

УТИЦАЈ
1-МЕТИЛ-4-ФЕНИЛ-1,2,3,6-ТЕТРАГИДРОПИРИДИНА НА
ЧОВЕКОВ ОРГАНИЗАМ
THE
1-METHYL-4-PHENYL-1,2,3,6-TETRAHYDROPYRIDINE
EFFECT ON HUMAN BODY

Аутор:

АНДРЕА ЈОВАНОВИЋ

*4. разред, Гимназија “Урош Предић”, Панчево, Регионални центар за таленте
“Михајло Путин”, Панчево*

Ментор:

АЛЕКСАНДРА НОВИЋЕВИЋ

професор хемије, Гимназија “Урош Предић”, Панчево

РЕЗИМЕ: 1982. године, седам младих особа оболело је од тешког и неизлечивог облика паркинсонизма, након конзумације нове врсте синтетског хероина. Испоставило се да иза ове трагедије стоји потенцијални неуротоксин, једноставне структуре, чији је назив 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахиdropиридин (МПТП). Његово откриће изазвало је револуционарне промене у приступу истраживања Паркинсонове болести, што је довело и до промена у начину испитивања ове болести на животињама. Овај рад се бави синтезама 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахиdropиридина и 1-метил-4-фенил-4-пропионокси пиперидина, као и механизмима деловања 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахиdropиридина на човеков организам.

КЉУЧНЕ РЕЧИ: МПТП-индуковани паркинсонизам, црна супстанца, 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахиdropиридин, 1-метил-4-фенилпиридинијум

ABSTRACT: In 1982, seven young people became ill with a severe and incurable form of parkinsonism after consuming a new type of synthetic heroin. It turned out that behind this tragedy is a potential neurotoxin, with a simple structure, whose name is 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Its discovery brought revolutionary changes in the approach to Parkinson's disease research, which also led to changes in the way this disease is studied on animals. This paper will describe the synthesis of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and 1-methyl-4-phenyl-4-propionoxypiperidine, as well as the mechanisms of action of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine on the human body.

KEYWORDS: MPTP-induced parkinsonism, substantia nigra, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, 1-methyl-4-phenylpyridinium

УВОД

Посматрање групе младих пацијената који су се појавили са тешким обликом паркинсонизма, довело је до открића да је узрок болести био 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридин (МПТП)¹, неуротоксин, једноставне структуре, који селективно оштећује црну супстанцу. Сви симптоми су изгледали као типична Паркинсонова болест, осим што су у питању били млади људи. МПТП је послужио као средство за изазивање паркинсонизма код експерименталних животиња и остао је “златни стандард” модела за проучавање Паркинсонове болести. [1]

Паркинсонова болест је поремећај мозга који узрокује нежељене или неконтролисане покрете, попут дрхтања, укочености и проблема са равнотежом и координацијом. Симптоми се постепено развијају и временом се погоршавају. Како болест напредује, људи могу имати потешкоће у ходању и говору. Такође, могу се јавити и менталне промене, као и промене у понашању, проблеми са спавањем, депресија, потешкоће са памћењем и осећај умора. [2]

Иако се симптоми могуће Паркинсонове болести могу пронаћи у врло раним документима, први јасан медицински опис, написао је James Parkinson 1817. године. Много раније, традиционални индијски текстови из приближно 1000. година п.н.е. и древни кинески извори, такође пружају описе који сугеришу на Паркинсонову болест. Историјска расправа о Паркинсоновим поремећајима, који се често мешају са Паркинсоновом болести, укључује и случајеве изазване лековима и токсинима. Увођење антипсихотика, првобитно названих неуролептицима, довело је до великих побољшања у шизофреним и другим психотичним понашањима, али је изазвало паркинсонизам веома сличан Паркинсоновом обољењу. Касније откриће да ови лекови блокирају допаминске рецепторе у стријатуму², довело је до развоја антипсихотика са мањом склоношћу блокирања стријаталних рецептора и мањом склоношћу ка изазивању паркинсонизма. [1]

Откриће 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридина

1-метил-4-фенил-4-пропионоксипиперидин (МППП)³, синтетичка је дрога која је први пут објављена у *Journal of Organic Chemistry* 1947. године од стране Alberta Zieringa и Johna Leeја из фармацеутске компаније Хофман ла Рош.

Синтетичка дрога базира се на структури постојеће дроге, која може бити природно издвојена из биљке (попут кокаина и морфина) или бити синтетичка (попут амфетамина), али са мало другачијом структуром дизајнираном да је учини тешко видљивом у рутинским тестовима дрога. [3]

МПТП је настао као нуспроизвод синтезе опиоидног аналгетика МППП-а, аналога меперидина (петидин, демерол)⁴. Почевши од 1950-их, МПТП је тестиран на људима и животињама због могућих антихолинергијских⁵, антихипертензивних, па чак и антипаркинсонских ефеката. [4]

¹ У наставку рада ћу користити скраћеницу МПТП за 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридин.

² Стријатум(corpus striatum) је главна компонента базалних ганглија. Он прима податке из многих подручја мозга и шаље излаз другим компонентама базалних ганглија.

³ У наставку рада ћу користити скраћеницу МППП за 1-метил-4-фенил-4-пропионоксипиперидин.

⁴ Меперидин је опиоидни аналгетик који припада класи фенилпиперидина.

⁵ Антихолинергијски ефекат представља ефекат инхибиције парасимпатичких нервних импулса, блокирањем везивања неуротрансмитера ацетилхолина за рецепторе у нервним ћелијама.

1976. године дипломирани хемичар Barry Kidston изненада је развио Паркинсонову болест, када је имао само 23 године. Након дугогодишње злоупотребе различитих дрога, дошао је на идеју да се опроба у њиховој синтези. Откривши извештај о МППП-у из 1947. године, заинтересовао се за ово једињење. Поновио је његову синтезу неколико пута, а затим је предузео неке пречице у поступку његовог добијања након чега је изгубио моћ говора и развио стање тешке укочености, слабости, тремора, равне фацијалне експресије и промењених сензорних способности, не могавши да говори. Био је примљен у психијатријску установу. Након третмана са неколико лекова, укључујући леводопу⁶, његово стање се побољшало. Примао је низ лекова све док, септембра 1978. године, није пронађен мртав од предозирања кокаином и кодеином. Обдукција мозга открила је велико уништење нервних ћелија у региону црне супстанце, што се такође приметило код пацијената са Паркинсоновом болешћу. Испитивањем његове лабораторије откривен је, не само МППП, већ и нечистоћа која се формирала на високим температурама, МПТП. Ово је тестирано на пацовима, али без откривања било каквих симптома Паркинсонове болести, па је узрок остао мистерија. [3]

1982. године, човек је доведен у болницу у Заливској области Калифорније у чудном стању. Био је потпуно непокретан и “замрзнут” попут статуе. Прво му је дијагностикована кататонична шизофренија, која се одликује стањем укочености. Међутим, др William Langston је замољен да испита пацијента и брзо је дошао до закључка да пацијент има Паркинсонову болест, а не шизофренију. Ово је била изненађујућа дијагноза. Иако је Паркинсонова болест делимично окарактерисана моторним сметњама као што су тремор и ригидност, то је прогресивна болест, што значи да њени симптоми постепено напредују током година. Додатно, ови симптоми обично се појављују око 60. године, а George Carillo је прешао из здравог стања у кататонично за само неколико дана и био је релативно млад. Током неколико недеља, још пет особа које су биле у сличном стању стигле су у болнице Заливске области. [5]

Одмах након инјекције контаминираног МППП-а, ови људи су знали да нешто није у реду. Рука их је пекла као да њиховим венама тече ужарено олово. Након тога, доживели су еуфорију, понекад праћену дезоријентацијом, пролазним визуалним илузијама или халуцинацијама. Током наредних неколико недеља, ова реакција је праћена постепеним развојем типичних Паркинсонових симптома, укључујући успореност покрета, поремећај гутања, говорне сметње, тремор... У наступајућој хроничној паркинсонској фази, пацијенти су показивали све кључне моторне карактеристике идиопатске Паркинсонове болести, као и замрзавање, парадоксалну кинетику, дистонично постављање трупа или удова и савијену постуру.

Такође, ови пацијенти испољавају поједине когнитивне абнормалности које се срећу и код Паркинсонове болести, али не развијају неке од немоторних абнормалности попут дисфункције мириса. Обојели реагују на уобичајене антипаркинсонске лекове, попут леводопе и агониста допаминских рецептора. [4] Међутим, због озбиљних нуспојава које је леводопа изазивала, неколико пацијената се подвргло експерименталним хируршким операцијама мозга. Извршена је трансплантација ћелија црне супстанце, из абортираних фетуса у оштећене делове мозга, након чега су они повратили већину својих моторичких способности.

МПТП-индуковани паркинсонизам код људи је хронично прогресивно стање. Након смрти једног од шест пацијената, извршена је обдукција мозга. Уочено је да нервне ћелије црне супстанце настављају да умиру, иако је од уноса МПТП-а прошло више од

⁶ L-3,4-дихидроксифенилаланин (леводопа) је психоактивни лек који се користи у клиничком третману Паркинсонове болести. Представља прекурсор неуротрансмitera допамина, норепинефрина и епинефрина.

12 година. Ово запажање, уколико се потврди код већег броја пацијената, наводи на закључак да би кратка изложеност токсину у природи могла да покрене прогресиван процес који би се тек након неколико година испољио као болест. [6]

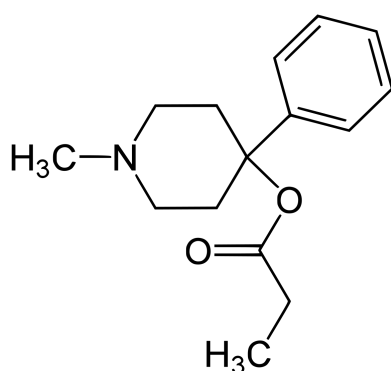
Године 1983. први пут је пријављено да МППП третман код примата изазива абнормалности у покрету сличне онима виђеним код Паркинсонове болести. Поред тога, показано је да МППП изазива деплецију(трошење) допамина код мишева, као и да селективно убија ћелије у црној супстанци, области мозга важној за радње као што су контрола кретања и учење. Употреба токсина код мишева значајно је помогла разјашњавању његовог механизма деловања, па се МППП често користи за фармаколошке и молекуларне или генетске експерименте. [4]

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДА РАДА

У овом раду писаћу о механизму штетног дејства МППП-а на човеков организам. Бавићу се његовом структуром и синтезом из МППП-а. Такође, упоредићу структуру МППП-а и 1-метил-4-фенилпиридинијума(МППП⁺) са хербицидима који се користе широм света и представљају фактор ризика за развој Паркинсонове болести.

РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА И ДИСКУСИЈА

Структура и синтеза 1-метил-4-фенил-4-пропионоксипиперидина (МППП)



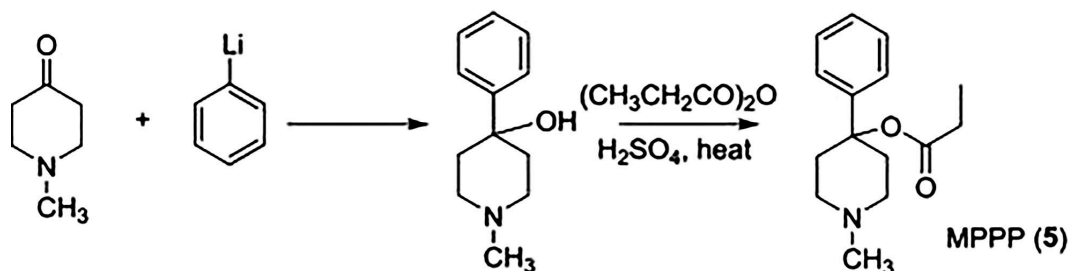
Молекулска формула: $C_{15}H_{21}NO_2$

Моларна маса: 247,33 g/mol

Опис молекула: МППП је органски молекул који се састоји из N-метилпиперидинског прстена. За његов четврти угљеников атом везане су фенил група и пропаноатна група, лако одлазећа карбоксилатна група.

СЛИКА 1. Структура МППП-а
FIGURE 1. MPPP structure

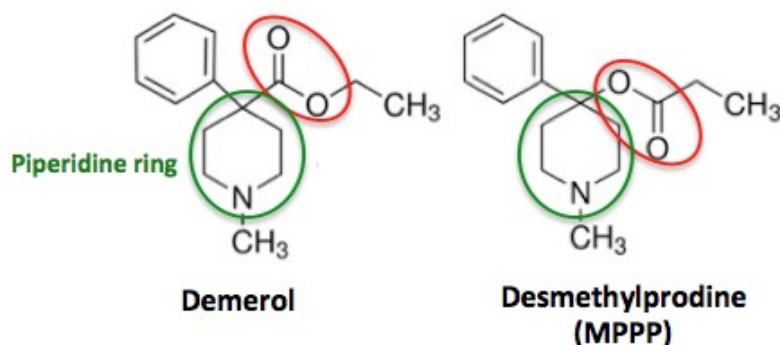
Прекурсор синтезе МППП-а је 1-метил-4-пиперидион.



СЛИКА 2. Синтеза МППП-а
FIGURE 2. MPPP synthesis

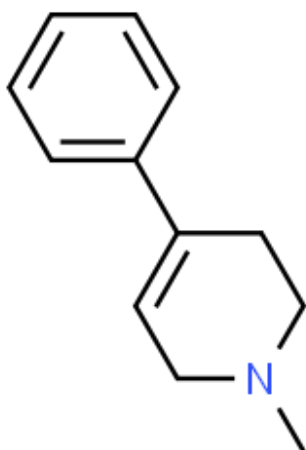
У реакцији са фенил-литијумом, ствара се међупроизвод 4-фенил-1-метил-4-хидроксопиперидин. Он затим реагује са пропананхидридом, у присуству сумпорне киселине и на повишеној температури. При овој реакцији настаје 1-метил-4-фенил-4-пропионоксипиперидин, а како би се спречило стварање других токсина неопходно је да температура не прелази 30°C.

Интересантно је напоменути да је МППП структурни изомер меперидина (познат и као демерол или петидин), који се разликује у положају естарске групе. Он има слично, али слабије психоактивно дејство као и меперидин (меперидин има слично дејство као морфин).



СЛИКА 3. Структура меперидина и МППП-а
FIGURE 3. Meperidine and MPPP structures

Структура и синтеза 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридина (МППП)



Молекулска формула: C₁₂H₁₅N

Моларна маса: 173,25 g/mol

Структура:

МППП мали је молекул, органског порекла и једноставне структуре. Састоји се из тетрахиdropиридинског прстена, за чији атом азота је везана метил група, а за четврти угљеников атом фенил група.

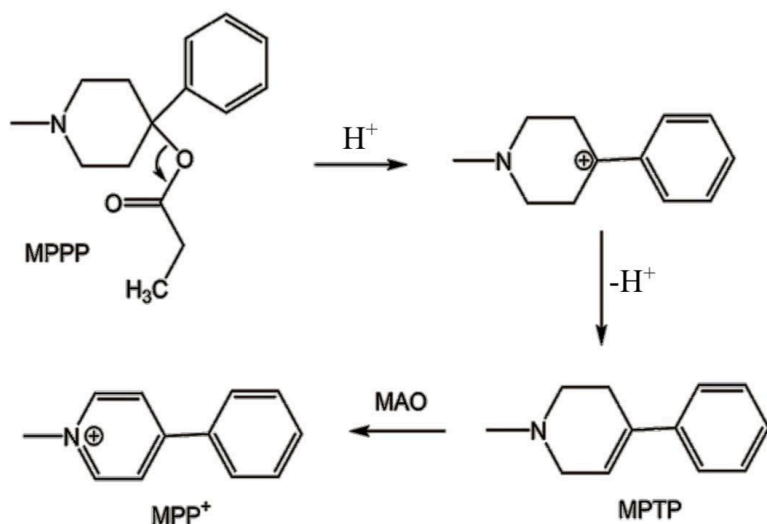
СЛИКА 4. Структура МППП-а
FIGURE 4. MPTP structure

Уколико се синтеза МППП-а одвија на температури изнад 30°C или при ниској рН вредности, доћи ће до елиминационе реакције и издвајања МППП-а.

МППП садржи терцијарни угљеник, који лако елиминише пропаноатну групу (лако одлазећа карбоксилатна група) да би створио терцијарни карбокатјон. Затим губи H⁺ јон, при чему се ствара двострука веза између трећег и четвртог угљениковог атома.

Механизам деловања 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридина на човеков организам

Откривено је да МПТП сам по себи није токсичан, иако као липофилно једињење лако пролази крвно-моздану баријеру и стиже до ћелија мозга.



Када се нађе у мозгу ензими моноамин-оксидазе Б(МАО Б)⁷ га грешком препознају као неуротрансмитер допамин. Тако се МПТП оксидује у астроцитама⁸, формирајући МПП⁺ који је одговоран за оштећење неурона. [3] МПП⁺ убија ћелије везивањем за митохондрије и њиховим оштећењем. [5] Када достигне токсичне нивое у митохондријама, инхибира комплекс 1 митохондријалног респираторног ланца⁹. [7]

СЛИКА 5. Синтеза МПТП-а и МПП⁺
FIGURE 5. Synthesis of MPTP and MPP⁺

Блокада митохондријске респирације има две цитотоксичне последице. Прво, она угрожава формирање АТП-а, резултирајући у инхибицији енергијом-зависних процеса као што је транспорт јона. Заправо, оштећење хомеостазе калцијум-јона игра виталну улогу у токсичности МПП⁺. Ово резултира повишеним нивоима интрацелуларног Ca²⁺, што доводи до активације Ca²⁺-зависних ензима, који нарушавају нормалну функцију ћелије, што резултира ћелијским оштећењем. Друго, МПП⁺ подржава појаву оксидативног стреса. Предлаже се да МПП⁺ и митохондријски никотинамид-аденин-дионуклеотид(NADH) дехидрогеназа производе токсичне хидроксил радикале који потичу из водоник-пероксида.

МПТП имитира још једну фундаменталну биохемијску промену у црној супстанци у Паркинсоновој болести, а то је смањење садржаја глутатиона, као што је уочено код глодара. [8] Ове промене доводе до смрти ћелија.

Многи допамински неурони мозга налазе се у црној супстанци, делу мозга који је такође важан за иницирање и контролу кретања. Паркинсонова болест се карактерише масовном, прогресивном смрћу допаминских неурона у црној супстанци. Управо ова смрт ћелија у црној супстанци изазива моторичке симптоме Паркинсонове болести.

МПП⁺ изазива смрт допаминских неурона у црној супстанци, што указује на то да МПП⁺ некако селективно уништава допаминске неуроне.

⁷ МАО-Б је ензим који у мозгу оксидује неуротрансмитер допамин.

⁸ Астроците су ћелије које обезбеђују хранљиве материје нервном ткиву.

⁹ Комплекс 1 или NADH-Q-оксидоредуктаза катализује оксидацију NADH помоћу коензима Q.

Једна од ствари која разликује допаминске неуроне од осталих типова неурона је то што имају допамински транспортер, који рециклира допамин из синапсе назад у ћелију како би се могао поново користити.

МПП⁺ има хемијску структуру која је довољно слична допамину да допамински транспортер преноси МПП⁺ као и допамин унутар ћелије. Тако, пошто је МПП⁺ унет само у допаминске неуроне, само ти неурони умиру, водећи до селективне смрти допаминских неурона у црној супстанци, исто као и код Паркинсонове болести.

МПП⁺ и допамин се транспортују допаминским транспортером у неурон. Једном када уђе у допаминске аксоне, МПП⁺ се акумулира у цитоплазми где формира комплекс са неуромеланином. Он се затим складишти у допаминским везикулама, преко везикуларног моноаминског транспортера типа 2. Из везикула се ослобађа у цитоплазми где може ући у митохондрије. Одавде, МПП⁺ руши електронски транспортни ланац митохондрија, спречавајући их да обезбеде енергију за ћелију и такође нарушава функцију разних ензима. [5] [9]

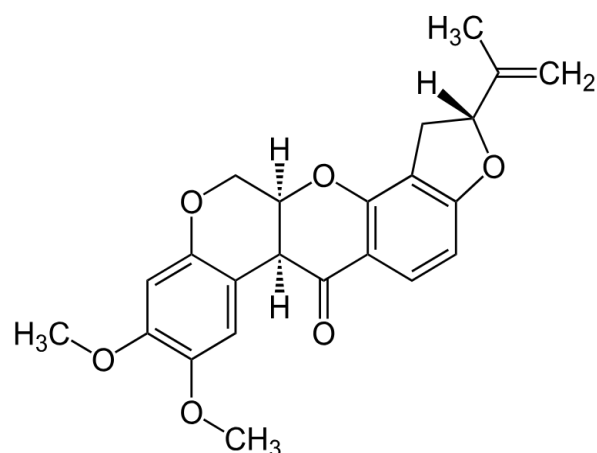
Токсини слични 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрахидропиридину

С обзиром да се МПП не може наћи у природи јасно је да он није одговоран за настанак Паркинсонове болести. Такође, постоје и симптоми који се разликују код Паркинсонове болести и МПП-индукованог паркинсонизма. Такви су тремор током мировања који је карактеристичан за Паркинсову болест, а не јавља се код МПП-индукованог паркинсонизма.

Такође, неуродегенерација неурона црне супстанце и манифестација клиничких симптома Паркинсонове болести су прогресивни. За разлику од тога, развој симптома сличних Паркинсовој болести након изложености МПП-у је акутан. Због ових разлика научници сумњају да постоје токсини, који су сличне структури МПП-а, а који су далеко распрострањенији у природи. Они делују путем различитих механизма, али сви изазивају промене у функционисању митохондрија. [7]

Пестицид ротенон

Изложеност природном пестициду, познатом као ротенон, показала је повећан ризик од Паркинсонове болести. Ротенон је пестицид чија је употреба широко распрострањена у свету, а када се унесе у организам има

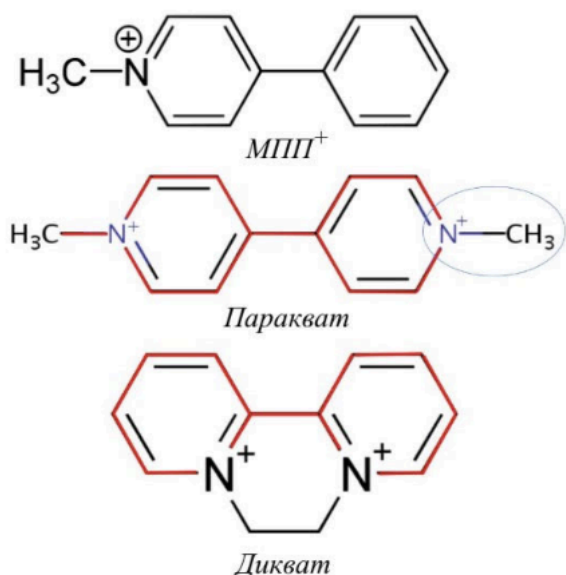


СЛИКА 6. Ротенон
FIGURE 6. Rotenone

сличан механизам деловања као и МПП. Он је липофилно једињење које лако пролази крвно-моздану баријеру, услед чега улази у нервне ћелије и интрацелуларне органеле, без помоћи транспортера. Он блокира место за везивање убихинона на комплексу 1, спречавајући прелазак електрона са комплекса 1 до убихинона што резултира појавом слободних радикала у матриксу митохондрија. Ово доводи до оксидативног стреса и дисфункције митохондрија. [10]

Пестициди паракват и дикват

Паракват и дикват су пестициди који су у вези са Паркинсоновом болести, као њени потенцијални изазивачи. Када се њихова структура упореди са структуром МПП⁺-а и МПП⁺ могу се уочити извесне сличности. Међутим, за разлику од ротенона и МПП⁺-а, ови пестициди не инхибирају комплекс 1 и не транспортују се преко допаминских транспортера. То значи да постоји алтернативни механизам преко којег они изазивају ћелијску смрт. Иако тачан механизам није откривен, познато је да се паракват у митохондријама редукује до паракват радикала који могу да реагују са кисеоником и створе слободне радикале. То доводи до оксидативног стреса и дисфункције митохондрија. [10]



МПП⁺ и паракват имају сличне структуре, чиме се објашњава и њихово слично дејство на човеков организам. Оба ова молекула имају пиридински прстен за чији атом азота је везана метил група. Међутим, оно што их разликује је група која је везана за четврти угљеников атом пиридинског прстена. Код МПП⁺ је то фенил група, док је код параквата у питању 1-метилпиридинијум.

Дикват је пиридински хербицид. Он се састоји из два пиридинска прстена који су повезани преко два атома угљеника и који у свом прстену садрже по један позитивно наелектрисан атом азота. Са друге стране МПП⁺ има пиридински прстен са позитивно наелектрисаним атомом азота, за чији је атом угљеника везана фенил група.

СЛИКА 7. Структуре МПП⁺, параквата и диквата
FIGURE 7. MPP⁺, paraquat and diquat structures

ЗАКЉУЧАК

МППП је молекул који је знатно помогао у разумевању Паркинсонове болести, што је довело до развоја нових модела за њено истраживање. Он сам по себи није токсичан, али његов оксидовани облик МПП⁺ доводи до дисфункције митохондрија. Схватање начина функционисања овог молекула, довело је до открића пестицида који делују на сличан начин због чега могу представљати потенцијалне изазиваче Паркинсонове болести. Ови молекули су доказ да не можемо бити сигурни како ће се поједина једињења понашати у нашем организму, само на основу њихове структуре. Ова прича о случају “замрзнутих зависника” представља упозорење да некада треба обратити пажњу на мале молекуле, јер никада не знате каква се моћ крије иза њихове једноставне структуре.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Christopher G. Goetz, *The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies*, "Cold Spring Harb Perspect Med.", 2011 Sep.
- [2] *Parkinson's Disease: Causes, Symptoms, and Treatments*, 2022.
<https://www.nia.nih.gov/health/parkinsons-disease/parkinsons-disease-causes-symptoms-and-treatments> преузето са овој сајта 4.4.2024.
- [3] Simon Cotton, *MPPP-Molecule of the Month August 2023*, "University of Birmingham"
- [4] T. Wichmann, M.R. DeLong, *MPTP Parkinsonism Model*, "Encyclopedia of Neuroscience", "Academic Press", 2009, 1077-1081
- [5] Drew Schreiner, *Mind your P'S and T'S: how tainted drugs revolutionized Parkinson's research*, "NeuWrite San Diego", 2018
(<https://neuwritesd.org/2016/08/18/mind-your-ps-and-ts-how-tainted-drugs-revolutionized-parkinsons-research/>) преузето са овој сајта 4.4.2024.
- [6] J.W. Langston, J. Palfreman, *The Case of the Frozen Addicts*, "IOS Press", 2014.
- [7] J. William Langston, *The MPTP Story*, "Journal of Parkinson's Disease", 2017; 7(Suppl 1): S11-S19
- [8] George J. Siegel, Bernard W. Agranoff, R. Wayne Albers, Stephen K. Fisher, Michael D. Uhler, *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects: 6th Edition*, "Lippincott Williams & Wilkins"
- [9] L. Pasquali, E. Caldarazzo-Ienco, F. Fornai, *MPTP Neurotoxicity: Actions, Mechanisms, and Animal Modeling of Parkinson's Disease*, "Handbook of Neurotoxicity", 237-275.
- [10] P.C. Keane, M. Kurzawa, P.G. Blain, C.M. Morris, *Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease*, "Parkinson's Disease", 2011.