Formalno podaljšanje strukture DDNP z uvedbo feniletinilidenskih in fenildiazenilidenskih distančnikov

Luka Rejc*,[1], Ana Skvarča[1]

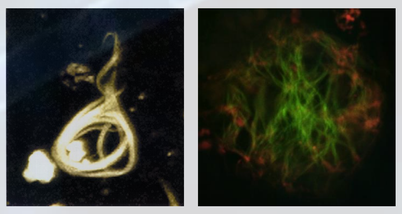
[1] Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani, Večna pot 113, *SI*-1000 Ljubljana, Slovenija

Pregled ozadja raziskave

Alzheimerjeva bolezen (AB)

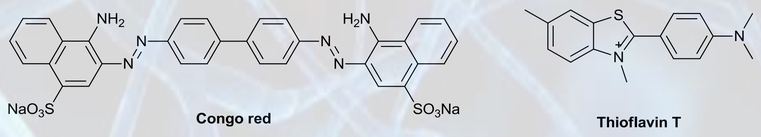
- Najbolj pogosta oblika nevrodegenerativnih bolezni (NB);
- prizadete kognitivne funkcije;
- pojav konformacijsko spremenjenih proteinskih agregatov v možganih 20-40 let pred prvimi simptomi AB;
- zgodnja zaznava proteinskih agregatov izboljša možnosti za uspešno preprečevanje nadaljnjega razvoja bolezni.

Slika 1. Primer možganov bolnika z AB (zgoraj) in zdravih možganov (spodaj)

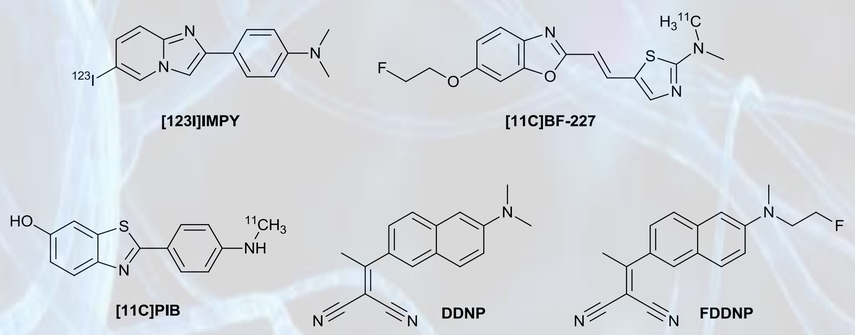


Slika 2. Fibrili hiperfosforiliranega tau proteina (HTP) (levo) in plaki amiloida beta (Aβ) (desno)

Molekulske sonde za detekcijo proteinskih agregatov



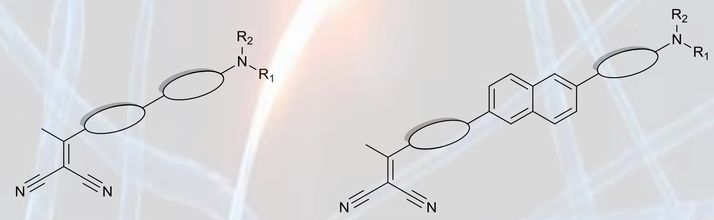
Slika 3. Sondi za *in vitro* detekcijo agregatov Aβ (Kongo rdeče) in HTP (Tioflavin T) [I]



Slika 4. Sonde za *in vivo* diagnostiko nevrodegenerativnih bolezni [I, III]

Načrtovanje in sinteza novih sond

Načrtovanje novih podaljšanih analogov DDNP in FDDNP

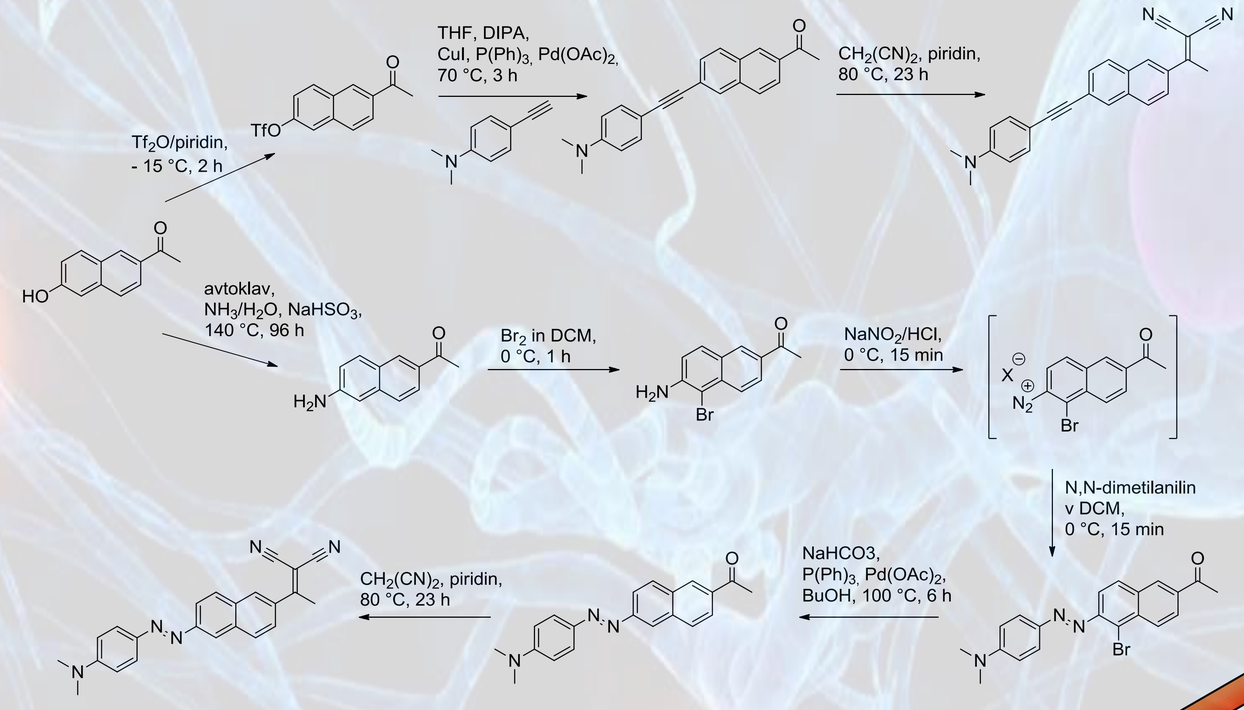


Slika 5. Modelni strukturi podaljšanih analogov

- Podaljšanje razdalje med elektron donorsko (ED) in elektron akceptorsko (EA) skupino;
- ohranitev konjugacije in koplanarnosti skupin za optimalne optične in vezavne lastnosti;
- možnost uvedbe radioaktivnega fluora 18 (^{18}F) za možnost *in vitro* in *in vivo* raziskav.

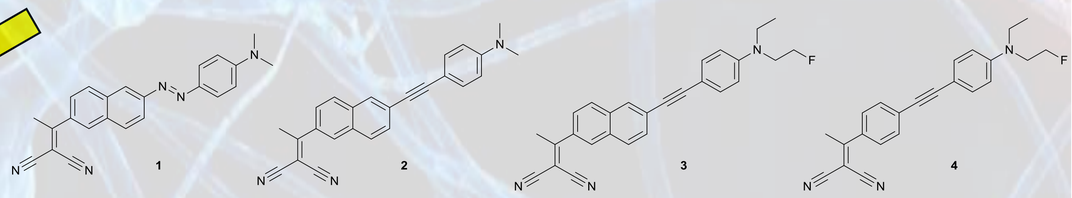
Sinteza podaljšanih analogov FDDNP in DDNP

- Aktivacija naftalenskega obroča;
- tvorba diazonijeve soli;
- uvedba acetilena s pomočjo reakcij pripajanja po Sonogashiri s paladijevim katalizatorjem;
- Knoevenaglova kondenzacija diciano vinilne skupine.



Shema 1. Primer sinteze podaljšanih analogov FDDNP in DDNP [II]

Sintetizirani analogi FDDNP in DDNP



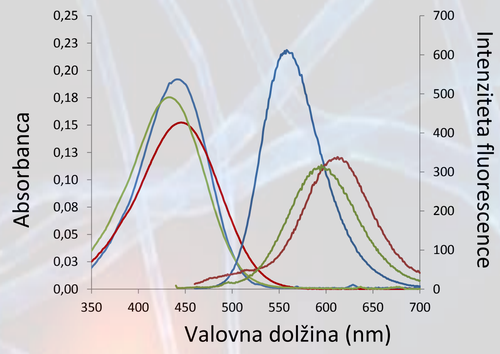
Slika 6. Strukture sintetiziranih podaljšanih analogov DDNP (1, 2) in FDDNP (3, 4)

Določevanje optičnih lastnosti

Optične lastnosti podaljšanih analogov FDDNP in DDNP

	λ_{ab}			λ_{em}		
	DCM	DMF	MeOH	DCM	DMF	MeOH
DDNP	438	-	426	560	-	610
1	470	435	455	-	-	-
2	441	446	432	558	612	595
3	407	-	393	728	-	-
4	411	-	397	654	-	-

Tabela 1: Primeri podaljšanih analogov DDNP/FDDNP in primerjava optičnih lastnosti

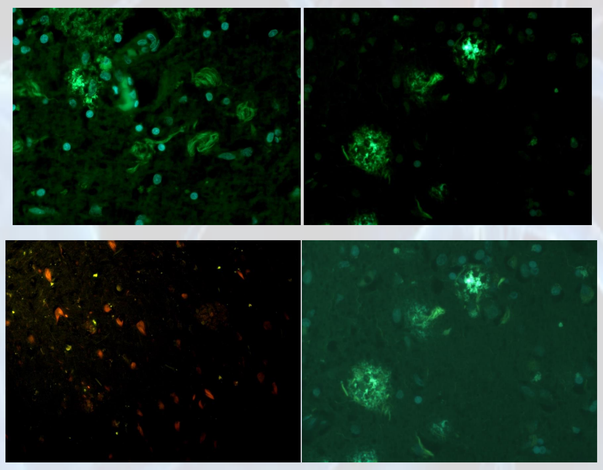


Graf 1. Absorbcijski in fluorescenčni spekter spojine **2** v DCM (modra), DMF (rdeča) in MeOH (zelena) [II]

Določevanje vezavnih lastnosti

Fluorescenčna mikroskopija

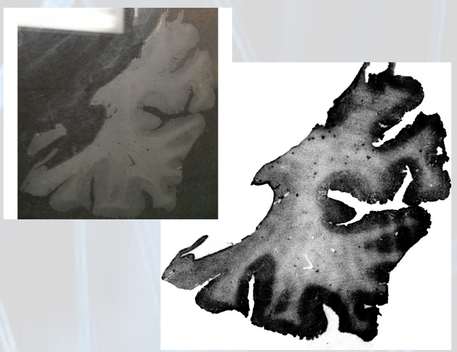
- Uporaba fluorescenčnih molekul;
- zaželena uporaba molekul z maksimumom absorpcije nad 400 nm;
- pregled možganskega tkiva s fluorescenčnim mikroskopom.



Slika 7. Rezultati označevanja s fluorescenčno mikroskopijo s **3** (zgoraj) in **4** (spodaj)

Avtoradiografija

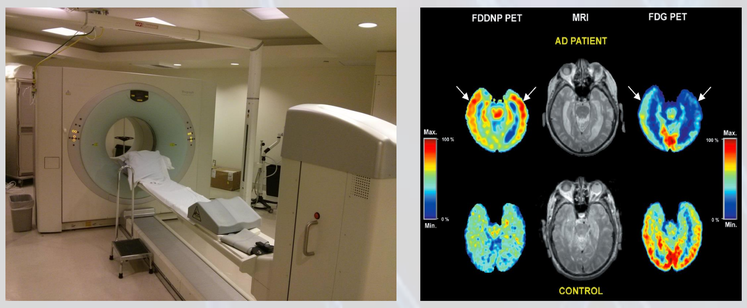
- Uporaba radioaktivno označenih molekul;
- zaznava vezave na avtoradiografski plošči (vsebuje NaI) s pomočjo čitalca.



Slika 8. Rezultati označevanja z avtoradiografijo s **4**

Uporaba v pozitronski emisijski tomografiji (PET)

- Moderna neinvazivna *in vivo* tehnika za diagnostiko bolezni;
- uporaba molekul označenih z emitorji pozitrona, ki preidejo iz krvi v možgane in se specifično vežejo na proteinske agregate.



Slika 9. PET kamera (levo) in PET slikanje z FDDNP (desno: spodaj zdravi možgani, zgoraj možgani AD)

I. JaeHyung, K.; Youngjoo, B., Current status of PET-imaging probes of β-amyloid plaques. *Archives of Pharmal Research.* **2013,** *36,* 1178–1184.
II. Rejc, L.; Fabris, J.; Adrović, A., Petrič, A.; Kasunič, M., Elongation of the molecular probe DDNP with phenylethynylidene or phenyldiazenylidene spacers. *Tetrahedron letters.* **2014,** *55,* 1218–1221.
III. Petric, A.; S. A. Johnson, S. A.; Pham, H. V.; Li, Y.; Ceh, S.; Golobic, A.; Agdeppa, E. D.; Timbol, G.; Liu, J.; Keum, G.; Satyamurthy, N.; Kepe, V.; Houk, K. N.; Barrio J. R. Dicyanovinylnaphthalenes for neuroimaging of amyloids and relationships of electronic structures and geometries to binding affinities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, *109 (41)*, 16492–16497.