

## TỔNG HỢP CÁC DẪN CHẤT 1-(3-METHOXY-4(4-PYRIDINYL)ALKYLOXY)PHENYL)-3-(3-(5-METHYL-1H-IMIDAZOL-1-YL)PROPYL)THIOURE MỚI HƯỚNG ỨC CHẾ ENZYME GLUTAMINYL CYCLASE

Trần Phương Thảo<sup>1</sup>; Hoàng Văn Hải<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

*Mục tiêu:* thiết kế, tổng hợp và thử tác dụng ức chế enzym glutaminyl cyclase của các dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure mới. *Đối tượng và phương pháp:* tổng hợp các chất mục tiêu dựa trên phản ứng hóa học thông thường. Cấu trúc các chất được khẳng định bằng phương pháp phổ. Tác dụng ức chế enzym glutaminyl cyclase được tiến hành bằng phép đo huỳnh quang. *Kết quả và kết luận:* đã tổng hợp, tinh chế thành công 6 dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure. Các chất đều được khẳng định cấu trúc bằng 1H-NMR và MS cũng như thử tác dụng ức chế glutaminyl cyclase với kết quả IC<sub>50</sub> từ 4,5 - 22,5 nM.

\* Từ khóa: Bệnh Alzheimer; Enzym glutaminyl cyclase; Ức chế glutaminyl cyclase; Pyridinyl.

### **Synthesis of New 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thiourea Derivatives as Glutaminyl Cyclase Inhibitors**

#### Summary

*Objectives:* To design, synthesize and evaluate the glutaminyl cyclase inhibition activity of new 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thiourea derivatives. *Subject and method:* The desired compounds were obtained via general reactions and were confirmed structures by proton NMR spectra, mass spectra. Glutaminyl cyclase inhibitor activity was performed by fluorometrical assay. *Result and Conclusion:* 6 novel 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thiourea derivatives were synthesized. All structures were confirmed by 1H-NMR and MS. 6 compounds showed the potent glutaminyl cyclase inhibitors activity with and IC<sub>50</sub> value from 4.5 to 22.5 nM.

\* *Keywords:* Alzheimer's disease; Glutaminyl cyclase; Glutaminyl cyclase inhibitors; Pyridinyl.

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

2. Đại học Quốc gia Seoul

**Người phản hồi (Corresponding):** Trần Phương Thảo (thaotp119@gmail.com)

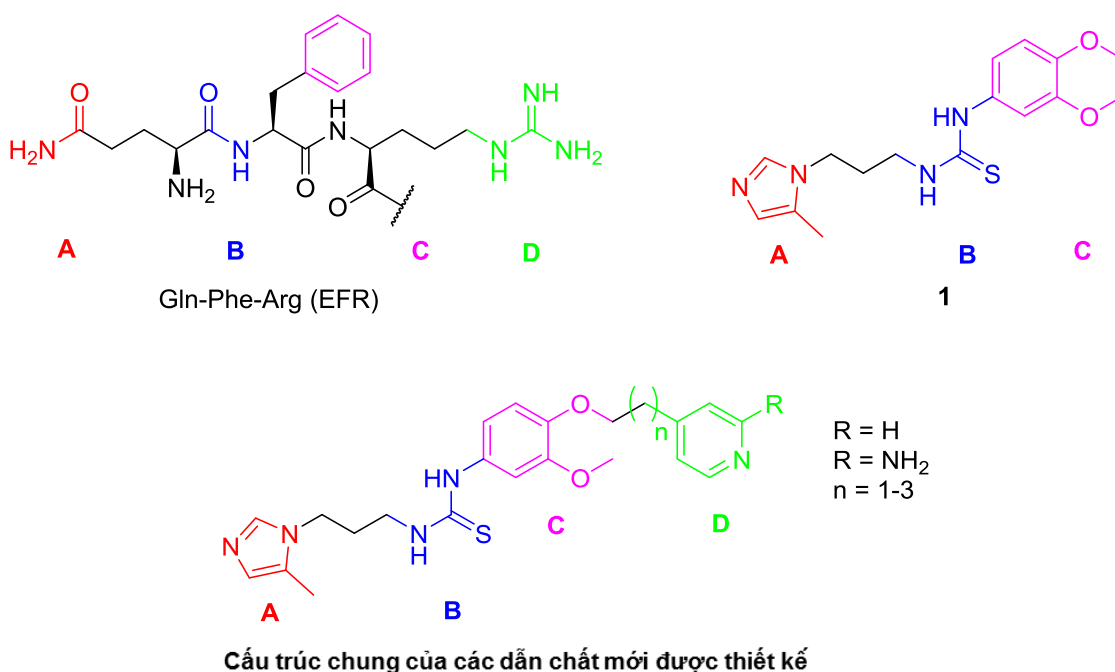
**Ngày nhận bài:** 20/12/2018; **Ngày phản biện đánh giá bài báo:** 10/01/2019

**Ngày báo được đăng:** 22/01/2019

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

Glutaminyl cyclase (QC, EC 2.5.2.3) là enzym xúc tác quá trình đóng vòng nội phân tử các peptid có chứa glutamin hoặc axit glutamic thành  $\beta$ -lactam tại đầu gắn N [3, 4]. Các mảng bám amyloid (amyloid beta-A $\beta$ ) là một trong hai “nghi phạm chính” gây ra bệnh Alzheimer, tạo thành từ peptid amyloid beta thông qua một quá trình có glutaminyl cyclase tham gia. Cụ thể, amyloid beta bị cắt bởi enzym aminopeptidase tại vị trí số 3 hoặc số 11 để giải phóng glutamat cho quá trình đóng vòng tiếp theo tạo thành pyroglutamat thông qua QC. Quá trình này loại bỏ hai hoặc ba điện tích trên phân tử peptid, tăng độ thân dầu cũng như tăng khả năng kháng aminopeptidase và tăng quá trình kết tập tạo mảng bám [5, 6, 7, 8]. Do đó, hoạt động quá mức của QC là một quá trình bệnh sinh của bệnh Alzheimer, cũng

như ngăn chặn việc tạo thành các mảng bám thông qua ức chế QC được coi là một phương pháp điều trị bệnh. Các nghiên cứu trước đây dựa trên cấu trúc cơ chất của QC (EFR) đã đưa ra “pharmacophore” của chất ức chế QC bao gồm 4 phần chính: nhóm liên kết với ion kẽm imidazol (phần A); nhóm chứa liên kết hydro (phần B); nhân thơm tạo liên kết  $\pi$ - $\pi$  (phần C) và phần D mô phỏng cấu trúc của arginin có chứa nguyên tử nitơ [1, 2]. Trong nghiên cứu này, dựa trên cấu trúc cơ chất và chất dẫn đường 1 chúng tôi đã thiết kế, tổng hợp các dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkyloxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure với phần D là dẫn chất của pyridin chứa mạch nhánh có độ dài khác nhau và thử tác dụng ức chế enzym QC của chất tổng hợp được.



Hình 1: Cấu trúc cơ chất, chất dẫn đường 1 và các dẫn chất mới được thiết kế.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

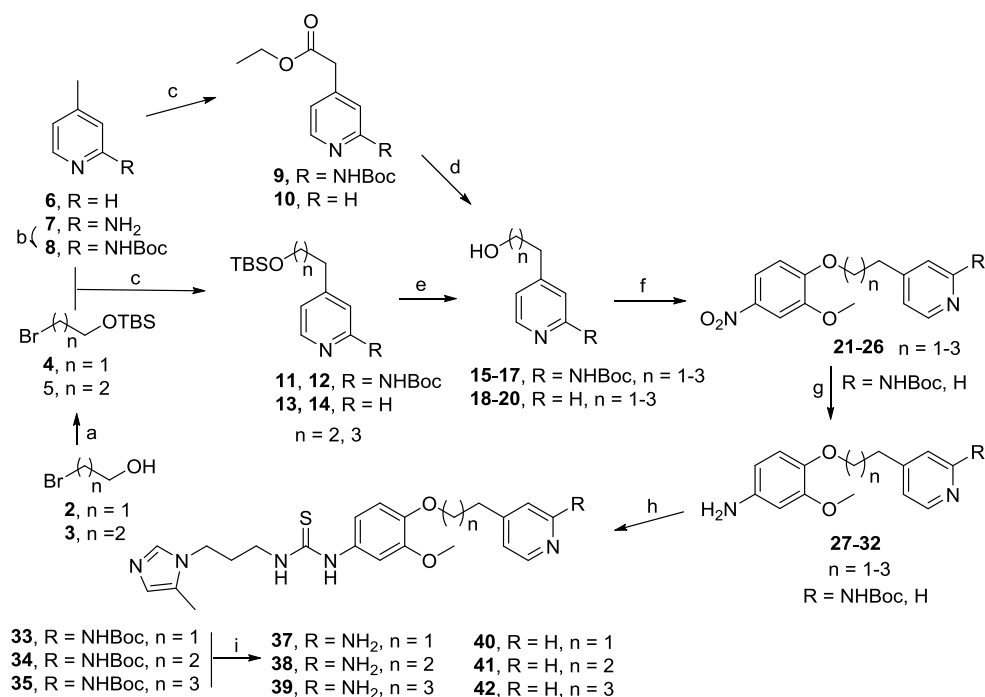
### 1. Dung môi, hóa chất, dụng cụ.

Dung môi, hóa chất được mua từ các nhà cung cấp Aldrich, TCI và Alfa Aesar, với độ tinh khiết > 95%, sử dụng không qua tinh chế. Thực hiện sắc ký lớp mỏng trên bản mỏng 60<sub>F254</sub> (Hãng Merck). Đo nhiệt độ nóng chảy trên máy Buchi B-540. Đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân trên máy JEOL

JNM-LA 300 với chất chuẩn nội TMS, độ dịch chuyển hóa học được báo cáo theo ppm. Phổ cộng hưởng từ <sup>13</sup>C đo trên máy JEOL JNM-LA 300 tại tần số 75 MHz, Bruker Analytik, DE/AVANCE Digital 500 tại tần số 125 MHz và Ultrashielded Bruker Avance III HD NMR spectrometer tại tần số 200 MHz, phổ khối đo trên máy 6460 Triple Quad LC-MS với phương pháp ion hóa phun điện tử (ESI) hoặc bắn phá nguyên tử (FAB).

### 2. Tổng hợp các dẫn chất.

Sơ đồ tổng hợp các dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)propyl)thiourea được minh họa trong hình 2.



Hình 2: Tác nhân và điều kiện phản ứng.

(a) TBSCl, imidazol, DCM, nhiệt độ phòng, 12 giờ; (b) Boc<sub>2</sub>O, *t*-BuOH, nhiệt độ phòng, 12 giờ; (c) *n*-BuLi, THF, -78°C, nhiệt độ phòng, 30 phút, -78°C, sau đó thêm diethyl carbonate, chất 4 hoặc 5, 10 phút; (d) LAH, THF, nhiệt độ phòng, 30 phút; (e) TBAF, THF, nhiệt độ phòng, 2 giờ; (f) 4-nitroguaiacol, DEAD, Ph<sub>3</sub>P, DCM, nhiệt độ phòng, 2 giờ; (g) H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, nhiệt độ phòng, 1 giờ; (h) 3-(5-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)propan-1-amine, TCDI, TEA, DCM, nhiệt độ phòng, 12 giờ; (i) TFA, DCM, nhiệt độ phòng, 12 giờ.

### 3. Thử tác dụng ức chế enzym glutaminyl cyclase.

Tiến hành thử tác dụng ức chế enzym QC tại Khoa Dược, Trường Đại học Quốc gia Seoul và Công ty Medifron tại Hàn Quốc bằng phép đo huỳnh quang [9].

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Tổng hợp các dẫn chất.

Các chất thiết kế được tổng hợp từ nguyên liệu ban đầu là 4-picolin hoặc 2-amino-4-picolin. Dẫn chất picolin (6) kéo dài mạch bằng phản ứng thế ái nhân với dẫn chất bromid (4, 5) để tạo ra mạch nhánh dài 3 hoặc 4 carbon (13-14). Trong khi đó, với dẫn chất 2 carbon (10), tác nhân thế được sử dụng là diethyl carbonat. Tiến hành phản ứng nhanh trong môi trường khan, nhiệt độ thấp với base mạnh n-BuLi. Sản phẩm của phản ứng sau đó được loại bỏ nhóm bảo vệ silyl ether hoặc khử hóa để tạo ra nhóm OH tự do (18-20) để tạo liên kết ether với OH phenol của 4-nitroguaiacol trong phản ứng Mitsunobu kế tiếp (24-26). Các hợp chất nitro thơm mới tạo thành được khử nhanh trong khí hydro với xúc tác palladi tạo ra các amin thơm (30-32). Các amin thơm này kết hợp với 1,1'-thiocarbonyldiimidazol (TCDI) sẽ cho ra isothiocyanat in situ; chất này sau đó sẽ phản ứng với 3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propan-1-amin trong môi trường kiềm để tạo ra các hợp chất thioure mục tiêu (40-42). Trong trường hợp nguyên liệu là 2-amino-4-picolin (7), quy trình thực hiện tương tự với các chất picolin, nhưng nhóm amin tự do cần bảo vệ bằng nhóm tert-butoxy carbonyl (Boc) trước khi tiến hành quy trình và giải phóng về dạng tự

do ở bước cuối cùng bằng axit mạnh TFA để thu được các chất mục tiêu 37-39.

*1-(4-(2-(2-aminopyridin-4-yl)ethoxy)-3-methoxyphenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl) thioure (37)*. Chất rắn màu trắng, hiệu suất 41%, nhiệt độ nóng chảy 60 - 61°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,77 (d, *J* = 5,49 Hz, 1H); 7,59 (d, *J* = 2,40 Hz, 1H); 6,94 (d, *J* = 8,43 Hz, 1H); 6,90 (d, *J* = 2,40 Hz, 1H); 6,73 (dd, *J* = 8,40; 2,37 Hz, 1H); 6,66 (s, 1H); 6,59 (dd, *J* = 5,52, 1,26 Hz, 1H); 6,54 (s, 1H); 4,20 (t, *J* = 6,60 Hz, 2H); 3,97 (t, *J* = 6,96 Hz, 2H); 3,79 (s, 3H); 3,59 (t, *J* = 6,78 Hz, 2H); 2,96 (t, *J* = 6,39 Hz, 2H); 2,21 (d, *J* = 1,11 Hz, 3H); 2,02 (quint, *J* = 6,42 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 183,9; 161,7; 154,8; 152,4; 149,1; 148,3; 138,8; 133,2; 129,7; 127,3; 119,8; 116,5; 115,9; 111,3; 110,3; 71,0; 57,5; 44,2; 43,8; 36,9; 32,2; 9,9. MS (FAB) *m/z* 441 [M+H]<sup>+</sup>.

*1-(4-(3-(2-aminopyridin-4-yl)propoxy)-3-methoxyphenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl) thioure (38)*. Chất rắn màu trắng, hiệu suất 22%, nhiệt độ nóng chảy 148 - 149°C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,75 (d, *J* = 5,40 Hz, 1H); 7,58 (s, 1H); 6,93 - 6,91 (m, 2H); 6,74 (dd, *J* = 8,40; 2,10 Hz, 1H); 6,66 (s, 1H); 6,50 (d, *J* = 5,35 Hz, 1H); 6,45 (s, 1H); 4,00 - 3,96 (m, 4H); 3,83 (s, 3H); 3,59 (t, *J* = 6,35 Hz, 2H); 2,70 (t, *J* = 7,45 Hz, 2H); 2,22 (s, 3H); 2,09 - 2,00 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 183,4; 161,8; 155,3; 152,3; 149,3; 148,4; 138,8; 133,6; 129,7; 127,4; 119,8; 116,2; 115,7; 112,3; 110,7; 70,3; 57,4; 44,2; 43,8; 33,3; 32,2; 31,6; 9,9. MS (FAB) *m/z* 455 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(4-(4-(2-aminopyridin-4-yl)butoxy)-3-methoxyphenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl) thioure (39). Chất rắn màu trắng, hiệu suất 84%, nhiệt độ nóng chảy 102 - 103°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,75 (d, *J* = 5,49 Hz, 1H); 7,59 (s, 1H), 6,94 - 6,90 (m, 2H); 6,74 (dd, *J* = 8,43, 2,37 Hz, 1H); 6,66 (s, 1H); 6,49 (dd, *J* = 5,49, 1,47 Hz, 1H); 6,44 (s, 1H); 4,01 - 3,94 (m, 4H); 3,81 (s, 3H); 3,59 (t, *J* = 7,14 Hz, 2H), 2,57 (m, 2H); 2,21 (d, *J* = 0,90 Hz, 3H); 2,05 (quint, *J* = 6,96 Hz, 2H); 1,79 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 5% CD<sub>3</sub>OD) δ 181,1; 158,5; 153,3; 149,8; 147,2; 146,4; 136,1; 129,5; 127,1; 125,7; 117,8; 114,2; 113,1; 109,9; 108,5; 68,7; 55,7; 42,1; 41,7; 34,5; 30,0; 28,3; 26,1; 8,7. MS (FAB) *m/z* 469 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(3-methoxy-4-(2-(pyridin-4-yl)ethoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure (40). Chất rắn màu trắng, hiệu suất 63%, nhiệt độ nóng chảy 114 - 115°C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,42 (dd, *J* = 4,38; 1,47 Hz, 2H); 7,61 (d, *J* = 1,11 Hz, 1H); 7,43 (dd, *J* = 4,59; 1,65 Hz, 2H); 6,94 (d, *J* = 8,61 Hz, 1H); 6,90 (d, *J* = 2,19 Hz, 1H); 6,73 (dd, *J* = 8,43; 2,37 Hz, 1H); 6,67 (s, 1H); 4,26 (t, *J* = 6,21 Hz, 2H); 3,97 (t, *J* = 7,14 Hz, 2H); 3,78 (s, 3H); 3,58 (t, *J* = 5,85 Hz, 2H); 3,13 (t, *J* = 6,21 Hz, 2H); 2,21 (d, *J* = 1,11 Hz, 3H); 2,02 (quint, *J* = 6,96 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 181,2; 150,0; 148,9; 147,9; 146,7; 136,2; 130,1; 127,1; 125,8; 124,5; 117,7; 113,8; 110,0; 68,5; 55,8; 42,1; 41,7; 34,7; 30,0; 8,8. MS(FAB) *m/z* 426 [M+H].

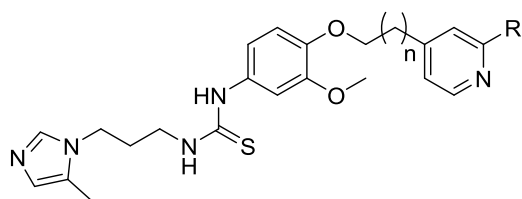
1-(3-methoxy-4-(4-(pyridin-4-yl)propoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure (41). Chất rắn màu trắng, hiệu suất 26%, nhiệt độ nóng chảy 81 - 82°C. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,39 (dd, *J* = 4,56; 1,32 Hz, 2H); 7,59 (s, 1H); 7,32 (d, *J* = 6,42 Hz, 2H); 6,93 (br, 2H); 6,75 (dd, *J* = 8,28; 2,28 Hz, 1H); 6,66 (s, 1H); 4,00 (t, *J* = 6,42 Hz, 2H); 3,97 (t, *J* = 7,32 Hz, 2H); 3,83 (s, 3H); 3,60 (t, *J* = 6,42 Hz, 2H); 2,88 (t, *J* = 7,32 Hz, 2H); 2,22 (s, 3H); 2,15 - 2,10 (m, 2H); 2,03 (quint, *J* = 7,32 Hz, 2H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 183,4; 154,6; 152,2; 150,7; 149,0; 138,8; 133,4; 129,7; 127,4; 126,6; 119,7; 116,0; 112,1; 70,1; 57,3; 44,2; 43,8; 33,3; 32,2; 31,7; 9,9. MS(FAB) *m/z* 440 [M+H]<sup>+</sup>.

1-(3-(1H-imidazol-1-yl)propyl)-3-(3-methoxy-4-(4-(pyridin-4-yl)butoxy)phenyl)thioure (42). Chất rắn màu trắng, hiệu suất 45%, nhiệt độ nóng chảy 58 - 59°C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,43 (d, *J* = 6,06 Hz, 2H); 7,51 (s, 1H); 7,36 (s, 1H); 7,12 (d, *J* = 5,85 Hz, 2H); 6,79 (d, *J* = 8,97 Hz, 1H); 6,73 (s, 1H); 6,71 - 6,68 (m, 2H); 6,04 (s, 1H); 4,01 (m, 2H); 3,89 (t, *J* = 7,14 Hz, 2H); 3,84 (s, 3H), 3,67 (q, *J* = 7,53 Hz, 2H); 2,70 (m, 2H); 2,17 (d, *J* = 0,90 Hz, 3H); 2,06 (quint, *J* = 7,14 Hz, 2H); 1,88 - 1,86 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 183,3; 155,2; 152,1; 150,6; 149,3; 138,8; 133,0; 129,7; 127,3; 126,5; 119,8; 115,7; 112,2; 70,9; 57,3; 44,2; 43,8; 36,5; 32,2; 30,6; 28,8; 9,9. MS(ESI) *m/z* 454 [M+H]<sup>+</sup>.

## 2. Thử hoạt tính ức chế QC.

Kết quả thử hoạt tính các chất mục tiêu đã tổng hợp 37-42 được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: Kết quả thử hoạt tính các hợp chất tổng hợp được (n = 3).



Chất	R	n	IC <sub>50</sub> (nM) <sup>a</sup>
37	-NH <sub>2</sub>	1	5,5 ( ± 1,9)
38		2	10,7 ( ± 2,5)
39		3	4,5 ( ± 1,4)
40	-H	1	23,5 ( ± 5,2)
41		2	14,4 ( ± 4,4)
42		3	9,1 ( ± 2,8)
1 <sup>b</sup>			29,2 ( ± 4,0)

(a: Nồng độ ức chế 50% hoạt độ của enzym; b: chất dẫn đường 1 (chứng dương tính)

## BÀN LUẬN

6 dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure đã được tổng hợp, tinh chế trên sắc ký cột. Các chất đều cho một vết gọn, rõ khi khảo sát sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi khác nhau; nhiệt độ nóng chảy dao động từ 1 - 2°C. Kết quả đo phổ <sup>1</sup>H-NMR của các chất đều xuất hiện tín hiệu đặc trưng của vòng imidazol, pyridin, phenyl cũng như mạch nhánh alkyl. Phổ MS của các chất đều cho pic giả phân tử m/z [M+H]<sup>+</sup>. Do đó, có thể khẳng định các chất tổng hợp được có cấu trúc đúng dự kiến.

Các chất sau đó được đánh giá khả năng ức chế hoạt động của QC bằng phương pháp huỳnh quang [9]. Kết quả bảng 1 cho thấy các chất tổng hợp được đều có tác dụng ức chế QC tốt với IC<sub>50</sub> từ 4,5 - 22,5 nM. So với chất dẫn đường 1, các chất đều có tác dụng tốt hơn; điều này cho thấy lý thuyết mô phỏng agrinin

của nhóm nghiên cứu chính xác. Cấu trúc pyridin có thể tham gia vào liên kết hydro với trung tâm hoạt động của enzym. Mặt khác, các hợp chất pyridin (40-42) đều có tác dụng ức chế enzym yếu hơn hợp chất 2-aminopyridin (37-39) tương ứng, có thể do vai trò tạo liên kết hydro của nhóm 2-amino. Cuối cùng, cả 2 dãy chất đều cho thấy mạch nhánh có độ dài 4 carbon cho khả năng ức chế QC tốt nhất, có thể đây là độ dài tối ưu nhất cho việc tạo thành liên kết hydro. Để chỉ rõ hơn nữa ái lực của nhân pyridin, đặc biệt là nhóm 2-amino với QC, trong các nghiên cứu tiếp theo cần tiếp tục thay đổi cấu trúc nhân 2-aminopyridine theo những hướng khác nhau.

## KẾT LUẬN

Đã tổng hợp, tinh chế thành công 6 dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(4-(pyridinyl)alkoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure bằng phản ứng hóa

học thông thường. Các chất đều được khẳng định cấu trúc bằng  $^1\text{H-NMR}$  và MS cũng như thử tác dụng ức chế QC với kết quả  $\text{IC}_{50}$  từ 4,5 - 22,5 nM.

\* *Lời cảm ơn*

Đề tài được hoàn thành nhờ một phần kinh phí từ Chương trình Phòng Nghiên cứu trọng điểm Quốc gia, Bộ Khoa học và Công nghệ Hàn Quốc (NRF-2014M3A9D9069725) và L'Oreal-Unesco Fellowship For Women in Science 2017.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Trần Phương Thảo, Hoàng Văn Hải.* Tổng hợp và thử tác dụng ức chế enzym glutaminyl cyclase của một số dẫn chất 1-(3-methoxy-4-(2-(piperazin-1-yl)ethoxy)phenyl)-3-(3-(5-methyl-1H-imidazol-1-yl)propyl)thioure thơm. Tạp chí Dược học. 2018, số 58, tr.41-45.

2. *Buchholz M, Hamann A, Aust S, Brandt W, Bohme L, Hoffmann T, Schilling S, Demuth HU, Heiser U.* Inhibitors for human glutaminyl cyclase by structure based design and bioisosteric replacement, J Med Chem. 2009, 52, pp.7069-7080.

3. *Busby W.H, Quackenbush G.E, Humm J, Youngblood W.W, Kizer J.S.* An enzyme(s) that converts glutaminyl-peptides into pyroglutamyl-peptides. Presence in pituitary,

brain, adrenal medulla, and lymphocytes. J Biol Chem. 1987, 262, pp.8532-8536.

4. *Fischer W.H, Spiess J.* Identification of a mammalian glutaminyl cyclase converting glutaminyl into pyroglutamyl peptides. Proc Natl Acad Sci. USA. 1987, 84, pp.3628-3632.

5. *Gunn P.A, Masters C.L, Cherny R.A.* J Biochem Cell Biol. Pyroglutamate-A $\beta$ : Role in the natural history of Alzheimer's disease. J Biochem Cell Biol. 2010, 42, pp.1915-1918.

6. *He W, Barrow C.J.* The A $\beta$  3-pyroglutamyl and 11-pyroglutamyl peptides found in senile plaque have greater  $\beta$ -sheet forming and aggregation propensities in vitro than full-length A $\beta$ . Biochemistry. 1999, 38, pp.10871-10877.

7. *Saido T.C, Yamao-Harigaya W, Iwatsubo T, Kawashima S.* Amino- and carboxyl-terminal heterogeneity of  $\beta$ -amyloid peptides deposited in human brain. Neurosci Lett. 1996, 563, pp.173-176.

8. *Schilling S, Lauber T, Schaupp M, Manhart S, Scheel E, Bohm G, Demuth H.U.* On the seeding and oligomerization of pGlu-amyloid peptides (in vitro). Biochemistry. 2006, 45, pp.12393-12399.

9. *Schilling S, Hoffmann T, Wermann M, Heiser U, Wasternack C, Demuth H.U.* Continuous spectrometric assays for glutaminyl cyclase activity. Anal Biochem. 2002, 303, pp.49-56.