

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

# Zvažované farmakoterapeutické přístupy léčby Alzheimerovy choroby

## Intended pharmacotherapeutical approaches of Alzheimer's disease therapy

Jan Korábečný • Eva Hrubá • Ondřej Soukup • Filip Zemek • Kamil Musílek • Eugenie Nepovímová • Katarína Špilovská • Veronika Opletalová • Kamil Kuča

Došlo 13. října 2011 / Přijato 15. prosince 2011

### Souhrn

Alzheimerova choroba je progresivní neurologické onemocnění, které se projevuje ztrátou paměti, změnou osobnosti a kognitivní dysfunkcí. Současná farmakoterapie Alzheimerovy choroby je prezentována skupinami dvou typů látek, početnější z nich představují inhibitory acetylcholinestery, druhou zastupuje memantin jako antagonist působící na N-methyl-D-aspartátových receptorech. Ačkoliv etiologie Alzheimerovy choroby není dosud zcela plně známá, pro její terapii je zvažováno několik skupin látek. Cílem předkládané práce je poskytnout přehled látek zamýšlených pro léčbu Alzheimerovy choroby, jejich mechanismus účinku, chemickou strukturu a je-li znám, tak i stav klinických studií, ve kterých se právě nachází.

**Klíčová slova:** Alzheimerova choroba • acetylcholinesterasa • terapeutické přístupy • beta amyloid • tau protein

### Summary

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disorder mainly manifested by memory loss, personality changes, and cognitive dysfunction. Despite the fact that tireless research is being conducted, up-to-date pharmacotherapy of AD is presented only by two groups diverging in the mechanism of action. The larger one

uses acetylcholinesterase inhibitors, and the second group is represented by the N-methyl-D-aspartate antagonist memantine. Even though the etiology of Alzheimer's disease is unknown, several different therapeutic approaches are being investigated. The aim of this paper is to provide an overview of the present state of intended therapeutics for AD, describing their mechanism of action if known, displaying chemical structures, and the state of clinical trials if any.

**Keywords:** Alzheimer's disease • acetylcholinesterase • therapeutic approaches • beta amyloid • tau protein

### Úvod

Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease – AD) je progresivní, neurologické onemocnění, které se manifestuje ztrátou paměti, změnou charakterových vlastností jedince, celkovou kognitivní dysfunkcí a dalšími funkčními změnami. AD je nejběžnější formou stařecké demence. Její podstata, symptomy, rizikové faktory a možnosti terapie však zaznamenaly velký rozvoj až v posledních 30 letech. Ačkoliv od této doby bylo objeveno mnoho nového v souvislosti s AD, příčiny vzniku AD zůstávají stále neobjasněny<sup>1–3</sup>.

S progresí nemoci následují další příznaky, mezi něž patří ztráta paměti narušující běžný denní režim postiženého, problémy v plánování a organizaci osobního života, obtíže při řešení problémů, běžných úkonů v domácnosti, v práci a volném čase, zmatenost a dezorientace při určování času nebo místa, na kterém se osoba nachází, vizuální a prostorová dezorientace, je narušená mluva i psaný projev, chybí schopnost vlastního úsudku, jsou pozorovány časté změny v náladě i chování a v neposlední řadě se jedná o stažení postiženého ze společenského života<sup>4</sup>.

Pacienti s AD prochází třemi stadii vývoje onemocnění, přičemž se jednotlivé fáze mohou překrývat. První stadium se projevuje pouze mírnými příznaky (mild stage of AD), kdy dochází ke zhoršení paměti, ztrátě iniciativy, průbojnosti, prostorové a přechodně časové dezorientaci postiženého. Druhé, středně těžké stadium (moderate stage of AD) je prezentováno výraznějšími příznaky a problémy, které již nemocnému znemožňují vykonávat řadu běžných každodenních aktivit. Dochází

J. Korábečný • E. Nepovímová • V. Opletalová  
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,  
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

J. Korábečný • O. Soukup • F. Zemek • K. Špilovská  
Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Katedra  
toxikologie, Hradec Králové

E. Hrubá  
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,  
Katedra farmakologie a toxikologie

K. Musílek  
Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, Katedra chemie

doc. Ing. Kamil Kuča, Ph.D. (✉)  
Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Centrum  
pokročilých studií a Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, Česká republika  
e-mail: kucakam@pmfhk.cz

k výpadkům paměti a halucinacím. Ve třetím stadiu (severe stage of AD) je pacient zcela závislý na svém okolí, má obtíže s chůzí, výrazné poruchy chování a je neschopen poznávat své okolí, přátele i rodinné příslušníky. Neschopnost jakéhokoliv pohybu a upoutání na lůžko zpravidla vyústí v pneumonii, která se ve většině případů AD stává smrtelnou<sup>5)</sup>.

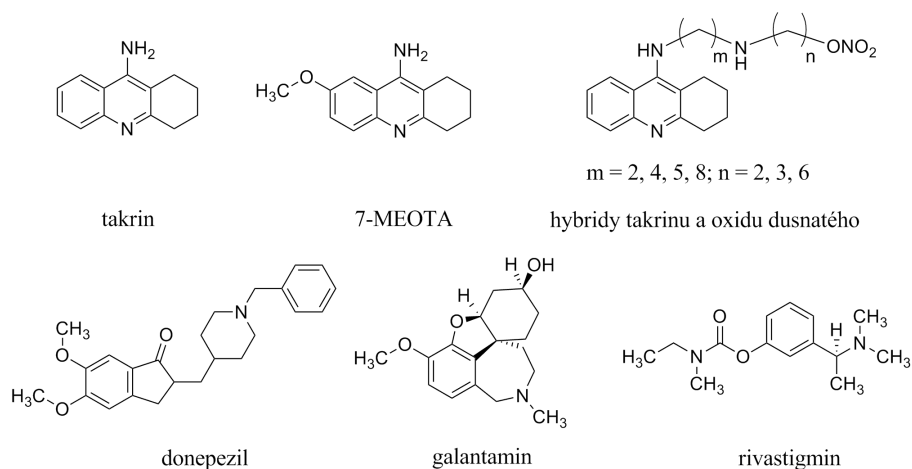
Přibližný počet pacientů s AD je 5,4 milionu obyvatel v USA. V roce 2050 je odhadováno, že incidence AD v USA vzroste na jeden milion obyvatel ročně s celkovým počtem 11–16 milionů zasažených. Odhaduje se, že v současné době trpí tímto onemocněním 36 milionů lidí na celém světě a že počet nemocných v roce 2050 přesáhne 100 milionů. V České republice je postiženo Alzheimerovou chorobou přibližně 50–70 tisíc osob<sup>1, 6)</sup>.

Příčiny AD doposud nejsou zcela známy. Většina vědců se domnívá, že AD stejně jako další chronické nemoci vzniká kombinací několika rizikových faktorů, za hlavní z nich je považován věk. Mezi další rizikové faktory přispívající k rozvoji AD patří dědičnost a genetická podmíněnost (přenos genu *ApoE ε4*), kardiovaskulární onemocnění související s nedostatečným prokrvením mozku, vysoký cholesterol, diabetes mellitus, hypertenze, fyzická i duševní inaktivita, kouření, obezita a častá traumata v oblasti hlavy (boxeři, hokejisté)<sup>7–9)</sup>.

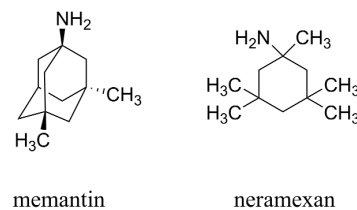
Současná terapie AD je prezentována dvěma skupinami látek<sup>3)</sup>. První, početnější, jsou inhibitory acetylcholinesterasy (AChEIs), které můžeme dále dělit do dvou generací<sup>10, 11)</sup>. První generace je představována takrinem (THA, schválen k užívání v roce 1993 Americkou agenturou Food and Drug Administration, obchodní název Cognex<sup>®</sup>, USP Sciele Pharm Inc), který byl v roce 1998 stažen z trhu pro své nežádoucí účinky (hepatotoxicita, cholinergní nežádoucí účinky)<sup>12)</sup>. V současné době prožívají takrinové deriváty renesanci, jsou hledány netoxická analoga na bázi 7-methoxytakrinu (7-MEOTA) nebo sloučeniny takrinu s oxidem dusnatým (obr. 1)<sup>13–17)</sup>. Druhá generace AChEIs je zastoupena méně toxickými donepezilem (1997; Aricept<sup>®</sup>, Eisai Company and Pfizer Inc.), rivastigminem (2000; Exelon<sup>®</sup>, Novartis Pharmaceuticals) a galantaminem (2001; Hoechst Marion Roussel Inc., Shire Pharmaceutical Group, and Janssen Pharmaceutical, Reminyl<sup>®</sup> a Nivalin<sup>®</sup>, pro USA Razadyne<sup>®</sup>)<sup>18, 19)</sup>.

Druhou zavedenou skupinou látek pro terapii AD jsou antagonisté působící na N-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorech, jejichž hlavním představitelem je memantin (Namanda<sup>®</sup>, Forest). Intenzivně je rovněž studován neramexan patřící do této skupiny (obr. 2)<sup>20–26)</sup>.

Tato souhrnná práce je zaměřena na terapeutické skupiny léčiv zvažovaných pro terapii AD a popisuje novodobé trendy vývoje skupin látek, u nichž předpokládáme zavedení do praxe. Tato další terapeutika se nachází v různých fázích klinického testování.



Obr. 1. Struktury inhibitorů acetylcholinesterasy



Obr. 2. NMDA antagonisté

## Zvažované terapeutické přístupy v oblasti AD

### Vakcinace a imunizace

Transgenní myši imunizované beta-amyloidem (Aβ) nesoucí prekurzor lidského transmembránového amyloidního proteinu (amyloid precursor protein – APP) vykazují sníženou produkci amyloidních plaků v mozku (jeden z patologických nálezů na mozku u pacientů s AD) a zlepšení behaviorálních funkcí<sup>27, 28)</sup>. Tato zajímavá zjištění vedla k vakcinačním studiím na úrovni klinických testů u pacientů s AD. Po podání syntetického Aβ (AN1792) byly záhy tyto studie přerušeny kvůli zvýšenému výskytu meningoencefalitidy u 6 % takto imunizovaných pacientů<sup>29)</sup>. První výsledky analýzy klinického testování podávání AN1792 však ukázaly tvorbu protilátek proti Aβ a signifikantní zlepšení v oblasti kognitivních funkcí<sup>30)</sup>. Celkově tato vakcinační studie však neprokázala žádný benefit, a to paradoxně ani u pacientů, kteří vykazovali tvorbu protilátek proti Aβ. Magnetická rezonance po imunizaci u nich odhalila snížení mozkového objemu<sup>31)</sup>. Z tohoto pohledu se jeví pasivní imunizace lepší volbou v porovnání s aktivní formou. V současné době se nachází v různých fázích klinického testování několik pasivně imunizačních látek využívající selektivní monoklonální Aβ protilátky<sup>32)</sup>.

### Modulátory sekretas

Aβ je tvořen z APP pomocí dvou štěpících enzymů β-sekretasy a γ-sekretasy. Výzkum v této oblasti je zaměřen na hledání inhibitorů těchto sekretas. Bylo prokázáno, že látka s označením KMI-429 inhibuje β-sekretasu, a tím redukuje tvorbu patologického Aβ *in vivo* u transgenních myší<sup>33)</sup> (obr. 3). Velikost molekul těchto inhibito-

rů však nepovoluje vstup přes hematoencefalickou bariéru a navíc po podání myším s deficiencí  $\beta$ -sekretasy se vyskytly problémy s učením<sup>34, 35</sup>. V současné době je věnována pozornost vývoji nízkomolekulárních inhibitorů  $\beta$ -sekretasy<sup>36</sup>.

Pokles hladiny A $\beta$  v mozku, cerebrospinálním moku (CSF) a plazmě byl pozorován u hlodavců, kterým byly podány inhibitory  $\gamma$ -sekretasy s označením DAPT, LY450139 dihydrát a BMS-299897<sup>37–40</sup> (obr. 3). Tyto výsledky vedou k závěru, že A $\beta$  může být spojený s kognitivní poruchou u pacientů s AD a že podání inhibitoru  $\gamma$ -sekretasy může vést, zejména v rané fázi AD, k reverzibilním změnám tvorby amyloidních plaků. Povzbudivé studie s těmito inhibitory jsou na druhé straně zpochybňovány jejich nepříliš dobrou selektivitou, která vede například ke škodlivým vlivům v gastrointestinální oblasti, brzlíku či slezině<sup>41</sup>.

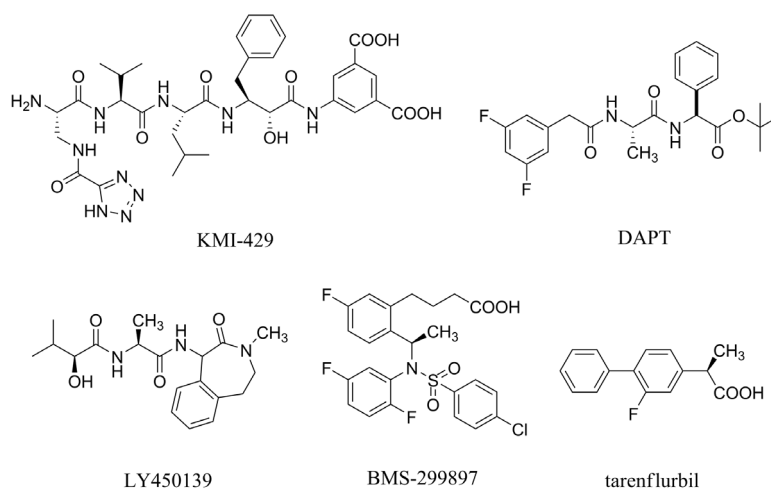
Tarenfluribil (MPC-7869) patří do skupiny modulátorů  $\gamma$ -sekretasy, jehož mechanismem účinku je snížení produkce toxického A $\beta$  (A $\beta$ <sub>42</sub>) bez ovlivnění dalších fyziologicky se vyskytujících substrátů<sup>42</sup> (obr. 3). Druhá fáze klinického testování tarenfluribilu naznačila jeho možný přínos u pacientů nacházející se v prvním stadiu AD, zejména ve skupině léčené nejvyššími dávkami (800 mg dvakrát denně). V současné době probíhá třetí fáze klinické studie hodnotící potenciální přínos tarenfluribilu<sup>43</sup>. Dosud zapsanými nežádoucími účinky v porovnání s placebem jsou eozinofilie, mírná anémie, hypertenze a vyrážka<sup>44</sup>.

#### Anti-agregačně působící skupina látek vůči A $\beta$

A $\beta$  tvoří fibrilární shluky, které zapříčiňují smrt neuronů. Tramiprosat, hlavní představitel této skupiny látek, inhibuje tvorbu fibrilárních shluků vazbou na rozpustný A $\beta$ , a napodobuje tak účinek glykosaminoglykanů (obr. 4). Celý tento děj má za následek snížení hladiny rozpustného A $\beta$  v CSF a redukcí tvorby amyloidních plaků. Otevřená studie s tramiprosatem naznačila pozastavení zhoršujících se kognitivních funkcí v raném stadiu vývoje AD<sup>45</sup>. V současnosti se látka nachází ve třetí fázi klinické studie v Severní Americe a v Evropě, kde je hodnocena z hlediska účinnosti a bezpečnosti.

Další látkou patřící mezi anti-agregancia tlumící formování A $\beta$  je kolostriin. Ten vykázal průměrné zlepšení v oblasti kognitivních funkcí u pacientů v raném stadiu AD (pozn.: pro střední stadium byly výsledky testů neprůkazné v porovnání s placebem). Kolostriin nicméně neprokázal dlouhodobější benefit<sup>46, 47</sup>.

Zvláštní látkou této skupiny je scylloinositol (AZD-103) (obr. 4). Ten stabilizuje neshlukované, netoxické komplexy A $\beta$ , čímž přispívá zejména k redukcí škodlivého vlivu shluků A $\beta$ , a z hlediska dlouhodobého užívání je dokonce schopen navrátit některé paměťové funkce<sup>48</sup>.



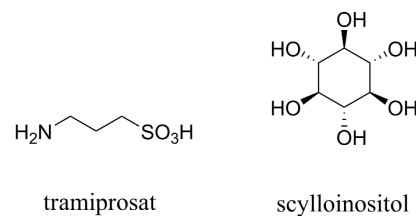
Obr. 3. Modulátory sekretasy

#### Statiny v terapii AD

U statinů, látek primárně používaných k léčbě hyperlipidémie působících mechanismem inhibice 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A reductasy (HMG-CoA reductasy), byl pozorován pokles hladiny A $\beta$  *in vivo*<sup>49, 50</sup>. Efekt statinů je výrazný zejména při jejich nasazení pacientům před 80. rokem života<sup>51</sup>. Také několik epidemiologických studií naznačilo jejich přínos vedoucí ke snížení rizika AD<sup>52–55</sup>. Nicméně velké, kohortové a náhodné, placebem kontrolované studie zaměřené na prevenci koronárních onemocnění nepotvrzují účinek v oblasti kognitivních funkcí u pacientů s AD<sup>56–58</sup>. Shrnutím těchto poznatků lze říci, že statiny jako léčiva v oblasti AD mohou zpomalit neurodegenerativní procesy, nemožou však pomoci těm, u kterých se již demence AD projevila<sup>59</sup>. Dva základní strukturální typy statinů jsou vyobrazeny na obrázku 5.

#### Agonisté na receptorech aktivovaných proliferátory peroxizomů

Abnormality ve struktuře insulinu a insulinová rezistence mohou přispívat k neuropatologii a klinickým symptomům spojeným s AD<sup>60</sup>. Thiazolidindionový derivát rosiglitazon



Obr. 4. Anti-agregancia A $\beta$

litazon (pozn.: v roce 2010 stažen z trhu kvůli možným kardiovaskulárním nežádoucím účinkům) periferně zvyšuje insulinovou citlivost agonistickým působením na receptoru aktivovaném proliferátory peroxizomů (PPAR- $\gamma$ ) (obr. 6). Rosiglitazon působí redukcí mediátorové RNA, která tvoří insulinově degradabilní enzym (IDE) (pozn.: je tedy zvýšena produkce insulinu). Tento účinek zprostředkovaný PPAR- $\gamma$  zvyšuje uvolňování IDE, který je primárně využí-

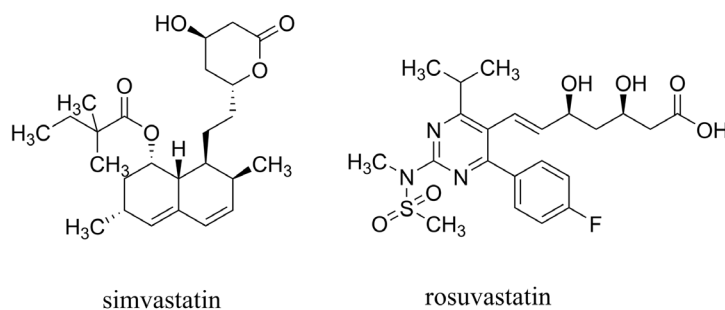
ván k metabolizaci A $\beta$ <sup>61</sup>). Studie prováděná u 30 vybraných jedinců naznačila možný benefit rosiglitazonu *in vivo* u AD, přičemž byly zlepšeny kognitivní projevy v porovnání s placebo skupinou<sup>62</sup>). Navíc u jedinců bez genu *ApoE*  $\epsilon$ 4 došlo k výraznějšímu zlepšení kognice než u pacientů nesoucích tento gen. Dalším agonistou působícím na PPAR- $\gamma$  testovaným v klinických studiích v oblasti AD je pioglitazon<sup>63</sup>) (obr. 6). Rovněž je nutné dodat, že samotné podání insulinu intranazálně zlepšuje paměťové funkce<sup>64</sup>). Na úzkou souvislost mezi narušenou rovnováhou insulinu a mozkového glukosového metabolismu v mozku u AD poukazují nejnovější studie s metforminem. Ten snižuje insulinovou rezistenci a první testy naznačují jeho možný benefit v terapii AD<sup>65</sup>).

#### Chelátory kovů

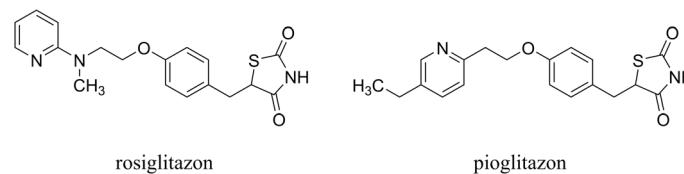
A $\beta$  interaguje s biogenními prvky, jako jsou zinek, měď a železo, a tvoří s nimi cytotoxické agregáty<sup>66</sup>). Kliochinol byl první látkou z této skupiny, který byl testován proti tvorbě A $\beta$  (obr. 7). Během 36týdenního užívání prokázal snížení A $\beta$  v mozku o 49 %. Dva nežádoucí účinky – synkopální epizody a srdeční arytmie – se objevily během této periody užívání<sup>67, 68</sup>). Mezi další chelátory zvažované k užití v souvislosti s AD patří látky s označením XH1, DP-109 a (-)-epigallokatechin-3-galát, které všechny shodně redukcují poškození mozku způsobené A $\beta$ <sup>69-71</sup>) (obr. 7).

#### Agonisté M<sub>1</sub> muskarinových receptorů

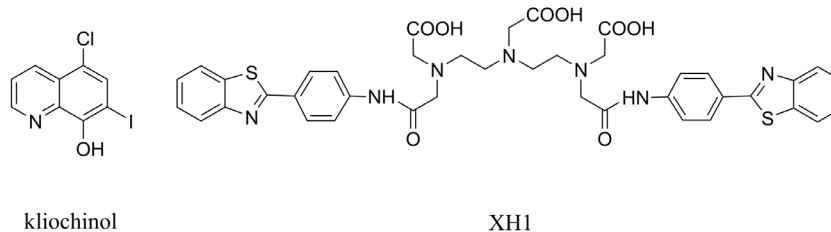
Bylo zjištěno, že muskarinové receptory subtypu 1 (M<sub>1</sub>) hrají multifaktoriální roli v patogenezi AD. Bylo prokázáno, že M<sub>1</sub> muskarinový agonista (AF267B) podpořil v *in vivo* i *in vitro* testech neamyloidogenní cestu štěpení APP zprostředkovanou  $\alpha$ -sekretasou, která místo toxického A $\beta$  dává za vznik rozpustnému APPs $\alpha$ , jež má neuroprotektivní charakter (obr. 8). Dále bylo pozorováno, že tento M<sub>1</sub> agonista snižoval hladiny A $\beta$  v CSF, snižoval výskyt markerů zánětu a kognitivních poruch<sup>72-74</sup>). Další studie ukázaly, že AF267B má pozitivní vliv i na tau protein, který není hyperfosforylován, a může tak plnit svou fyziologickou funkci, která spočívá ve stabilizaci mikrotubulů v neuronech CNS a která



Obr. 5. Simvastatin (zástupce první generace statinů) a rosuvastatin (představující druhou generaci statinů)

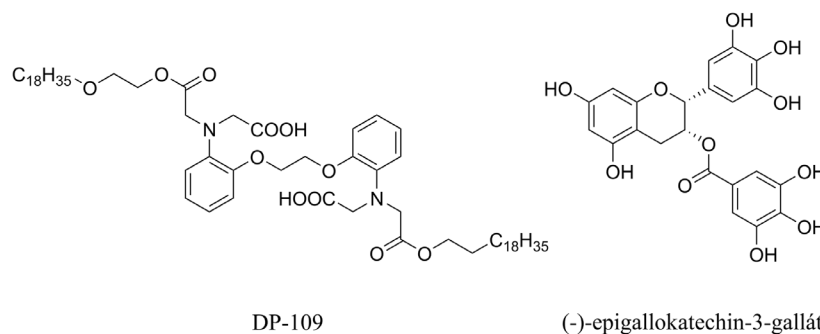


Obr. 6. Zástupci agonistů působících na receptorech aktivovaných proliferátory peroxizomů



kliochinol

XH1



DP-109

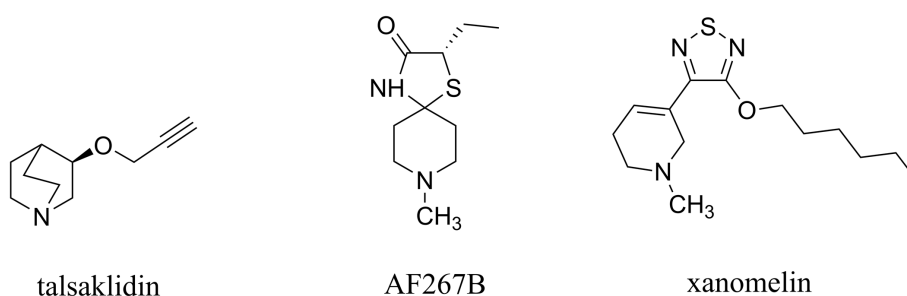
(-)-epigallokatechin-3-gallát

Obr. 7. Chelátory kovů

bývá v případě AD narušena<sup>75</sup>). Další látkou této skupiny zavedenou do klinického testování je například talsaklidin (obr. 8). Ten, stejně jako AF267B, prokázal redukcí hladiny A $\beta$  v CSF<sup>76</sup>). Podobně i xanomelin a jeho deriváty působící stimulací M<sub>1</sub> receptorů snižují hladiny A $\beta$ , pozitivně ovlivňují tau protein a navíc potencují účinek inhibitorů AChE, čímž zlepšují kognitivní projevy pacientů s AD<sup>77, 78</sup>) (obr. 8). Přestože velká komplexnost působení nedává příliš prostoru pro přesné vymezení mechanismu účinku, je zřejmé že aktivace postsynaptických, resp. presynaptických M<sub>1</sub> muskarinových receptorů ovlivňuje hned na více úrovních patogenezi této choroby<sup>79</sup>). A zcela určitě se potom jedná o zajímavý přístup, který se může ukázat jako velký benefit v léčbě AD<sup>80</sup>).

#### Ovlivnění RAGE receptorů

RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts) je transmembránový receptor patřící do rodiny imu-



talsaklidin

AF267B

xanomelin

Obr. 8. Agonisté na muskarinových receptorech M1

noglobulinů. Poprvé byl popsán roku 1992 Neeperem et al.<sup>81)</sup>. Jeho název je odvozen ze schopnosti vázat koncové produkty glykace odvozené z glykoproteinů. RAGE, v přítomnosti A $\beta$  a v kontaktu s endoteliálními buňkami krevních destiček může indukovat migraci monocytů skrze endoteliální buňky mozku. Tato monocytární diapedéza dle všeho hraje důležitou roli v zánětlivém procesu AD<sup>82)</sup>. V současné době jsou vyvíjeny ligandy pro tento receptor, které by mohly potlačovat akumulaci A $\beta$ , a tím přispívat ke zlepšení prognózy AD<sup>83)</sup>.

#### Periferně působící vychytávače A $\beta$

Jak již bylo zmíněno, redukce hladiny A $\beta$  je stále považována za jeden z terapeutických cílů AD. Zatímco aktivní imunizací lze docílit přímé snížení hladiny A $\beta$  v mozku, periferně působící vychytávače jako gelsolin (protein vázající aktin) mají vysokou afinitu pro periferní A $\beta$ , čímž rovněž napomáhají k celkovému zlepšení v prognóze AD a jsou oblastí intenzivního výzkumu<sup>84)</sup>. Zajímavou skupinou látek jsou rovněž dihydropyridinová antihypertenziva. Ve vztahu k AD kromě mírnění produkce A $\beta$  snižují rovněž poškození mozku způsobené A $\beta$  a současně usnadňují clearance tohoto toxického patologického proteinu<sup>85)</sup>.

#### Závěr

Současné představení devíti různých terapeutických přístupů v léčbě Alzheimerovy choroby svědčí o významu nalezení efektivnější léčby pro tuto chorobu. Ačkoliv se touto problematikou zabývají přední vědecké týmy z celého světa již několik desetiletí, nepodařilo se do praxe zavést jiné léčivo než symptomaticky působící AChEIs či memantin (NMDA-antagonista). Je to dáno zejména tím, že se dosud nepodařilo přesně určit etiologii této nemoci. I přes toto celosvětové úsilí je AD stále palčivějším problémem lidstva, nejen po stránce zdravotní, ale i po stránce sociální či ekonomické a je možné, že kauzální lék na tuto chorobu nebude nikdy nalezen.

Střet zájmů: žádný.

#### Literatura

- Alzheimer's Association. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2011; 7, 208–244.
- Herrup K. Re imaginizing Alzheimer' disease – an age-based hypothesis. *J Neurosci* 2010; 30, 16755–16762
- Drtinova L., Pohanka M. Alzheimerova demence: aspekty současné farmakologické léčby. *Čes slov Farm* 2011; 60, 219–228.
- Craig D., Mirakhur A., Hart D. J., McIlroy S. P., Passmore A. P. A cross-sectional study of neuropsychiatric symptoms in 435 patients with Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiat* 2005; 13, 460–468.
- Ballard C., Gauthier S., Corbett A., Brayne C., Aarsland D., Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet* 2011; 377, 1019–1031.
- Brodaty H., Breteler M. M., Dekosky S. T., Dorenlot P., Fratiglioni L., Hock C., Kenigsberg P. A., Scheltens P., De Strooper B. The world of dementia beyond 2020. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59, 923–927.
- Souder E., Beck C. Overview of Alzheimer's disease. *Nurs Clin N Am* 2004; 39, 545–559.
- Kim K. Y., Wood B. E., Wilson M. I. Risk factors for Alzheimer's disease: An overview for clinical practitioners. *Consult Pharm* 2005; 20, 224–230.
- Bateman R. J., Aisen P. S., De Strooper B., Fox N. C., Lemere C. A., Ringman J. M., Salloway S., Sperling R. A., Windisch M., Xiong C. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2011; 3, 1–13.
- Giacobini E. Do cholinesterase inhibitors have disease-modifying effects in Alzheimer's disease? *CNS Drugs* 2001; 15, 85–91.
- Giacobini E., Mori F., Lai C. C. The effect of cholinesterase inhibitors on the secretion of APPS from rat brain cortex. *Ann NY Acad Sci* 1996; 777, 393–398.
- Knapp M. J., Knopman D. S., Solomon P. R., Pendlebury W. W., Davis C. S., Gracon S. I. A 30-week randomized controlled trial of high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. *JAMA* 1994; 271, 985–991.
- Dejmek L. 7-Meota. *Drug Future* 1990; 15, 126–129.
- Korabecny J., Musilek K., Holas O., Binder J., Zemek F., Marek J., Pohanka M., Opletalova V., Dohnal V., Kuca K. Synthesis and in vitro evaluation of N-alkyl-7-methoxytacrine hydrochlorides as potential cholinesterase inhibitors in Alzheimer disease. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20, 6093–6095.
- Korabecny J., Holas O., Musilek K., Pohanka M., Opletalova V., Dohnal V., Kuca K. Synthesis and in vitro evaluation of new tacrine derivatives-bis-alkylene linked 7-MEOTA. *Lett Org Chem* 2010; 7, 327–331.
- Korabecny J., Musilek K., Holas O., Nepovimova E., Jun D., Zemek F., Opletalova V., Patočka J., Dohnal V., Nachon F., Hroudova J., Fisar Z., Kuca K. Synthesis and in vitro evaluation of N-(bromobut-3-en-2-yl)-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-amine as a cholinesterase inhibitor with regard to Alzheimer's disease treatment. *Molecules* 2010; 15, 8804–8812.
- Korabecny J., Musilek K., Zemek F., Horova A., Holas O., Nepovimova E., Opletalova V., Hroudova J., Fisar Z., Jung Y.-S., Kuca K. Synthesis and in vitro evaluation of 7-methoxy-N-(pent-4-enyl)-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-amine – new tacrine derivative with cholinergic properties. *Bioorg Med Chem Lett* 2011; 21, 6563–6556.
- Fang L., Appenroth D., Decker M., Kiehntopf M., Lupp A., Peng S., Fleck C., Zhang Y., Lehman J. NO-donating tacrine hybrid compounds improve scopolamine-induced cognition impairment and show less hepatotoxicity. *J Med Chem* 2008; 51, 7666–7669.
- Trinh, N. H., Hoblyn, J., Mohanty, S., Yaffe, K. Efficacy of cholinesterases inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA* 2003; 289, 210–216.

20. **Kamal, M. A., Klein, P., Yu, Q. S., Tweedie, D., Li, Y., Holloway, H. W., Tweedie, D., Greig, N. H.** Kinetics of human serum butyrylcholinesterase and its inhibition by a novel experimental Alzheimer therapeutic, bisnorcymserine. *J Alzheimers Dis* 2006; 10, 43–51.
21. **Li F., Tsien J. Z.** Memory and the NMDA receptors. *New Engl J Med* 2009; 361, 302–303.
22. **Harkany T., Abraham I., Timmerman W., Laskay G., Toth B., Safari M., Konya C., Sebens J. B., Korf J., Nyakas C., Zarandi M., Soos K., Penke B., Luiten P. G.** Beta-amyloid neurotoxicity is mediated by a glutamate-triggered excitotoxic cascade in rat nucleus basalis. *Eur J Neurosci* 2000; 12, 2735–2745.
23. **Amadoro G., Ciotti M. T., Costanzi M., Cestari V., Calissano P., Canu N.** NMDA receptor mediates tau-induced neurotoxicity by calpain and ERK/MAPK activation. *P Natl Acad Sci USA* 2006; 103, 2892–2897.
24. **Sonkusare S. K., Kaul C. L., Ramarao P.** Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders-memantine, a new hope. *Pharmacol Res* 2005; 51, 1–17.
25. **Tariot P. N., Farlow M. R., Grossberg G. T., Graham S. M., McDonald S., Gergel I.** Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291, 317–324.
26. **Wenk G. L., Baker L. M., Stoehr J. D., Hauss-Wegrzyniak B., Danysz W.** Neuroprotection by novel antagonists at the NMDA receptor channel and glycineB sites. *Eur J Pharmacol.* 1998; 347, 183–187.
27. **Schenk D., Barbour R., Dunn W., Gordon G., Grajeda H., Guido T., Hu K., Huang J., Johnson-Wood K., Khan K., Kholodenko D., Lee M., Liao Z., Lieberburg I., Motter R., Mutter L., Soriano F., Shopp G., Vasquez N., Vandeventer C., Walker S., Wogulis M., Yednock T., Games D., Seubert P.** Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400, 173–177.
28. **Lavie V., Becker M., Cohen-Kupiec R., Yacoby I., Koppel R., Wedenig M., Hutter-Paier B., Solomon B.** EFRH-phase immunization of Alzheimer's disease animal model improves behavioral performance in Morris water maze trials. *J Mol Neurosci* 2004; 24, 105–113.
29. **Orgogozo J. M., Gilman S., Dartigues J. F., Laurent B., Puel M., Kirby L. C., Jouanny P., Dubois B., Eisner L., Flitman S., Michel B. F., Boada M., Frank A., Hock C.** Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A beta 42 immunization. *Neurology* 2003; 61, 46–54.
30. **Hock C., Konietzko U., Streffer J. R., Tracy J., Signorell A., Müller-Tillmanns B., Lemke U., Henke K., Moritz E., Garcia E., Wollmer M. A., Umbricht D., de Quervain D. J., Hofmann M., Maddalena A., Papassotiropoulos A., Nitsch R. M.** Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron* 2003; 38, 547–554.
31. **Fox N. C., Black R. S., Gilman S., Rossor M. N., Griffith S. G., Jenkins L., Koller M.** Effects of A beta immunization (AN1792) on MRI measures of cerebral volume in Alzheimer disease. *Neurology* 2005; 64, 1563–1572.
32. **Dodel R. C., Du Y., Depboylu C., Hampel H., Frölich L., Haag A., Hemmeter U., Paulsen S., Teipel S. J., Brettschneider S., Spottke A., Nölker C., Möller H. J., Wei X., Farlow M., Sommer N., Oertel W. H.** Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Ps* 2004; 75, 1472–1474.
33. **Asai M., Hattori C., Iwata N., Saido T. C., Sasagawa N., Szabó B., Hashimoto Y., Maruyama K., Tanuma S., Kiso Y., Ishiura S.** The novel beta-secretase inhibitor KMI-429 reduces amyloid beta peptide production in amyloid precursor protein transgenic and wild-type mice. *J Neurochem* 2006; 96, 533–540.
34. **Wong P.** BACE. *Alzheimers Dement* 2005; 1, S3.
35. **Citron M.** Beta-secretase inhibition for the treatment of Alzheimer's disease-promise and challenge. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25, 92–97.
36. **Mancini F., de Simone A., Andrisano V.** Beta-secretase as a target for Alzheimer's disease drug discovery: an overview of in vitro methods for characterization of inhibitors. *Anal Bioanal Chem* 2011; 400, 1979–1996.
37. **Lanz T. A., Himes C. S., Pallante G., Adams L., Yamazaki S., Amore B., Merchant K. M.** The gamma-secretase inhibitor N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester reduces A beta levels in vivo in plasma and cerebrospinal fluid in young (plaque-free) and aged (plaque-bearing) Tg2576 mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 305, 864–871.
38. **El Mouedden M., Vandermeeren M., Meert T., Mercken M.** Reduction of A beta levels in the Sprague Dawley rat after oral administration of the functional gamma-secretase inhibitor, DAPT: a novel non-transgenic model for A beta production inhibitors. *Curr Pharm Design* 2006; 12, 671–676.
39. **May P. C., Yang Z., Li W., Hyslop P. A., Siemers E., Boggs L. N.** Multi-compartmental pharmacodynamic assessment of the functional gamma-secretase inhibitor LY450139 dihydrate in PDAPP transgenic mice and non-transgenic mice. *Neurobiol Aging* 2004; 25, S65.
40. **Barten D. M., Guss V. L., Cosa J. A., Loo A., Hansel S. B., Zheng M., Munoz B., Srinivasan K., Wang B., Robertson B. J., Polson C. T., Wang J., Roberts S. B., Hendrick J. P., Anderson J. J., Loy J. K., Denton R., Verdoorn T. A., Smith D. W., Felsenstein K. M.** Dynamics of {beta}-amyloid reductions in brain, cerebrospinal fluid, and plasma of {beta}-amyloid precursor protein transgenic mice treated with a {gamma}-secretase inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312, 635–643.
41. **Imbimbo B. P.** Alzheimer's disease: gamma secretase inhibitors. *Drug Discov Today: Therapeutic Strategies* 2008; 5, 169–175.
42. **Weggen S., Eriksen J. L., Sagi S. A., Pietrzik C. U., Golde T. E., Koo E. H.** A beta 42-lowering nonsteroidal anti-inflammatory drugs preserve intramembrane cleavage of the amyloid precursor protein (APP) and ErbB-4 receptor and signaling through the APP intracellular domain. *J Biol Chem* 2003; 278, 30748–30754.
43. **Becker R. E., Greig N. H.** Why so few drugs for Alzheimer's disease? Are methods failing drugs? *Curr Alzheimer Res* 2010; 7, 642–651.
44. **Mintzer J. E., Wilcock G. K., Black S. E., Zavitz K. H., Hendrix S. B.** MPC-7869, a selective Abeta42-lowering agent, delays time to clinically significant psychiatric adverse events in Alzheimer's disease: analysis from a 12-month phase 2 trial. Presented as a poster exhibit at the 10th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders; 2006 Jul 15–20; Madrid, Spain.
45. **Aisen P. S., Gauthier S., Vellas B., Briand R., Saumier D., Laurin J., Garceau D.** Alzhemed: A potential treatment for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2007; 4, 473–478.
46. **Bilikiewicz A., Gaus W.** Colostrinin (a naturally occurring, proline-rich, polypeptide mixture) in the treatment of Alzheimer's disease. *J Alzheimer Dis* 2004; 6, 17–26.
47. **Leszek J., Inglot A. D., Janusz M., Byczkiewicz F., Kiejna A., Georgiades J., Lisowski J.** Colostrinin proline-rich polypeptide complex from ovine colostrum—a long-term study of its efficacy in Alzheimer's disease. *Med Sci Monitor* 2002; 8, PI93–PI96.
48. **Townsend M., Cleary J. P., Mehta T., Hofmeister J., Lesne S., O'Hare E., Walsh D. M., Selkoe D. J.** Orally available compound prevents deficits in memory caused by the Alzheimer amyloid-beta oligomers. *Ann Neurol* 2006; 60, 668–676.
49. **Fassbender K., Simons M., Bergmann C., Ströck M., Lutjohann D., Keller P., Runz H., Kuhl S., Bertsch T., von Bergmann K., Hennerici M., Beyreuther K., Hartmann T.** Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides A beta 42 and A beta 40 in vitro and in vivo. *P Natl Acad Sci USA* 2001; 98, 5856–5861.
50. **Wolozin B., Kellman W., Russeau P., Celesia G. G., Siegel G.** Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000; 57, 1439–1443.
51. **Li G., Higdon R., Kukull W. A., Peskind E., Moore K. V., Tsuang D., van Belle G., McCormick W., Bowen J. D., Teri L., Schellenberg G. D., Larson E. B.** Statin therapy and risk of dementia in the elderly: a community-based prospective cohort study. *Neurology* 2004; 63, 1624–1628.
52. **Jick H., Zornberg G. L., Jick S. S., Seshadri S., Drachman D. A.** Statins and the risk of dementia. *Lancet* 2000; 356, 1627–1631.
53. **Rockwood K., Kirkland S., Hogan D. B., MacKnight C., Merry H., Verreault R., Wolfson C., McDowell I.** Use of lipid-lowering agents, indication bias, and the risk of dementia in community-dwelling elderly people. *Arch Neurol* 2002; 59, 223–227.
54. **McGuinness B., O'Hare J., Craig D., Bullock R., Malouf R., Passmore P.** Statins for the treatment of dementia (Review). *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 4.

55. Yaffe K., Barrett-Connor E., Lin F., Grady D. Serum lipoprotein levels, statin use, and cognitive function in older women. *Arch Neurol* 2002; 59, 378–384.
56. Rea T. D., Breitner J. C., Psaty B. M., Fitzpatrick A. L., Lopez O. L., Newman A. B., Hazzard W. R., Zandi P. P., Burke G. L., Lyketsos C. G., Bernick C., Kuller L. H. Statin use and the risk of incident dementia: the cardiovascular health study. *Arch Neurol* 2005; 62, 1047–1051.
57. Shepherd J., Blauw G. J., Murphy M. B., Bollen E. L., Buckley B. M., Cobbe S. M., Ford I., Gaw A., Hyland M., Jukema J. W., Kamper A. M., Macfarlane P. W., Meinders A. E., Norrie J., Packard C. J., Perry I. J., Stott D. J., Sweeney B. J., Twomey C., Westendorp R. G.; PROSPER study group. PROSpective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360, 1623–1630.
58. Zandi P. P., Sparks D. L., Khachaturian A. S., Tschanz J., Norton M., Steinberg M., Welsh-Bohmer K. A., Breitner J. C.; Cache County Study investigators. Do statins reduce risk of incident dementia and Alzheimer disease? The Cache County Study. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62, 217–224.
59. Wang Q., Yan J., Chen X., Li J., Yang Y., Weng J., Deng C., Yenari M. A. Statins: multiple neuroprotective mechanisms in neurodegenerative diseases. *Exp Neurol* 2011; 230, 27–34.
60. Craft S. Insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease: age- and obesity-related effects on memory, amyloid, and inflammation. *Neurobiol Aging* 2005; 26, S65–S69.
61. Pedersen W. A., McMillan P. J., Kulstad J. J., Leverenz J. B., Craft S., Haynatzki G. R. Rosiglitazone attenuates learning and memory deficits in Tg2576 Alzheimer mice. *Exp Neurol* 2006; 199, 265–273.
62. Watson G. S., Cholerton B. A., Reger M. A., Baker L. D., Plymate S. R., Asthana S., Fishel M. A., Kulstad J. J., Green P. S., Cook D. G., Kahn S. E., Keeling M. L., Craft S. Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study. *Am J Geriatr Psychiatry* 2005; 13, 950–958.
63. Geldmacher D. S., Frolich L., Doody R. S., Erkinjuntti T., Vellas B., Jones R. W., Banerjee S., Lin P., Sano M. Realistic expectations for treatment success in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging* 2006; 10, 417–429.
64. Craft S. Insulin resistance syndrome and Alzheimer disease: pathophysiologic mechanisms and therapeutic implications. *Alz Dis Assoc Dis* 2006; 20, 298–301.
65. Gupta A., Bisht B., Dey C. S. Peripheral insulin-sensitizer drug metformin ameliorates neuronal insulin resistance and Alzheimer's-like changes. *Neuropharmacology* 2011; 60, 910–920.
66. Cuajungco M. P., Frederickson C. J., Bush A. I. Amyloid-beta metal interaction and metal chelation. *Sub-Cell Biochem* 2005; 38, 235–254.
67. Cherny R. A., Atwood C. S., Xilinas M. E., Gray D. N., Jones W. D., McLean C. A., Barnham K. J., Volitakis I., Fraser F. W., Kim Y., Huang X., Goldstein L. E., Moir R. D., Lim J. T., Beyreuther K., Zheng H., Tanzi R. E., Masters C. L., Bush A. I. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron* 2001; 30, 665–676.
68. Ritchie C. W., Bush A. I., Mackinnon A., Macfarlane S., Mastwyk M., MacGregor L., Kiers L., Cherny R., Li Q. X., Tammer A., Carrington D., Mavros C., Volitakis I., Xilinas M., Ames D., Davis S., Beyreuther K., Tanzi R. E., Masters C. L. Metal-protein attenuation with iodochohydroxyquin (clioquinol) targeting Abeta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol* 2003; 60, 1685–1691.
69. Dedeoglu A., Cormier K., Payton S., Tseitlin K. A., Kremsky J. N., Lai L., Li X., Moir R. D., Tanzi R. E., Bush A. I., Kowall N. W., Rogers J. T., Huang X. Preliminary studies of a novel bifunctional metal chelator targeting Alzheimer's amyloidogenesis. *Exp Gerontol* 2004; 39, 1641–1649.
70. Lee J. Y., Friedman J. E., Angel I., Kozak A., Koh J. Y. The lipophilic metal chelator DP-109 reduces amyloid pathology in brains of human beta-amyloid precursor protein transgenic mice. *Neurobiol Aging* 2004; 25, 1315–1321.
71. Reznichenko L., Amit T., Zheng H., Avramovich-Tirosh Y., Youdim M. B., Weinreb O., Mandel S. Reduction of iron-regulated amyloid precursor protein and beta-amyloid peptide by (-)-epigallocatechin-3-gallate in cell cultures: implications for iron chelation in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2006; 97, 527–536.
72. Fisher A., Pittel Z., Haring R., Bar-Ner N., Kliger-Spatz M., Natan N., Egozi I., Sonogo H., Marcovitch I., Brandeis R. M1 muscarinic agonists can modulate some of the hallmarks in Alzheimer's disease: implications in future therapy. *J Mol Neurosci* 2003; 20, 349–356.
73. Fisher A., Brandeis R., Bar-Ner R. H., Kliger-Spatz M., Natan N., Sonogo H., Marcovitch I., Pittel Z. AF150(S) and AF267B: M1 muscarinic agonists as innovative therapies for Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 2002; 19, 145–153.
74. Caccamo A., Fisher A., Laferla F. M. M1 Agonists as a potential disease-modifying therapy for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2009; 6, 112–117.
75. Caccamo A., Oddo S., Billings L. M., Green K. N., Martinez-Coria H., Fisher A., LaFerla F. M. M1 receptors play a central role in modulating AD-like pathology in transgenic mice. *Neuron* 2006; 49, 671–682.
76. Hock C., Maddalena A., Raschig A., Müller-Spahn F., Eschweiler G., Hager K., Heuser I., Hampel H., Müller-Thomsen T., Oertel W., Wienrich M., Signorell A., Gonzalez-Agosti C., Nitsch R. M. Treatment with the selective muscarinic m1 agonist talsaclidine decreases cerebrospinal fluid levels of A beta (42) in patients with Alzheimer's disease. *Amyloid* 2003; 10, 1–6.
77. Bodick N. C., Offen W. W., Levey A. I., Cutler N. R., Gauthier S. G., Satlin A., Shannon H. E., Tollefson G. D., Rasmussen K., Bymaster F. P., Hurlley D. J., Potter W. Z., Paul S. M. Effects of xanomeline, a selective muscarinic receptor agonist, on cognitive function and behavioral symptoms in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1997; 54, 465–473.
78. Fang L., Jumpertz S., Zhang Y., Appenroth D., Fleck C., Mohr K., Tränkle C., Decker M. Hybrid molecules from xanomeline and tacrine: enhanced tacrine actions on cholinesterases and muscarinic M1 receptors. *J Med Chem* 2010; 53, 2094–2103.
79. Mulugeta E., Karlsson E., Islam A., Kalaria R., Mangat H., Winblad B., Adem A. Loss of muscarinic M4 receptors in hippocampus of Alzheimer patients. *Brain Res* 2003; 960, 259–262.
80. Heinrich JN, Butera JA, Carrick T, Kramer A, Kowal D, Lock T, Marquis KL, Pausch MH, Popielek M, Sun SC, Tseng E, Uveges AJ, Mayer SC. Pharmacological comparison of muscarinic ligands: historical versus more recent muscarinic M1-preferring receptor agonists. *Eur J Pharmacol* 2009; 605, 53–56.
81. Neeper M., Schmidt A. M., Brett J., Yan S. D., Wang F., Pan Y. C., Elliston K., Stern D., Shaw A. Cloning and expression of a cell-surface receptor for advanced glycosylation end-products of proteins. *J Biol Chem* 1992; 267, 14998–15004.
82. Mackic J. B., Stins M., McComb J. G., Calero M., Ghiso J., Kim K. S., Yan S. D., Stern D., Schmidt A. M., Frangione B., Zlokovic B. V. Human blood-brain barrier receptors for Alzheimer's amyloid-h 1–40. Asymmetrical binding, endocytosis, and transcytosis at the apical side of brain microvascular endothelial cell monolayer. *J Clin Invest* 1998; 102, 734–743.
83. Deane R., Du Yan S., Subramanian R. K., LaRue B., Jovanovic S., Hogg E., Welch D., Manness L., Lin C., Yu J., Zhu H., Ghiso J., Frangione B., Stern A., Schmidt A. M., Armstrong D. L., Arnold B., Liliensiek B., Nawroth P., Hofman F., Kindy M., Stern D., Zlokovic B. RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med* 2003; 9, 907–913.
84. Matsuoka Y., Saito M., LaFrancois J., Saito M., Gaynor K., Olm V., Wang L., Casey E., Lu Y., Shiratori C., Lemere C., Duff K. Novel therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease by peripheral administration of agents with an affinity to betaamyloid. *J Neurosci* 2003; 23, 29–33.
85. Bachmeier C., Beaulieu-Abdelahad D., Mullan M., Paris D. Selective dihydropyridine compounds facilitate the clearance of beta-amyloid across the blood-brain barrier. *Eur J Pharmacol* 2011; 659, 124–129.