

Na tropie środków przydatnych w terapii lub profilaktyce choroby Alzheimera

In search of agents of use in therapy or prevention of Alzheimer's disease

STRESZCZENIE

Mimo olbrzymich inwestycji kadrowych i finansowych, próby pozyskiwania nowych przełomowych leków okazują się coraz trudniejsze, a w przypadku choroby Alzheimera wręcz nieskuteczne. Farmakoterapia choroby Alzheimera i innych chorób, w których obserwuje się tworzenie fibryli białka amyloidowego, nie rokuje całkowitego wyleczenia czy poprawy funkcjonowania chorych. Rutynowo stosuje się leczenie paliatywne, objawowe lub substytucyjne. W fazie eksperymentalnej jest terapia skojarzona, z użyciem środków działających plejotropowo oraz substancji, które mają hamować zwyrodnienie neurofibrylarne. Obserwacje epidemiologiczne, kojarzone z paleniem tytoniu, skierowały uwagę badaczy na podjednostkę $\alpha 7$ neuronowego receptora cholinergicznego typu nikotynowego ($\alpha 7nAChR$). Najbardziej obiecujące i racjonalne wydają się jednak próby ingerencji farmakologicznej w proces agregacji amyloidu czy rozpuszczania jego złogów. Istnieją doniesienia o takim działaniu dla różnych środków, szczególnie przyjmowanych długotrwale. Obok nikotyny i pochodnych wchodzących w skład etnograficznie charakterystycznych używek, wskazuje się także na niektóre składniki prawidłowej diety, w tym kwasy tłuszczowe omega-3. W badaniach zainicjowanych w Katedrze Biofarmacji i Farmakodynamiki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, mierzono nową metodą elektrochemicznospektroskopową powinowactwo wielu związków pirydynowych i piperidynowych, zwłaszcza alkaloidów występujących w używkach i przyprawach, do amyloidu $\beta(1-42)$. Wykazano silne właściwości wiązania amyloidu z wieloma wytypowanymi do badań związkami. Szczególnie obiecująco z punktu widzenia profilaktyki choroby Alzheimera przedstawia się alkaloid trigonellina, charakterystyczny dla powszechnie spożywanych w Azji (także jako składnik curry) i znanych w Polsce nasion kozieradki, która należy do surowców roślinnych uwzględnionych w obowiązującej Farmakopei Europejskiej.

Forum Medycyny Rodzinnej 2010, tom 4, nr 1, 1–9

Roman Kaliszan,
Katarzyna Macur

Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki,
Gdański Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Roman Kaliszan
Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki,
GUMed
ul. Gen. J. Hallera 107, 80–416 Gdańsk
tel.: (58) 349 32 61; faks: (58) 349 32 62
e-mail: roman.kaliszan@amg.gda.pl

słowa kluczowe: alkaloidy pirydynowe i piperydynowe, amyloid beta, amyloidoza, elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna (EIS), etnofarmakologia, farmakoterapia choroby Alzheimera, neuronowy receptor nikotynowy

ABSTRACT

In spite of vast increases of research personnel and financial investments, attempts to acquire new groundbreaking invention drugs appear to be more and more difficult, and in case of Alzheimer's disease (AD) simply ineffective. Pharmacotherapy of AD and other diseases, in which amyloid protein fibrils are formed, does not hold promise of a radical healing or improvement of patient functioning. Routinely, a palliative, symptomatic or substitutive treatment is applied. In experimental phase is currently a combined therapy with using pleiotropic acting drugs and substances assumed to inhibit neurofibril degeneration. Epidemiological observations on tobacco smokers turned attention of researchers to the subunit $\alpha 7$ of neuronal cholinergic receptor of nicotinic type ($\alpha 7nAChR$). The most promising and rational seem to be the attempts to interfere pharmacologically with the process of aggregation of amyloid or dissolution of its plaques. There are reports on such an action of various agents, particularly if taken for a long period. Apart from nicotine and its derivatives, contained in the ethnographically characteristic psychoactive preparations, there are also indicated some dietary components, like omega-3 fatty acids. In experiments initiated in our Department, the affinity to amyloid $\beta(1-40)$ of a series of pyridine and piperidine derivatives, mainly alkaloids present in addictive and spice preparations, was measured by means of a new method: electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Strong amyloid-binding properties were demonstrated for a series of compounds selected for the study. Particularly promising form the point of view of AD prophylactics appeared to be alkaloid trigonelline, characteristic for widely consumed in Asia (also as a component of *curry*) and known in Poland fenugreek seeds, which belong to plant medicines listed in current European Pharmacopoea VIII.

Forum Medycyny Rodzinnej 2010, vol. 4, no 1, 1–9

key words: pyridine and piperidine alkaloids, amyloid beta, amyloidosis, electrochemical impedance spectroscopy (EIS); etnopharmacology, pharmacotherapy of alzheimer's disease, neuronal nicotine receptor

WSTĘP

Wbrew powszechnej wierze w nieograniczony postęp naukowy, w zakresie nowych leków od dłuższego czasu obserwuje się stagnację. Liczba nowo rejestrowanych środków leczniczych, syntetycznych i pochodzenia biologicznego utrzymuje się na poziomie około 20 rocznie. Ponadto nie wszystkie nowe leki wnoszą znaczący postęp do farmakoterapii, a rewelacje w rodzaju imatinibu (Gliveec) zdarzają się wyjątkowo rzadko.

Choroby neurodegeneracyjne stają się coraz poważniejszym problemem ze względu na starzenie się społeczeństw. Choroba Alzheimera (AD, *Alzheimer's disease*) występuje u około 4 mln Amerykanów, a w 2050 roku liczba ta ma wzrosnąć do 14 mln. Szacuje się, że AD dotyczy 10% populacji w wieku 65 lat i 50% w wieku 85 lat. Niestety, dotychczas nie opracowano prawdziwie skutecznego leku cofającego czy powstrzymującego rozwój tej choroby.

TWORZENIE SIĘ FIBRYLI AMYLOIDOWYCH W WYBRANYCH CHOROBACH

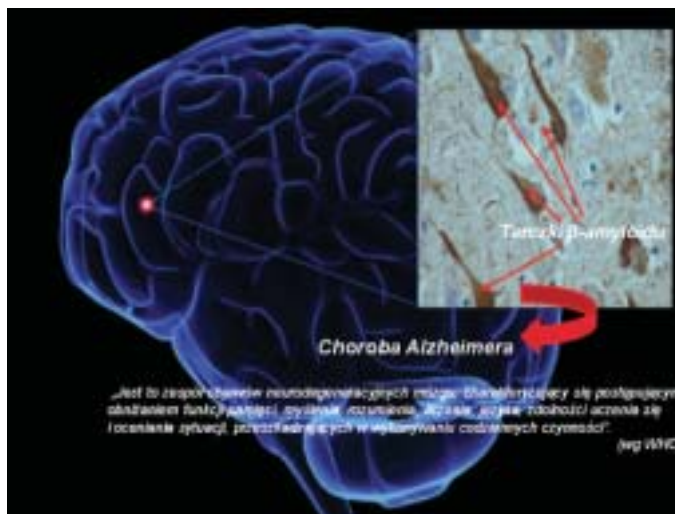
Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*), AD „jest to zespół objawów neurodegeneracyjnych mózgu, charakteryzujący się postępującym obniżaniem funkcji pamięci, myślenia, rozumienia, liczenia, języka, zdolności uczenia się i oceniania sytuacji, przeszkadzających w wykonywaniu codziennych czynności” (ryc. 1) [1].

W AD mózg jest znacznie pomniejszony w porównaniu z mózgiem osób zdrowych, co jest spowodowane degeneracją i obumieraniem komórek nerwowych (ryc. 2). Poza zmniejszeniem objętości mózgu obserwuje się często głębiej pofałdowaną jego powierzchnię. Wewnątrz komórek nerwowych występują splątki neurofibrylarne, czyli podwójne heliakalne filamenty utworzone z hiperufosforylowanych form białek tau, związanych z mikrotubulami. U chorych są widoczne zmiany patologiczne wynikające z obecności amyloidu β [2].

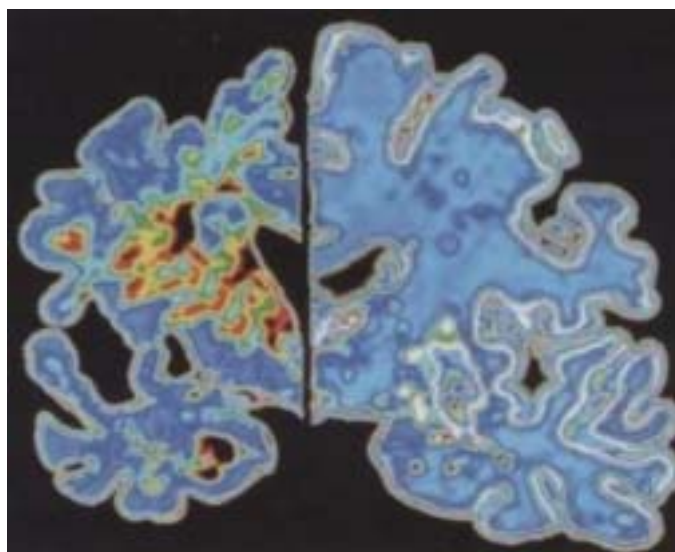
Choroba Alzheimera jest jedną z wielu chorób przypisywanym poszczególnym białkom amyloidowym (tab. 1) [3, 4].

Mechanizm amyloidozy przedstawia się zwykle następująco. Białko prekursorowe amyloidu (APP, *amyloid precursor protein*) jest kolejno wiązane przez β -sekretazę i γ -sekretazę. Powoduje to tworzenie rozpuszczalnego białka prekursorowego amyloidu β (sAPP β) i fragmentu białka amyloidu β 42 (A β 42). Agregaty fragmentów A β 42 formują pozakomórkowe tarczki charakterystyczne dla AD (ryc. 3) [2].

Potencjalne leki antyalzheimerowskie o działaniu hamującym tworzenie taczek amyloidowych mogłyby działać na etapie łączenia się nietoksycznych monomerów w małe rozpuszczalne, ale cytotoksyczne oligomery lub poprzez inhibicję agregacji większych rozpuszczalnych oligomerów (protofibrili) w prozapalne fibryle formujące tarczki. Niestety, dotychczas nie uzyskano specy-



Rycina 1. Choroba Alzheimera według definicji Światowej Organizacji Zdrowia



Rycina 2. Komputerowy obraz pionowego przekroju mózgu w chorobie Alzheimera (strona lewa) i mózgu zdrowego (strona prawa) według www.sigma-aldrich.com/cellsignaling

ficznie działających skutecznych inhibitorów agregacji.

FARMAKOTERAPIA CHOROBY ALZHEIMERA

Postępowanie farmakoterapeutyczne w AD od lat opiera się na podobnym wachlarzu leków. Zasadniczo aktualne pozostaje opracowanie Pużyńskiego [5], uzupełnione w pracy doktorskiej Frąckowiak [6]. W praktyce lekarskiej stosuje się leczenie paliatywne, objawowe, substytucyjne, skojarzone, z użyciem środków o działaniu plejotropowym i podejmuje się próby hamowania rozwoju zwyrodnienia neurofibrylarnego (tab. 2).

Tabela 1

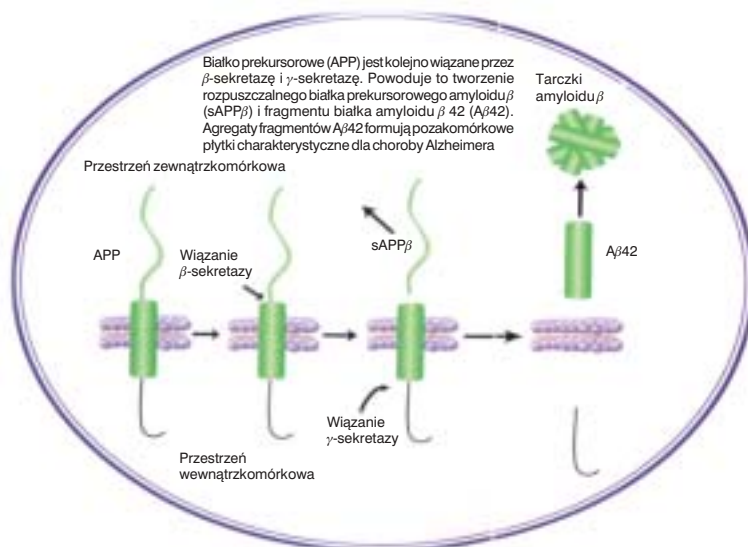
Choroby przypisywane poszczególnym białkom amyloidowym

Białko amyloid	Objawy kliniczne
Peptydy A β (1–40, 1–42)	Choroba Alzheimera Wtrętowe zapalenie mięśni
Amelina	Cukrzyca typu 2
B2-mikroglobulina	Amyloidaza dializacyjna
BriL	Rodzinna brytyjska demencja
α -synukleina	Choroba Parkinsona
Priony białkowe	Gąbczaste zwyrodnienie mózgu np. choroba Creutzfeldta-Jakoba
Hrolaktyna	Amyloidozą gruczołu przysadki
τ (tau)	Otępienie czołowo-skroniowe
Huntingtina	Choroba Huntingtona
Dysmutaza ponadtlenkowa	Stwardnienie boczne zanikowe
Kalcytonina	Rak rdzeniasty tarczycy
Transtyretyna	Starcza układowa amyloidozą Amyloidowa polineuropatia rodzinna
γ -krystalina	Katarakta
Lizozym	Lizozymowa układowa amyloidozą
Łańcuchy lekkie Ig	Pierwotna układowa amyloidozą
Osoczowy amyloid A	Wtórna układowa amyloidozą

**KIERUNKI POSZUKIWAŃ NOWYCH LEKÓW
PRZECIWKO CHOROBIE ALZHEIMERA**

Obecnie ponad 600 substancji syntetycznych lub pochodzenia biologicznego znajduje się w mniej lub bardziej zaawansowanej fazie badań rozwojowych, które mają na celu wprowadzenie leków prawdziwie skutecz-

nych w chorobach neurodegeneracyjnych [7–9]. Potencjalne leki mają się wyłonić spośród agonistów i modulatorów neuronalnego nikotynowego receptora acetylocholinowego, inhibitorów i modulatorów esterazy acetylocholinowej, inhibitorów syntezy czynnika TNF- α , szczepionek leczniczych, antagonistów receptora NMDA, inhibitorów cyklooksygenazy 2, antagonistów receptorów muskarynowych M2 i M1, modulatorów glutaminowego receptora metabotropowego 1, agonistów PPAR- γ , antagonistów 5-HT6, agonistów 5-HT4, antagonistów 5-HT1a, agonistów GNRH, agonistów AMPA, antagonistów GABA B, inhibitorów PDE4, inhibitorów PAI, antagonistów czynnika Xa, inhibitorów kanałów wapniowych, modulatorów kanałów potasowych, antagonistów glikokortykoidów, agonistów ACTH, agonistów estrogenowych, antagonistów IL-1 β , antagonistów cytokinowych, inhibitorów kinazy tau, modulatorów immunofiliny, agonistów somatostatyny, inhibitorów przekształceń sfe-



Rycina 3. Powstawanie tarczek amyloidu β [2]

Tabela 2

Farmakoterapia choroby Alzheimera

I. Leczenie paliatywne	<ol style="list-style-type: none"> 1. Leki zwiększające aktywność metaboliczną tkanki mózgowej (środki nootropowe) 2. Leki wpływające na naczynia mózgowe (antagoniści wapnia) 3. Środki neuroprotektoryjne (zmiatacze wolnych rodników, środki przeciwutleniające, immunotrofiny, fosfolipidy, monoestry kwasu fosforowego, propentofilina)
II. Leczenie objawowe	<ol style="list-style-type: none"> 1. Środki anksjolityczne 2. Leki przeciwdepresyjne 3. Neuroleptyki 4. Leki nasenne
III. Leczenie substytucyjne	<ol style="list-style-type: none"> 1. Leki zwiększające stężenie acetylocholino w mózgu <ol style="list-style-type: none"> a. prekursorzy acetylocholino b. substancje o działaniu agonistycznym na receptory muskarynowe i nikotynowe c. inhibitory esterazy acetylocholino 2. Środki zwiększające stężenie amin biogennych <ol style="list-style-type: none"> a. substancje prekursorowe — proleki b. agoniści i antagoniści receptorów c. inhibitory enzymów degradacyjnych MAO i COMT 3. Środki zwiększające stężenia neuropeptydów mózgowych <ol style="list-style-type: none"> a. analogi naturalnych neuropeptydów b. inhibitory peptydaz (np. endopeptydazy proliny) 4. Substancje wpływające na stężenie aminokwasów <ol style="list-style-type: none"> a. modulatory GABA, kwasu glutaminowego (np. agonisty receptorów NMDA) b. modulatory aktywności receptorów metabotropowych
IV. Terapia skojarzona z użyciem środków o różnych mechanizmach działania	
V. Leczenie z użyciem środków działających pleiotropowo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Neuroimmunotrofiny roślinne i syntetyczne 2. Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) 3. Estrogeny 4. Środki chelatujące glin
VI. Środki zmniejszające syntezę białka τ (tau) i odkładanie się zlogów β -amyloidu oraz hamujące zwyrodnienie neurofibrylarne	



Wszystkie mechanizmy działania potencjalnych leków zakładają raczej prewencję lub zwolnienie rozwoju demencji niż możliwość odwrócenia szkód neurodegeneracyjnych

ronu, inhibitorów reduktazy rybonukleotydo-
wej, czynników chelatujących, modulatorów
fosfatazy tyrozynowej i innych. Jednak naj-
bardziej obiecującym mechanizmem działa-
nia potencjalnych leków antyalzheimerow-
skich, zwłaszcza z punktu widzenia profilak-
tyki, wydaje się hamowanie odkładania biał-
ka amyloidowego, modulacja amyloidu β , ha-
mowanie jego syntezy, hamowanie agregacji
białka tau oraz aktywności enzymów: beta
i gamma sekretazy [10–12].

Immunizacja za pomocą peptydu $A\beta$
(1-42) napotkała na problemy związane z wy-

woływaniem meningokokowo podobnych za-
paień mózgowych przez przeciwciała przeni-
kające barierę krew–mózg, co spowodowało
przerwanie prób klinicznych [13].

Wszystkie mechanizmy działania poten-
cjalnych leków zakładają raczej prewencję
lub zwolnienie rozwoju demencji niż możli-
wość odwrócenia szkód neurodegeneracyj-
nych. W AD można uzyskać poprawę spraw-
ności poznawczej za pomocą leków działa-
jących objawowo, ale niemożliwa jest napra-
wa ewidentnej destrukcji mózgu, występują-
cej w zaawansowanych stadiach choroby.



**Palenie tytoniu może być
rodzajem samoleczenia
w chorobach
neuropsychiatrycznych**

Dlatego realistyczna strategia terapeutyczna powinna się koncentrować na prewencji. Wydaje się, że połączenie leków działających profilaktycznie z właściwą dietą i redukcją szkodliwych czynników środowiskowych mogłoby poprawić epidemiologię AD, podobnie jak stało się to w przypadku chorób sercowo-naczyniowych.

**PRODUKTY NATURALNE A MOŻLIWOŚĆ
TERAPII LUB PREWENCJI CHOROBY
ALZHEIMERA**

Od czasu publikacji Molla [14] w 1926 roku zgromadzono obszerne piśmiennictwo wskazujące na to, że palenie tytoniu koreluje ujemnie z rozwojem choroby Parkinsona i może chronić przed rozwojem AD [15, 16]. Ponadto wyniki badań klinicznych wskazują, że palenie tytoniu może być rodzajem samoleczenia w chorobach neuropsychiatrycznych, takich jak: schizofrenia, ADHD (nieodór uwagi połączony z nadaktywnością), depresja, choroba Parkinsona i AD. W każdym razie, powszechność palenia tytoniu u schizofreników, obejmująca 74–92% pacjentów, jest uderzająca [17].

Korzystne działanie objawowe nikotyny u pacjentów z AD przypisuje się głównie stymulacji neuronalnego nikotynowego receptora acetylocholinowego, zwłaszcza jego subtypów $\alpha 7$ i $\alpha 4\beta 2$ [18]. Badano pod tym względem również metabolity nikotyny, kotyninę i nornikotyne, które także wydają się poprawiać funkcje poznawcze u ludzi i zwierząt doświadczalnych [19].

W niektórych gatunkach tytoniu występuje w dużych ilościach alkaloid nikotynowy — anabazyna. Do niej podobna jest anabazeina — trucizna wydzielana przez niektóre bezkręgowce. Pochodna syntetyczna anabazeiny, 3-[(2,4-dimethoxy)benzylideno]-anabazeina, okazała się selektywnym agonistą $\alpha 7$ nAChR, usprawniającym funkcje poznawcze [20].

Mniejsza zachorowalność na AD i niższe stężenia amyloidu β w płynie mózgowo-

rdzeniowym w populacji hinduskiej [21] wyzwoliły spekulacje na temat roli czynników środowiskowych oraz związanych ze stylem życia. Mówi się o prawdopodobieństwie korzystnego działania antyoksydantów, zwłaszcza polifenoli w diecie. Nawet z najbardziej renomowanych naukowych ośrodków europejskich, jak słynny *Karolinska Institutet* w Sztokholmie, pochodzą prace o znaczeniu diety dla epidemiologii AD, na przykład o możliwym wpływie zwiększonej zawartości kwasów omega-3 w diecie [12].

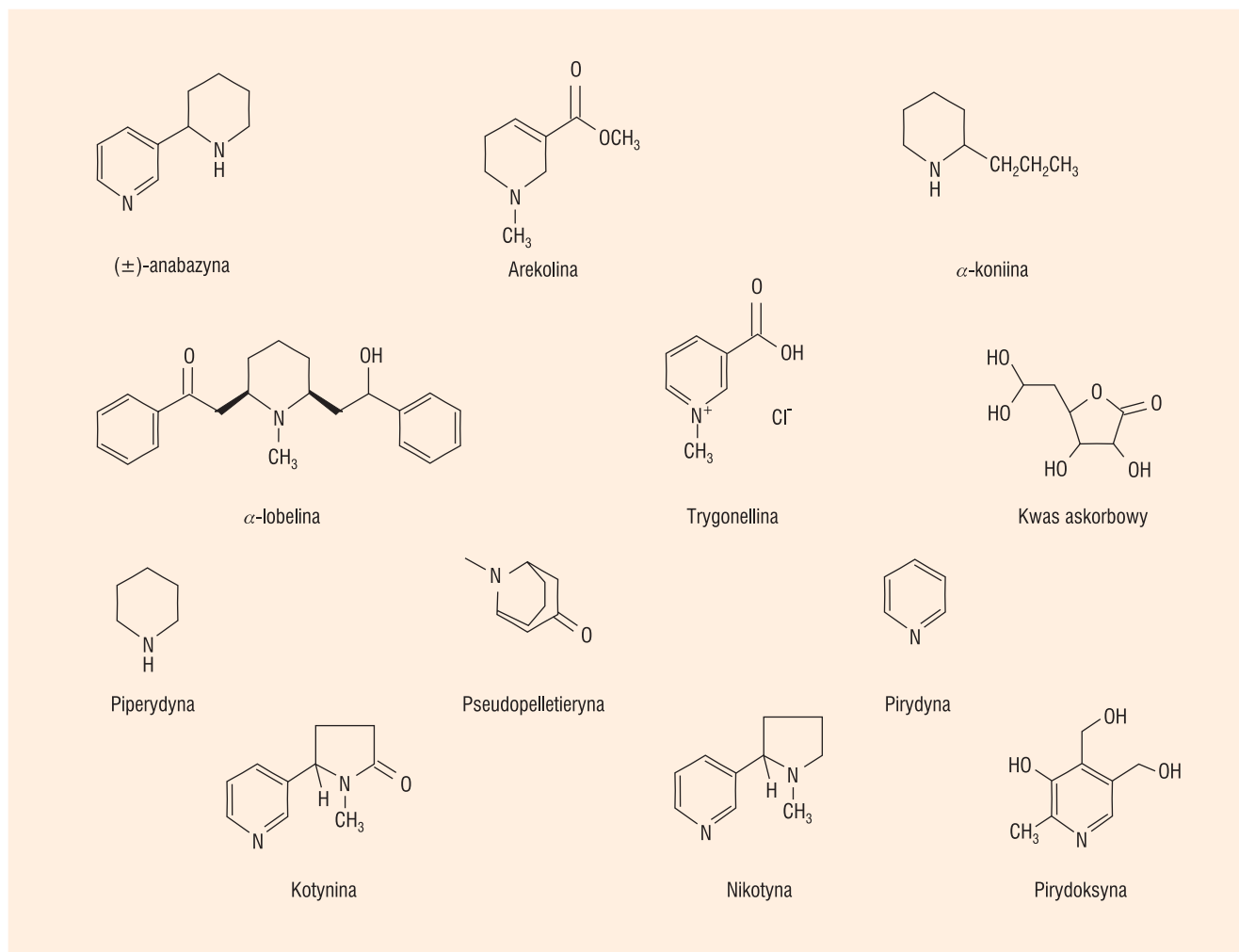
W Indiach, na Bliskim Wschodzie oraz wśród emigrantów z tych terenów powszechnym zwyczajem jest żucie betelu. Głównym składnikiem aktywnym w tej używce jest arekolina z orzeszków palmy katechowej *Areca katechu*. W badaniach klinicznych stwierdzono, że stosowanie arekoliny podanej dożylnie poprawiało sprawność poznawczą pacjentów z AD [22].

Istnieją doniesienia, że żucie liści stroiczki rozdętej (*Lobelia inflata*), zawierającej alkaloid piperidynowy — lobelinę, poprawia pamięć i zdolność uczenia się w sposób podobny do nikotyny [23].

Alkaloidem pirydynowym podobnym do nikotyny jest trygonellina, która występuje w znacznych ilościach w ziarnach kawy i nasionach kozieradki (*Trigonella foenum-graecum*). Nasionie kozieradki jest preparatem uwzględnianym w Aktualnej Farmakopei Europejskiej VIII. Jest to także powszechny składnik diety w Afryce Północnej i w Azji. Kiedyś kozieradkę na większą skalę uprawiano w Polsce. Wykazano, że trygonellina indukowała regenerację neuronów w hodowli nowotworowych komórek ludzkich SK-N-SH, a także poprawiała pamięć w eksperymentach na myszach [24].

**OZNACZANIE WIĄZANIA ALKALOIDÓW
PIRYDYNOWYCH I PIPERYDYNOWYCH
Z AMYLOIDEM β**

Potencjalne leki przeciwykroczowe muszą posiadać zdolność wiązania się



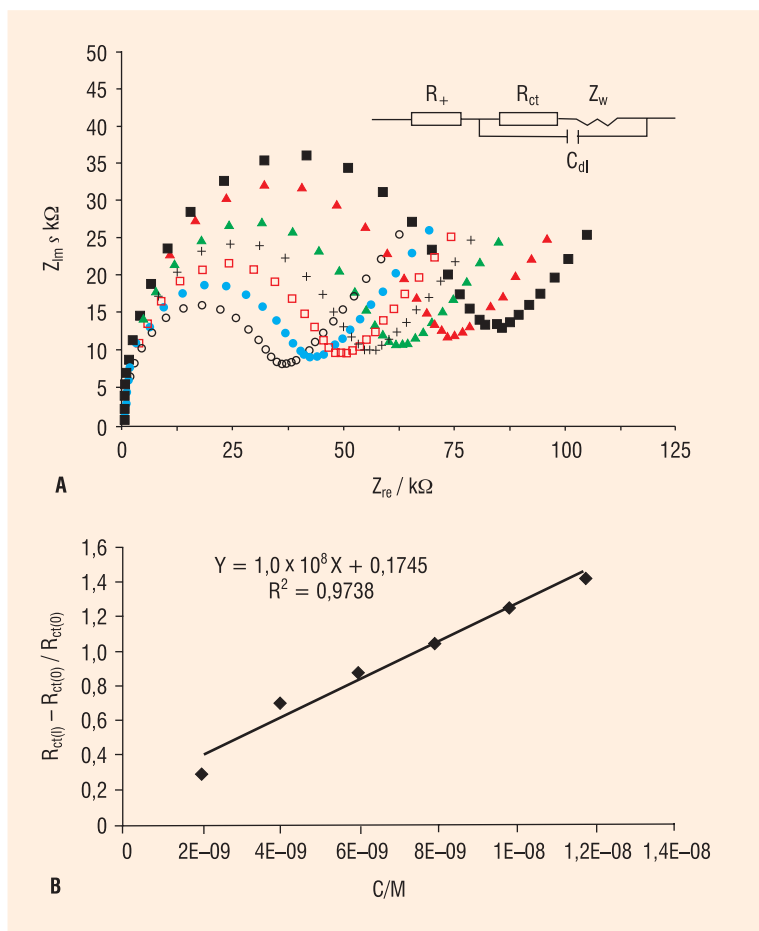
Rycina 4. Związki badane pod kątem oddziaływań z amyloidem β

z amyloidem β , aby mogły wpływać na jego losy w organizmie. Powinowactwo do amyloidu β nie jest warunkiem wystarczającym hamowania jego agregacji, ale jest warunkiem koniecznym. Dlatego możliwość dogodnego, szybkiego, niedrogiego i niewymagającego znacznych ilości odczynników oznaczania powinowactwa „kandydatów na leki” do potencjalnego celu molekularnego, jakim jest amyloid β , jest warunkiem wydajnych badań przesiewowych (HTS, *high-throughput screening*). Taką możliwość daje nowa metoda oparta na elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (ESI, *electrochemical impedance spectroscopy*) [25]. Metodę zastosowano [26] do oznaczania powinowactwa do amyloidu β wielu al-

kaloidów pirydynowych i piperydynowych, a także substancji odniesienia, pirydyny i piperydyny, oraz aktywnych biologicznie witamin, pirydoksyny i kwasu askorbowego, które nie powinny się wiązać z amyloidem.

Przykładowy obraz wyników analizy ESI oraz wyznaczania stałych asocjacji kompleksów kotynina–amyloid β na podstawie założeń adsorpcji Langmuira przedstawiono na rycinie 5.

Wyznaczone w eksperymencie stałe asocjacje badanych związków z amyloidem β (1–40) przedstawiono w tabeli 3. Są one wysokie: od $1,7 \cdot 10^7 \text{M}^{-1}$ dla (±) anabazyny do $2,3 \cdot 10^8 \text{M}^{-1}$ dla bromowodoru arekoliny. O tym, że mierzone oddziaływania są strukturalnie specy-



Rycina 5. A. Elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna. Krzywe przedstawiają wyniki pomiarów dla elektrody z immobilizowanym amyloidem β (1-40) (otwarte kółka) i po potraktowaniu elektrody wzrastającymi stężeniami (2, 4, 5,9, 7,9, 9,8 i 11,7 nM) kotyniny. **B.** Zależność langmuirowska oporności na stężenie kotyniny

ficzne, świadczy niemierzalna asocjacja kwasu askorbowego i pirydoksyny.

Dane dotyczące wiązania amyloidu β , otrzymane nową metodą EIS, mogą być przydatne przy projektowaniu antyalzheimerowkich środków terapeutycznych i profilaktycznych. Dzięki metodzie EIS można badać przesiewowo wiele związków w krótkim czasie i w stosunkowo mało kosztowny sposób. Spośród testowanych alkaloidów szczególnie interesująca wydaje się trygonellina. Zwłaszcza dlatego, że jest powszechnie przyjmowana jako środek spożywczy i składnik przypraw curry w Indiach, gdzie zachorowalność na AD jest mniejsza niż w świecie zachodnim.

PIŚMIENNICTWO

1. www.fluoridealert.org.www.oshu.edu
2. www.sigma-aldrich.com/cellsignaling
3. Garit E. Mechanistic studies of the process of amyloid fibrils formation by the use of peptide fragments analogues: implications for the design of fibrilization inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 2002; 9: 1725–1735.
4. Treheme J.M., Scopes D.I.C. Is amyloid-related toxicity an inevitable consequence of ageing? *Drug Discov. World* 2008; 9: 21–24.
5. Pużyński S. Współczesne poglądy na możliwości terapeutyczne w chorobie Alzheimera. W: *Choroba Alzheimera*. Leszek J. (red.). Volumes, Wrocław 1998: 191–211.
6. Frąckowiak T. Opracowanie elektroforetycznej metody oznaczania oddziaływań β -amyloidu z ligandami małowcząsteczkowymi (praca doktorska). Akademia Medyczna w Gdańsku, Gdańsk 2001: 11–41.
7. Kwon M.-O., Fischer F., Mathison M., Herrling P. List of drugs in development for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Dis.* 2004; 1: 113–152.
8. Kwon M.-O., Herrling P. List of drugs in development for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Dis.* 2005; 2: 61–108.
9. Pogacić V., Herrling P. List of drugs in development for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Dis.* 2007; 4: 443–486.
10. Selkoe D.J. Alzheimer's disease: genotypes, phenotype, and treatment. *Science* 1997; 275: 630–631.
11. Mason J.M., Kokkoni N., Stott K., Doig A.J. Design strategies for anti-amyloid agents. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2003; 13: 526–532.

Tabela 3

Stałe dysocjacji kompleksów badanych związków z β -amyloidem

Alkaloid	Stała asocjacji K_a [M^{-1}]
(\pm)-anabazyna	$K_a = 1,7 \pm 0,6 \times 10^7$
Arekolina	$K_a = 2,3 \pm 0,6 \times 10^8$
(\pm)-koniina	$K_a = 1,7 \pm 0,6 \times 10^8$
α -lobelina	$K_a = 0,9 \pm 0,1 \times 10^8$
Trigonellina	$K_a = 2,8 \pm 4,5 \times 10^7$
Piperydyna	$K_a = 1,7 \pm 0,6 \times 10^8$
Pseudopelletieryna	$K_a = 5,7 \pm 4,9 \times 10^7$
Pirydyna	$K_a = 1,2 \pm 0,8 \times 10^8$
Nikotyna	$K_a = 0,8 \pm 0,3 \times 10^8$
Kotynina	$K_a = 1,0 \pm 0,3 \times 10^8$

12. Freund-Levi Y., Basun H., Cederholm T. i wsp. omega-3 supplementation in mild to moderate Alzheimer's disease: effects on neuropsychiatric symptoms. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 2008; 23: 161–169.
13. Cohen F.E., Kelly J.W. Therapeutic approaches to protein-misfolding diseases. *Nature* 2003; 426: 905–909.
14. Moll H. The treatment of post-encephalitic parkinsonizm by nicotine. *Br. Med. J.* 1926; 1: 1079–1084.
15. Picciotto M.R., Zoli M. Neuroprotection via nAChRs: the role of nAChRs in neurodegenerative disorders such as Alzheimer's and Parkinson's disease. *Frontiers in Bioscience* 2008; 13: 492–504.
16. Fratiglioni L., Wang H.-X. Smoking and Parkinson's and Alzheimer's disease: review of epidemiological studies. *Behav. Brain Res.* 2000; 113,: 117–120.
17. Adler L.E., Olincy A., Waldo M. i wsp. Schizophrenia, sensory gating, and nicotinic receptors. *Schizophr. Bull.* 1998; 24: 189–202.
18. Levin E.D., McClernon F.J., Rezvani A.H. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacol.* 2006; 184: 523–539.
19. Tutka P., Mosiewicz J., Wielosz M. Pharmacokinetics and metabolism of nicotine. *Pharmacol. Rep.* 2005; 57: 143–153.
20. Kem W.R., Mahnir V.M., Prokai L. i wsp. Hydroxy metabolites of the Alzheimer's drug candidate 3[(2,4-dimethoxy)benzylidene]-anabaseine dihydrochloride (GTS-21); their molecular properties, interactions with brain nicotinic receptors, and brain penetration. *Mol. Pharmacol.* 2004; 65: 56–67.
21. Subramanian S., Sandhyarani B., Divya Shree A.N. i wsp. Lower levels of cerebrospinal fluid amyloid β ($A\beta$) in non-demented Indian controls. *Neurosci. Lett.* 2006; 407: 121–123.
22. Asthana S., Greig N.H., Holoway H.W. i wsp. Clinical pharmacokinetics of arecoline in subjects with Alzheimer's disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1996; 60: 276–282.
23. Dwoskin L.P., Crooks P.A. A novel mechanism of action and potential use for lobeline as a treatment for psychostimulant abuse. *Biochem. Pharmacol.* 20002; 63: 89–98.
24. Tohda C., Kuboyama T., Komatsu K. Search for natural products related to regeneration of the neuron at network. *Neurosignals* 2005; 14: 34–45.
25. Szymańska I., Radecka H., Radecki J., Kaliszan R. Electrochemical impedance spectroscopy for study of amyloid β -peptide interactions with (–) nicotine ditartrate and (–) cotinine. *Biosens. Bioelectron.* 2007; 22: 1955–1960.
26. Grabowska I., Radecka H., Burza A., Radecki J., Kaliszan M., Kaliszan R. Association constants of pyridine and piperidine alkaloids to amyloid beta peptide determined by electrochemical impedance spectroscopy. *Curr. Alzheimer Res.* 2010; 7: w druku.