflavina T(ThT)

Thioflavin T



ACS Chemical Neuroscience

Research Article



$A\beta$ (0h)

$A\beta$ alone (24h)

$A\beta$ + **TM-10** (24h)

Figure 4. TEM images of $A\beta_{1-42}$ aggregation in the presence and absence of 25 μ M compound **TM-10** after 24 h: (left) fresh $A\beta_{1-42}$ (25 μ M), 0 h; (middle) $A\beta_{1-42}$ (25 μ M) alone, incubated at 37 °C for 24 h; (right) $A\beta_{1-42}$ (25 μ M) and **TM-10**, incubated at 37 °C for 24 h.

Il **TM-10** potrebbe inibire la formazione di fibrille di $A\beta_{1-42}$.

Esperimenti

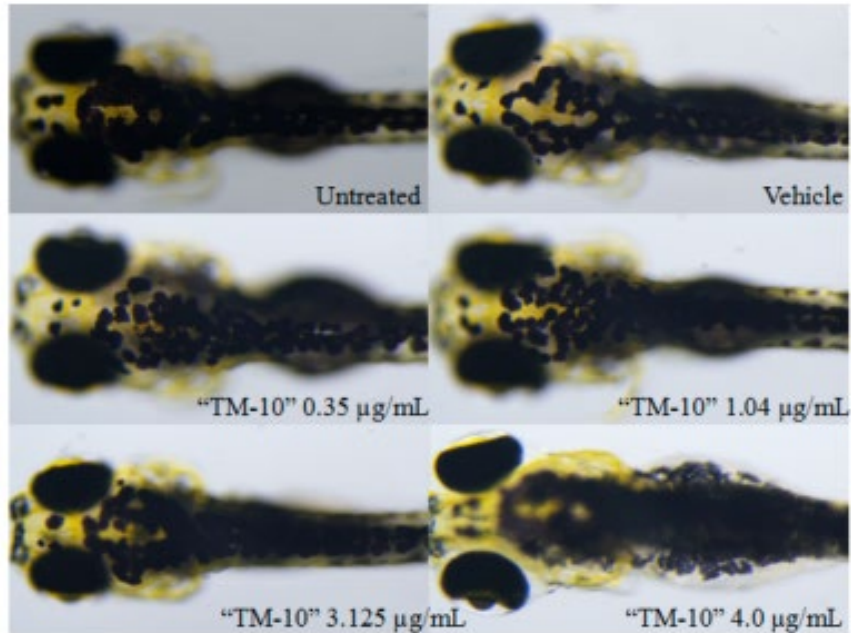
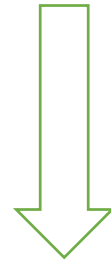


Figure 11. Representative phenotypes of zebrafish acute toxicity, including kidney toxicity.

È stata testata la tossicità acuta in pesci zebra di tipo selvatico attraverso l'introduzione di sei concentrazioni (3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µg/mL)



La massima concentrazione non letale (MNLC) e la concentrazione letale al 10% (LC10) di TM-10 erano rispettivamente 3,125 e 4,0 µg/mL.



Esperimenti

Esperimenti per studiare se il TM-10 potesse migliorare la discinesia indotta da A1C13

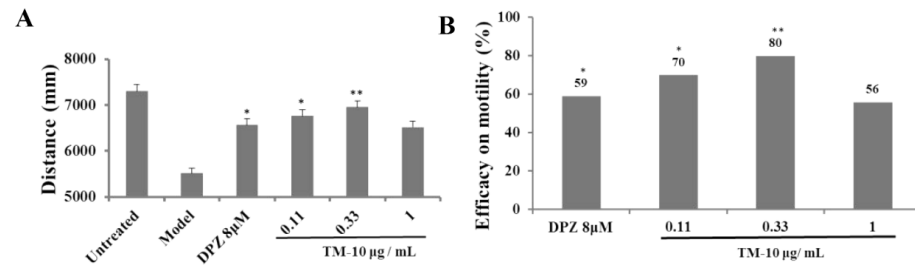


Figure 12. Effect of TM-10 on motility in AD zebrafish: (A) distance and (B) efficacy. Compared with model, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

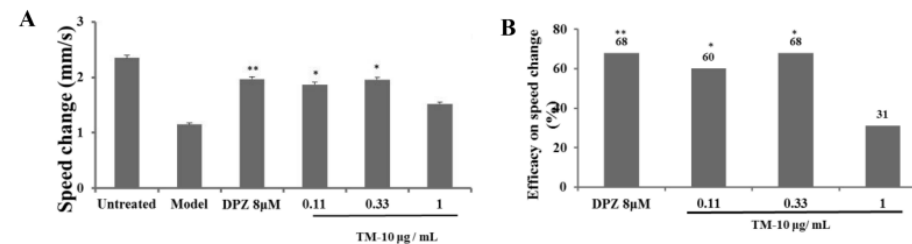


Figure 13. Effect of TM-10 on speed change in AD zebrafish. Compared with model, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.



Esperimenti

Efficacia di TM-10 sulla lesione vascolare indotta da A β 1-40 in Zebrafish.

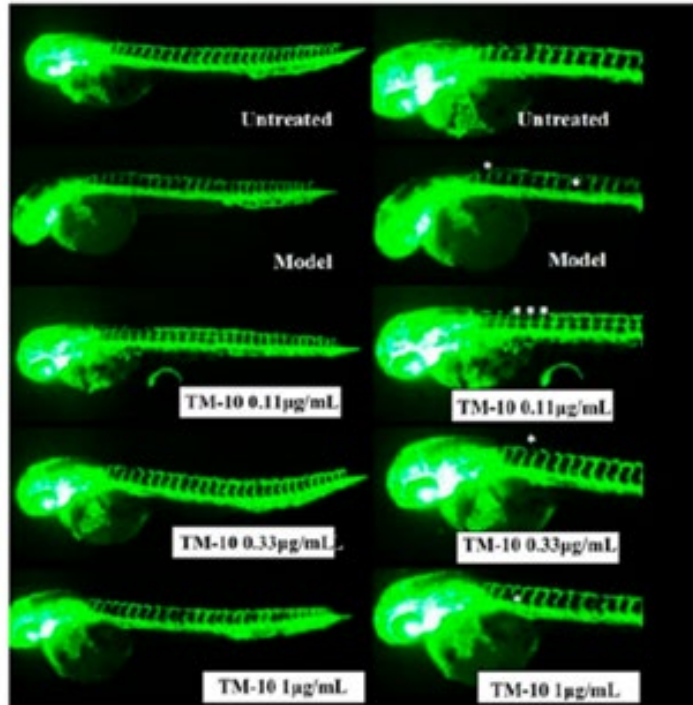


Figure 15. Phenotype of TM-10 on vascular injury.

TM-10 a media dose (0.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 67%) e il gruppo TM-10 ad alta dose (1,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 67%) hanno mostrato un tasso di lesioni vascolari leggermente inferiore a quello del gruppo modello (73%) e possedevano un'efficacia del 9%



Conclusioni

Lo scopo della presente rassegna è illustrare il potenziale dell'AF come agente terapeutico contro la neurodegenerazione, in particolare contro i danni causati dall'AD. FA ha dato risultati positivi nell'inibizione dell'aggregazione neurotossica di $A\beta$ *in vitro* e *in vivo* in modelli animali. I risultati ottenuti incoraggiano l'uso dell'AF come farmaco contro le malattie neurodegenerative, ma molte domande devono ancora essere risolte prima di considerare l'AF un agente terapeutico sicuro da somministrare ai pazienti. Al momento, l'uso terapeutico dell'AF resta ancora da esplorare.

Bibliografia

- Enciclopedia della Scienza e della Tecnica (2008) di Mauro Capocci
- Acido ferulico: una speranza per la terapia del morbo di Alzheimer dalle piante 15 luglio 2015 di antonella Sgarbossa, Daniela Giacomazza e Marta di Carlo
- Molecola del Mese di David S. Goodsel
- Dizionario di Medicina (2010)
- *ACS Chemical Neuroscience* 2019 10 (2), 1008-1024 Design, Synthesis, and Evaluation of Novel Ferulic Acid Derivatives as Multi-Target-Directed Ligands for the Treatment of Alzheimer's Disease. Zhipei Sang, Keren Wang, Xue Han, Mengxiao Cao, Zhenghuai Tan, and Wenmin Liu
- European Journal of Medicinal Chemistry: A review on ferulic acid and analogs based scaffolds for the management of Alzheimer's disease Yash Pal Singh, Himanshu Rai, Gourav Singh, Gireesh Kumar Singh, Sunil Mishra, Saroj Kumar, S. Srikrishna, Gyan Modi