



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**INHIBIDORES DE MONOAMINO OXIDASAS PARA EL CONTROL DE  
LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: FRANCISCA NÚÑEZ QUIJADA  
PROFESORA GUIA: DRA. LIC. BIOL. MARGARITA GUTIÉRREZ  
CABRERA**

**TALCA-CHILE  
2022**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

***Dedicatoria***

*A mis padres, Alejandra y Rodrigo, por todo el amor que me han entregado, por sus esfuerzos a lo largo de mi vida y por sus enseñanzas, que me acompañaran por el resto de mi vida.*

### ***Agradecimientos***

*Quiero agradecer a mi Profesora guía la Doctora Margarita Gutiérrez, por su paciencia y atención, gracias por guiarme y enseñarme durante la elaboración de esta memoria. A mi familia, por creer en mí en todo momento y por darme la oportunidad de llegar hasta aquí.*

*A mis amigos, sinceramente, muchas gracias por ser un segundo hogar.*

*Esta memoria ha sido financiada por el proyecto Fondecyt regular 1200531.*

## TABLA DE CONTENIDOS

Página

<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Objetivo general.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Objetivos específicos.....</b>	<b>11</b>
<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
<b>1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 Generalidades .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2 Teorías que explican o tratan de explicar el origen de la enfermedad. ....</b>	<b>14</b>
<b>1.3 Prevalencia mundial.....</b>	<b>17</b>
<b>1.4 Fármacos actuales .....</b>	<b>18</b>
<b>2. MAO COMO BLANCO TERAPÉUTICO .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Clasificación de los inhibidores de MAO (iMAOs). ....</b>	<b>21</b>
<b>3. ESTUDIOS Y RESULTADOS DE IMAOS EN EL CONTROL DEL ALZHEIMER .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Rasagilina y Ladostigil.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Selegilina.....</b>	<b>25</b>
<b>3.3 Resveratrol .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4 Miricetina y Quercetina.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5 Curcumina .....</b>	<b>28</b>
<b>4. IMAOS DE ORIGEN NATURAL .....</b>	<b>30</b>

4.1 Extracto de semillas de <i>Cassia obtusifolia</i> .....	30
4.2 Extracto de hongo de liquen endógeno <i>Daldinia fissa</i> . .....	34
4.3 Extractos de semillas de <i>Psoralea corylifolia</i> .....	35
4.4 Extractos del tallo de <i>Castanopsis cuspidata var. Sieboldii</i> .....	37
<b>5. IMAOS DE ORIGEN SINTÉTICO</b> .....	<b>40</b>
5.1 KDS2010.....	40
5.2 Derivados de enamidas .....	44
5.3 Inhibidores duales HDAC1/MAO-B.....	49
5.4 Inhibidores duales de de AChE y MAO-B a partir de derivados de piridoxina. ....	52
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>55</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>56</b>

## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Síntesis y transporte de acetilcolina entre los terminales nerviosos presináptico y postsináptico.....	15
<b>Figura 2.</b> Formación de las placas A $\beta$ y de los ovillos neurofibrilares.....	17
<b>Figura 3.</b> Estructuras de donepezilo, galantamina, rivastigmina y memantina.....	18
<b>Figura 4.</b> Modelo de estructura tridimensional de las isoformas A y B de MAO.....	20
<b>Tabla 1.</b> Casificación de iMAOs.....	22
<b>Figura 5.</b> Estructuras de rasagilina y ladostigil.....	24
<b>Figura 6.</b> Estructura de TV-3326.....	25
<b>Figura 7.</b> Estructura de M-30.....	25
<b>Figura 8.</b> Estructura de selegilina.....	26
<b>Figura 9.</b> Estructura de resveratrol.....	27
<b>Figura 10.</b> Estructuras de miricetina y quercetina.....	28
<b>Figura 11.</b> Estructura de curcumina.....	29
<b>Tabla 2.</b> Resumen de acción de compuestos iMAOs para el control de EA.....	29
<b>Tabla 3.</b> Inhibición de MAO-A y MAO-B humana por compuestos de semillas de <i>Cassia obtusifolia</i> .....	32
<b>Figura 12.</b> Estructuras químicas de los compuestos más activos sobre MAO aislados desde <i>C. obtusifolia</i> .....	33
<b>Figura 13.</b> Estructura molecular de 5-hidroxi-2-metil-croman-4-ona (HMC).....	35
<b>Figura 14.</b> Estructura de seis componentes de benzopirona de semillas de <i>Psoralea corylifolia</i> .....	36
<b>Tabla 4.</b> Tabla comparativa de resultados de IC <sub>50</sub> en el ensayo de inhibición obtenido de los extractos de semillas de <i>Psoralea corylifolia</i> .....	37
<b>Figura 15.</b> Estructura química de compuestos aislados de <i>C. cuspidata</i> .....	38
<b>Figura 16.</b> Estructura química de KDS2010.....	41
<b>Figura 17.</b> Estructuras químicas de los derivados de KDS.....	42
<b>Figura 18.</b> Ensayos de derivados de KDS y MAO-B.....	43

<b>Figura 19.</b>	Rutas sintéticas para producir AD1 a AD11.....	<b>45</b>
<b>Tabla 5.</b>	Inhibiciones de enzimas MAO humanas recombinantes y AChE por enamidas.....	<b>47</b>
<b>Figura 20.</b>	Las poses mejor calificadas para AD3 en los sitios de unión de MAO-A (a) y MAO-B (b).....	<b>48</b>
<b>Figura 21.</b>	Las poses mejor calificadas para AD9 en los sitios de unión de MAO-A (a) y MAO-B (b).....	<b>48</b>
<b>Figura 22.</b>	Estructuras de híbridos inhibidores duales de HDAC y MAO-B.....	<b>49</b>
<b>Tabla 6.</b>	Valores de IC <sub>50</sub> de los compuestos seleccionados y pargilina frente a MAO-B.....	<b>50</b>
<b>Figura 23.</b>	Efecto neuroprotector del híbrido If contra la toxicidad inducida por Aβ1-42 a la concentración de 50 μM.....	<b>51</b>
<b>Figura 24.</b>	Efecto inhibitorio del híbrido If contra la generación de ROS intracelular.....	<b>51</b>
<b>Figura 25.</b>	Estructuras de los derivados sintéticos de piridoxina.....	<b>52</b>
<b>Figura 26.</b>	Modelos de acoplamiento 3D de compuestos derivados y AChE.....	<b>53</b>
<b>Figura 27.</b>	Modelos de acoplamiento 3D de compuestos derivados y MAO.....	<b>54</b>

## RESUMEN

La enfermedad del Alzheimer (EA) es uno de los trastornos neurológicos de más prevalencia en la actualidad, caracterizado por el deterioro lento y progresivo de la capacidad cognitiva. Es una enfermedad multifactorial que no tiene una etiología definida, sin embargo, existen teorías que intentan explicar su origen, como lo son: (i) hipótesis colinérgica, basada en que la degradación de las neuronas colinérgicas puede alterar la memoria y funciones cerebrales; (ii) hipótesis amiloide, en la cual se acumulan los depósitos del péptido A $\beta$  que contribuyen al desarrollo de la enfermedad; y (iii) hipótesis de hiperfosforilación de la proteína Tau, donde la hiperfosforilación de Tau conduce a la formación de ovillos neurofibrilares (NFT) que reducen la sinapsis y producen neurotoxicidad junto a disfunción celular. A la fecha, la EA no tiene cura, por lo cual los fármacos disponibles se encargan de tratar los síntomas de la enfermedad y de retrasar el deterioro neuronal. En los últimos años, se han realizados diversos estudios sobre las enzimas monoamino oxidasas (MAO) como blanco terapéutico en la EA. Las MAO son flavoenzimas que catalizan reacciones de desaminación oxidativa y metabolizan neurotransmisores como dopamina, entre otras. La inhibición a MAO ha tenido resultados favorables para el tratamiento de la depresión y síntomas de la enfermedad de Parkinson. Según la evidencia reciente, los inhibidores de MAOs (iMAOs) tienen la capacidad de proporcionar neuroprotección para la EA, mediante la mejora del deterioro cognitivo, regulando la hidrólisis de proteína precursora amiloide (APP) disminuyendo los niveles de depósitos de A $\beta$  que puede generar neurotoxicidad en el cerebro. Es por esto, que en la presente revisión se presentan la acción de los iMAOs para controlar la EA, tanto los que son usados tradicionalmente para el control de enfermedades neurodegenerativas como los que están presentando reciente evidencia como terapia para la EA.

**Palabras claves:** Enfermedad de Alzheimer, Monoamino oxidasa, inhibición de monoamino oxidasa, neuro protección.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas hacen referencia a un grupo de enfermedades caracterizadas por la pérdida neuronal progresiva en el cerebro, ocasionando manifestaciones clínicas diversas como la pérdida de la memoria, movimiento y capacidad de razonamiento, entre otras que afectan la vida cotidiana de cada persona. No existen hasta ahora tratamientos para curar estas enfermedades, pero si pueden ser de ayuda para aliviar los síntomas que se van presentando con el progreso de la enfermedad. Entre los trastornos neurodegenerativos más frecuentes se encuentra la enfermedad de Parkinson y Alzheimer.

La EA es una afección neurológica relacionada con el envejecimiento. En el año 2020, 50 millones de pacientes tenían esta enfermedad en el mundo, y se estima que cada cinco años este número se duplique hasta alcanzar los 152 millones en el 2050. Dentro de las características presentes en el desarrollo de la enfermedad está la acumulación de placas amiloides, formadas por depósitos extracelulares de proteína beta-amiloide ( $A\beta$ ) con otros componentes; ovillos neurofibrilares como resultado de la proteína Tau hiperfosforilada; y la pérdida sináptica por estrés oxidativo, daño mitocondrial y defectos en el transporte axonal (1).

Las MAO son enzimas unidas a las mitocondrias que tiene una alta expresión en tejidos neuronales y gastrointestinales. Existen dos isoformas MAO-A y MAO-B, que actúan catalizando la desaminación oxidativa de diversas monoaminas y tiene función en la metabolización de neurotransmisores liberados (2), ya que pueden inactivar las catecolaminas. Recientes estudios han demostrado que las MAO tienen importancia en neuroinflamación, apoptosis, y destrucción de las neuronas colinérgica, además de la degradación oxidativa que catalizan produce radicales libres involucrados en el proceso neurodegenerativo, como por ejemplo el peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ). También, existe la relación en que la toxicidad de la proteína  $A\beta$  en la EA que es causada por los niveles elevados de  $H_2O_2$  y la acumulación de peróxidos lipídicos (3). Se ha evidenciado en diversos estudios que los iMAOs pueden mejorar déficits cognitivos y disminuir los fragmentos de la

proteína A $\beta$ . Es por esto, que la regulación de las MAOs mediante inhibidores podría tener potencial terapéutico en la EA.

## **OBJETIVOS**

### **1. Objetivo general**

Actualizar conocimientos sobre las sustancias inhibidoras de monoamino oxidasas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

### **2. Objetivos específicos**

2.1 Identificar los fármacos inhibidores de monoamino oxidasas empleados para el control de la enfermedad de Alzheimer.

2.1 Describir los mecanismos de acción de los inhibidores de monoamino oxidasas como sustancias neuroprotectoras.

## **METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Para llevar a cabo la revisión bibliografía se realizó una búsqueda de información detallada en buscadores académicos y bases de datos de carácter científico, como lo son PubMed, Scopus (ELSEVIER) y Web of Science, entre otras. También se extrajo información desde libros y tesis aprobadas relacionadas al tema. Al momento de realizar la búsqueda se utilizaron palabras claves para filtrar la información, entre ellas: enfermedad de Alzheimer, teorías del Alzheimer, tratamiento, monoamino oxidasas, inhibición de monoamino oxidasas, etc. Todas estas escritas en inglés para tener mayor variedad de información.

Dentro de los criterios de inclusión que se tuvieron en consideración fue seleccionar publicaciones de informes, experimentos y revisiones bibliográficas relacionadas a la EA, a las teorías explicativas, fármacos para combatir la EA, los iMAOs que se utilizan generalmente como terapia en la EA y sobre descubrimientos en iMAOs más recientes para tratar la demencia. Se consideraron todas aquellas referencias que han sido publicadas desde el año 2010 hacia el presente, este criterio también se aplicó para libros y tesis consultadas. También fue considerado como criterio de inclusión los documentos consultados en idioma inglés o español. Ahora bien, respecto a los criterios de exclusión, no se incluyen para esta revisión ningún artículo o libro con fecha de publicaciones anteriores al año 2010 ni aquellos en idioma diferente a inglés o español.

La información obtenida es ordenada en base al desarrollo del tema, dirigiéndose desde lo más general hacia lo más específico y nuevo. Primero, se desarrolla el tema sobre la enfermedad EA, sus generalidades y teorías presentadas que justifican la causa de la enfermedad, luego la prevalencia mundial y los fármacos comunes para el tratamiento. En segundo lugar, se explica sobre las monoamino oxidasas, su enfoque como blanco terapéutico para la EA y los iMAOs que tienen uso en las enfermedades neurodegenerativas. Por último, se expone sobre nuevas evidencias respecto de los iMAOs para tratar la EA.

## MARCO TEÓRICO

### 1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

#### 1.1 Generalidades

La EA se caracteriza clínicamente por la pérdida de memoria, retraso del pensamiento y del razonamiento, además de cambios en la personalidad y el comportamiento. Esta enfermedad fue conocida en 1910, y el primer caso característico que presentaba las características patológicas fue descrito en 1906, por el médico Alois Alzheimer. La EA corresponde a un trastorno neurológico lentamente progresivo que se desarrolla en el sistema nervioso central (SNC), afectando principalmente al hipocampo y la corteza cerebral, dominios del prosencéfalo relacionados con la memoria y funciones cognitivas. La EA es una enfermedad compleja y multifactorial, lo que significa que está influenciada por una combinación de múltiples genes y factores ambientales y/o de riesgo (4). La EA presenta muerte neuronal, que por lo general se correlaciona con la aparición de cambios neuropatológicos, que incluyen deficiencia de acetilcolina, excitotoxicidad por glutamato, depósito extracelular de proteína A $\beta$ , ovillos neurofibrilares intracelulares por depósitos de proteína Tau hiperfosforilada, neuro inflamación y pérdida neuronal generalizada (5).

Las fases clínicas de la enfermedad pueden clasificarse en: (i) preclínica o presintomática, que puede durar varios años o más y está caracterizada por una leve pérdida de memoria. (ii) La etapa leve o temprana de la EA, en la cual comienzan a aparecer síntomas, como un problema en la vida diaria del paciente con pérdida de concentración y memoria, desorientación, cambio de humor, y un desarrollo de depresión. (iii) Etapa de EA moderada, en la que la enfermedad se propaga a áreas de la corteza cerebral resultando en una mayor pérdida de memoria para reconocer personas, pérdida del control de los impulsos y dificultad para leer, escribir y hablar. (iv) EA grave o en etapa tardía, que implica la propagación de la enfermedad a toda el área de la corteza con una acumulación severa de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, lo que resulta en un deterioro funcional y cognitivo progresivo en el que los pacientes no pueden reconocer a su familia, y puede quedar postrado en cama con

dificultades para tragar y orinar, y eventualmente llevar a la muerte del paciente debido a estas complicaciones (1). Otra clasificación que se tiene es según su aparición en pacientes teniendo en cuenta los antecedentes de este, en este grupo está la EA de aparición esporádica y la de aparición familiar.

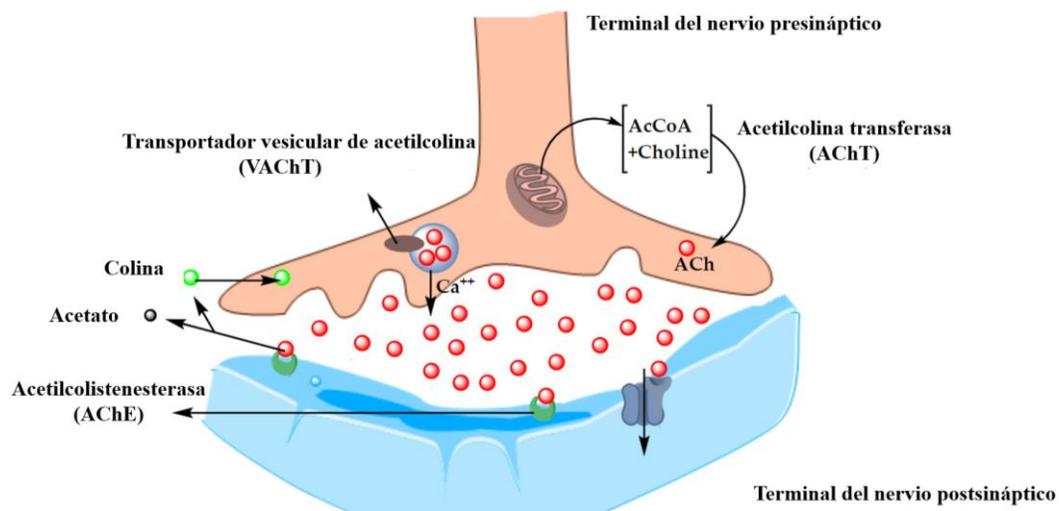
La EA se puede heredar como un trastorno autosómico dominante con penetrancia casi completa. La forma autosómica dominante de la enfermedad está relacionada con mutaciones en 3 genes: gen AAP en el cromosoma 21, Presenilina1 (PSEN1) en el cromosoma 14 y Presenilina 2 (PSEN2) en el cromosoma 1. Las mutaciones de la proteína precursora amiloide (APP) pueden conducir a una mayor generación y agregación de la A $\beta$ . Un marcador genético que aumenta el riesgo de padecer EA es la apolipoproteína E (APOE), la cual regula el metabolismo de los lípidos que tiene afinidad por la proteína A $\beta$ . Existe la isoforma e4 del gen APOE (ubicado en el cromosoma 9) que se ha asociado con formas más esporádicas y familiares de la EA que se presentan después de los 65 años. Se estima que de las personas que presentan un alelo APOEe4 aproximadamente el 50% tiene la EA y los que tienen dos alelos, el 90% desarrollan la EA. Cada alelo APOE e4 también reduce la edad de inicio de la enfermedad. La presencia del alelo APOE e4 es un factor de riesgo importante para la EA (6).

## **1.2 Teorías que explican o tratan de explicar el origen de la enfermedad**

En la actualidad existen varias teorías o hipótesis que intentan explicar el origen de la EA incluyendo la hipótesis colinérgica, hipótesis amiloide, hipótesis de hiperfosforilación de tau, hipótesis de cascada mitocondrial, hipótesis de homeostasis de calcio, hipótesis neurovasculares, hipótesis de iones metálicos e hipótesis de sistema linfático (6). De las ya mencionadas, las que más se describen en revisiones son: hipótesis colinérgica, hipótesis amiloide y la hipótesis de hiperfosforilación de Tau.

*Hipótesis colinérgica:* esta hipótesis se propuso ya que la acetilcolina (ACh) tienen un papel fundamental en la función cognitiva. La ACh se sintetiza en el citoplasma de las neuronas colinérgicas a partir de colina y acetil-coenzima A por la enzima

acetilcolina transferasa (AChT) y se transporta a las vesículas sinápticas por el transportador vesicular de acetilcolina (VACHT) (Figura 1). En el cerebro, la ACh participa en procesos fisiológicos como la memoria, la atención, la información sensorial, el aprendizaje y otras funciones críticas. Se ha descubierto que la degeneración de las neuronas colinérgicas tiene lugar en la EA y causa alternancia en la función cognitiva y pérdida de memoria. Se cree que el péptido A $\beta$  afecta la neurotransmisión colinérgica y causa una reducción en la captación de colina y una liberación de ACh. Estudios han demostrado que la pérdida sináptica colinérgica y la formación de fibrillas amiloides están relacionadas con la neurotoxicidad de los oligómeros A $\beta$  y con las interacciones entre la acetilcolinesterasa (AChE) y el péptido A $\beta$  (1).

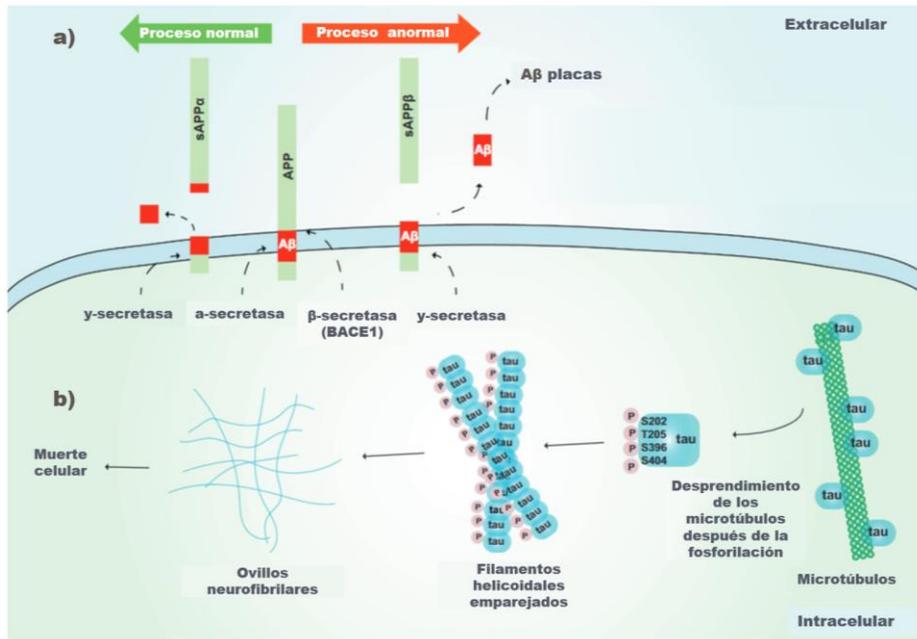


**Figura 1. Síntesis y transporte de acetilcolina entre los terminales nerviosos presináptico y postsináptico.** Tomado y adaptado de Breijyeh Z. y Karaman R., (2020) (1)

*Hipótesis amiloide:* esta hipótesis sugiere la acumulación de A $\beta$ , debido a que la degradación de proteína A $\beta$  disminuye o se da en condiciones anormales. Existen vías de hidrólisis del APP. La primera es la vía  $\alpha$ , la cual ocurre en condiciones normales. La APP es hidrolizada por la  $\alpha$ -secretasa y luego por la  $\gamma$ -secretasa; este proceso no produce A $\beta$  insoluble. La segunda es la vía  $\beta$ , donde la APP es hidrolizada por la  $\beta$ -secretasa (BACE1) y luego por la  $\gamma$ -secretasa para producir A $\beta$  insoluble (Figura

2). Una pequeña cantidad de APP se hidroliza mediante el segundo método y el sistema inmunológico elimina el A $\beta$  que se produce. Sin embargo, cuando están presentes algunas mutaciones, como las mutaciones Lys670Asn / Met671Leu y Ala673Val cerca del sitio de escisión BACE1, APP es propensa a la hidrólisis por la vía  $\beta$ , lo que resulta en una acumulación excesiva de A $\beta$  insoluble y finalmente el desarrollo de la EA (7).

*Hipótesis de hiperfosforilación de Tau:* Tau es una proteína cuya función es mantener la estructura de los microtúbulos que permiten el transporte citoplasmático. En condiciones normales Tau tiene pocos sitios de fosforilación y en condiciones patológicas la fosforilación de tau está saturada. La tau hiperfosforilada en el cerebro de los pacientes con EA provoca cambios de configuración y la pérdida de la capacidad de polimerización de la tubulina, lo que da como resultado un funcionamiento defectuoso de los microtúbulos. Los niveles elevados de tau citosólico conducen a interacciones y polimerización tau-tau para formar proteínas tau fosforiladas insolubles y filamentos rectos (SF) que dan como resultado la formación de depósitos fibrilares intraneuronales conocidos como NFT (Figura 2). Las NFT reducen el número de sinapsis, producen neurotoxicidad y causan disfunción celular (8).



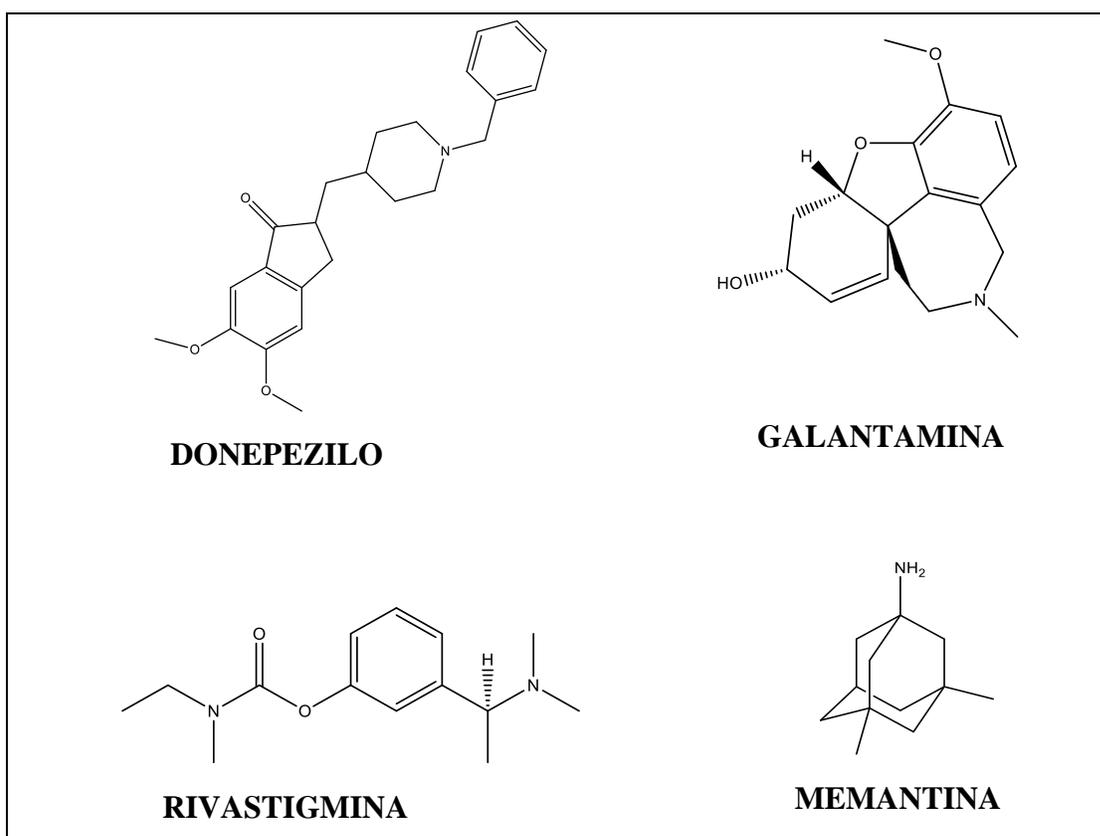
**Figura 2. Formación de las placas A $\beta$  y de los ovillos neurofibrilares.** a) vía normal del procesamiento de APP y vía anormal que resulta en la formación de A $\beta$  insoluble. b) Proceso de hiperfosforilación de tau que termina en la formación de depósitos fibrilares intraneuronales que conllevan a la muerte celular. Tomado y adaptado de Liu P-P. y col., (2019) (7).

### 1.3 Prevalencia mundial

En el año 2020 aproximadamente 50 millones de personas en el mundo padecían de EA, según un cálculo anticipado se estima que cada cinco años este número se duplique hasta alcanzar los 152 millones en el 2050. La prevalencia de la EA aumenta notablemente con la edad, con un aumento de más de 15 veces entre las edades de 65 y 85 años. Un estudio de EE.UU, basado en la comunidad sugirió que la prevalencia es tan alta como el 50% en personas mayores de 85 años, aunque un estudio europeo estimó una prevalencia más baja del 22% a los 90 años (1, 9). La tasa de incidencia también aumenta con la edad, cabe mencionar que las estimaciones calculadas varían según la metodología que se emplee para realizarla ya que hay diversos tipos de estudios para determinar estos parámetros.

## 1.4 Fármacos actuales

Como la EA es una enfermedad incurable y progresiva, los distintos tratamientos se han enfocado en la disminución de los síntomas cognitivos y en reducir el daño que provoca. Actualmente han sido aprobado cinco opciones de tratamiento con fármacos para la enfermedad en Estados Unidos, de ellos, cuatro han sido autorizados también por la Unión Europea, los cuales tres son inhibidores de las colinesterasas (donepezilo, galantamina y rivastigmina) (Figura 3), y un antagonista del receptor de *N*-metil-D-aspartato (memantina)(10).



**Figura 3. Estructuras de donepezilo, galantamina, rivastigmina y memantina.**

Los fármacos inhibidores de colinesterasa incrementan la transmisión sináptica colinérgica al inhibir acetilcolinesterasa en la hendidura sináptica, de este modo disminuye la hidrólisis de acetilcolina liberadas desde las neuronas presinápticas. El primer fármaco de este tipo aprobado fue tacrina, pero dejó de ser utilizada debido a que causaba toxicidad hepática (11). Donepezilo y galantamina inhiben a AChE, mientras que rivastigmina actúa como inhibidor irreversible tanto para AChE como para butirilcolinesterasa (BChE). Estos inhibidores pueden causar varios efectos secundarios cuando son consumidos en altas dosis. Aunque los inhibidores de colinesterasa no curan la EA, estos fármacos se recomiendan para limitar la neurodegeneración en pacientes con EA (12).

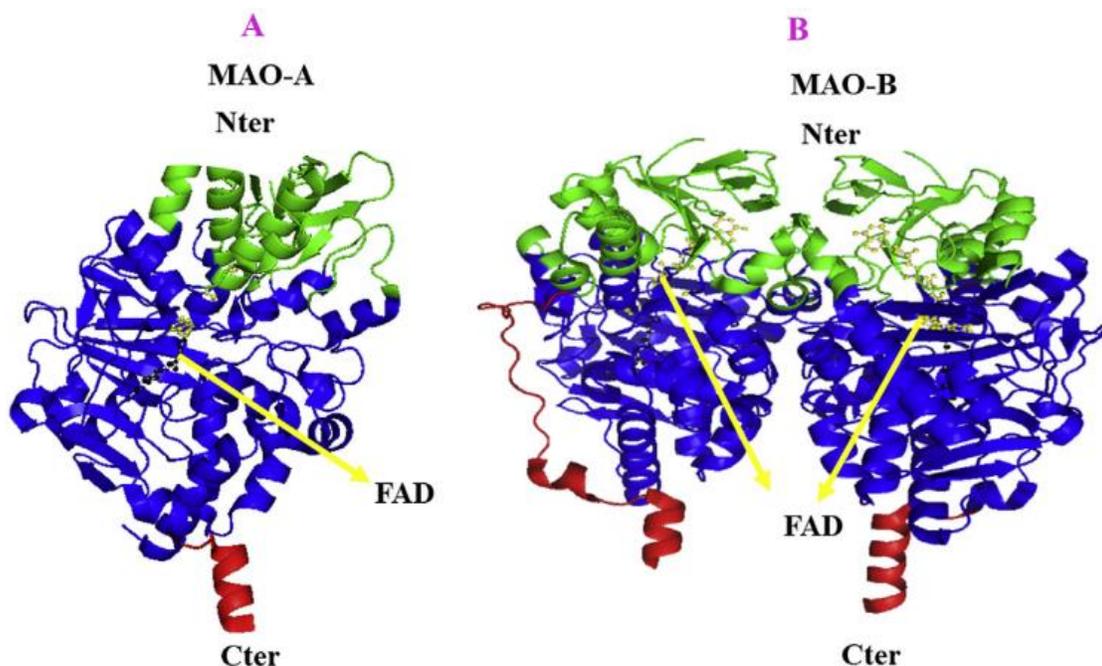
Por otro lado, el glutamato puede estar en altas concentraciones en el cerebro cuando hay casos de EA. La excitotoxicidad mediada por glutamato da como resultado una sobrecarga de calcio y disfunción mitocondrial, con una mayor generación de óxido nítrico, que puede ser perjudicial para las células, formando altos niveles de oxidantes y provocando apoptosis neuronal. La memantina actúa como antagonista de afinidad moderada hacia el receptor de *N*-metil-D-aspartato, disminuyendo la entrada sobre estimulada de calcio y así los efectos negativos del exceso de glutamato, pero permitiendo que este pueda llevar a cabo sus funciones fisiológicas. Este fármaco puede administrarse solo o en combinación con un inhibidor de AChE (13).

## **2. MAO COMO BLANCO TERAPÉUTICO**

Las MAO son enzimas mitocondriales que se expresan en tejidos hepáticos, gastrointestinales y neuronales. MAO cataliza reacciones de desaminación oxidativa a aminas endógenas y exógenas utilizando como cofactor a Flavín Adenín Dinucleótido (FAD), además tiene funciones de metabolización de neurotransmisores (14).

MAO presenta dos isoformas: MAO-A y MAO-B (figura 4), ambas poseen similitud en su secuencia del 73%, las dos formas pueden diferenciarse por sus especificidades de sustrato e inhibidor; MAO-A muestra mayor afinidad por aminas hidroxiladas como noradrenalina (NA) y serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), mientras que MAO-B muestra

mayor afinidad por aminas no hidroxiladas como bencilamina y beta-feniletilamina (PEA). Las aminas dopamina (DA) y tiramina muestran una afinidad similar por cada isoforma de enzima. Otra diferencia que radica entre las isoformas es el sitio en el cual se encuentra, ya que MAO-A está presente en corazón, placenta e intestinos, mientras que MAO-B está distribuida en plaquetas, células gliales y del hígado (14).



**Figura 4. Modelo de estructura tridimensional de las isoformas A y B de MAO.** Donde el FAD de color amarillo está etiquetado en forma de bola. El color azul representa el dominio de unión al sustrato, el color verde representa el dominio de unión a FAD y el color rojo representa la región C-terminal. El Cter representa C-terminal y el Nter representa N-terminal. Tomado de Manzoor y Hoda (2020) (2).

Los iMAOs fueron utilizados desde hace años como antidepresivos, también se les ha dado uso para el tratamiento sintomático de la enfermedad de Parkinson (EP). Los iMAOs actúan inhibiendo la enzima MAO y, por lo tanto, dan como resultado la acumulación de sus sustratos, es decir, neurotransmisores. El efecto que causa esta inhibición va a variar

dependiendo de la isoforma de MAO que sea el blanco. La acumulación de serotonina, norepinefrina, y dopamina en las hendiduras sinápticas del SNC es responsable del efecto antidepressivo de los iMAOs. Es importante señalar que esto depende principalmente de la inhibición de MAO-A, ya que los inhibidores de MAO-B carecen de actividad antidepressiva (15). En el caso de la inhibición de MAO-B, se ha demostrado que bloquea el catabolismo de la dopamina (DA) y, por lo tanto, aumenta los niveles endógenos de dopamina, mientras que se ha demostrado que el aumento de la actividad de la MAO-B está asociado con la generación de astrocitos reactivos que conducen a la disfunción sináptica y al deterioro de la función cognitiva en el cerebro con AD(16).

Existen diversos estudios que apoyan la participación de MAO en la EA. Por lo tanto, los fármacos como rasagilina, ladostigil y selegilina, entre otros, los cuales son utilizados como inhibidores de MAOs, pueden proporcionar neuroprotección para la EA, mejorando el deterioro cognitivo, modulando la escisión proteolítica de la APP y disminuyendo los niveles de fragmentos de A $\beta$  que se acumulan en el cerebro (17).

## **2.1 Clasificación de los inhibidores de MAO (iMAOs).**

En términos generales, los iMAOs se clasifican en inhibidores no selectivos y selectivos, reversibles (competitivos y lentos, de unión fuerte) o irreversibles (agentes de marcado por afinidad o inactivadores basados en mecanismos) (Tabla 1). Los iMAOs de primera generación se conocen como inactivadores basados en mecanismos, que proceden a través de intermedios electrofílicos reactivos que modifican covalentemente la proteína. Los iMAOs selectivos e irreversibles implican la inclusión de sustituyentes en el átomo de nitrógeno de sustratos selectivos de isoenzimas, que experimentan una conversión catalizada por MAO en intermedios electrofílicos que alquilan el sitio activo de la enzima (18).

Los iMAOs reversibles podrían subdividirse en inhibidores de unión fuerte, competitivos y lentos, que se diferencian por modelo cinético. En consecuencia, el primer paso en la vía de inhibición competitiva incluye la producción de un complejo inhibidor-

enzima fácilmente reversible. El segundo paso generalmente se encuentra con inhibidores lentos de unión fuerte que incluye la transformación lenta y dependiente del tiempo del complejo inhibidor-enzima en un complejo activado, durante el cual el inhibidor está fuertemente ligado a la enzima, lo que da como resultado una alteración conformacional tridimensional de la estructura enzimática (2, 18).

**Tabla 1. Clasificación de iMAOs.**

Grupo	Clase	Compuesto	Selectividad de MAO	Aplicación
<b>iMAOs de primera generación (no selectivo)</b>	Hidracinas	Iproniazida	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Isocarboxazida	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Fenelzina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Hidralazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Nialamida	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Octamoxina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Iproclozida	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Mebanazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Fenoxipropazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Pivalilbenzhydrazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Procarbazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Safrazina	A y B	Antidepresivo
	Hidracinas	Metfendrazina	A y B	Antidepresivo
	No hidracinas: Benzoxazinacetamida	Caroxazona	A y B	Antidepresivo
	Quinolinamina	Equinopsidina	A y B	Antidepresivo
	Nitrofurano	Furazolidona	A y B	Antidepresivo
	Derivados de la anfetamina	Tranilcipromina	A y B	Antidepresivo
	Oxazolidinonas	Linezolid	A y B	Antibacterial
	Curcuminoides	Curcumina	A y B	Antidepresivo
	Flavonoides	Antocianinas	A y B	Antidepresivo
Glucósidos flavonoides, terpenoides	Miricetina y quercetina	A y B	Anti-Alzheimer	
Terpenoides	Biobalidos	A y B	Anti-Alzheimer	
<b>iMAOs de segunda</b>	Propargilaminas	Clorgilina	A	Antidepresivo
	Propargilaminas	Pargilina	B	Anti-Parkinson

<b>generación (selectivos - irreversibles)</b>	Propargilaminas	Selegilina	B	Anti-Parkinson/Anti-Alzheimer
	Propargilaminas	Rasagilina	B	Anti-Parkinson/Anti-Alzheimer
	Butanaminas	Mofegilina	B	Anti-Parkinson
<b>iMAOs de tercera generación (selectivos - reversibles)</b>	Oxazolidinonas	Befloxatona	A	Antidepresivo
	Oxazolidinonas	Cimoxatina	A	Antidepresivo
	Piperidilbenzofuranos	Brofaromina	A	Antidepresivo
	Morfolinobenzamida	Moclobemida	A	Antidepresivo
	Derivado del indol	Prilindol	A	Antidepresivo
	Feniletilamina	Amiflamina	A	Antidepresivo
	Derivado de cumarina	Esuprone	A	Antidepresivo
	Estibenoide	Resveratrol	A	Antidepresivo/Anti-Alzheimer
	Alcaloides de harmala	Harmina Harmalina	A A	Antidepresivo Antidepresivo
	Piridinacarboxamina	Lazabemida	B	Anti-Parkinson
	Flavonoides	Catequina	B	Anti-Parkinson
	Resina	Emodina	B	Anti-Parkinson
<b>Inhibidores mixtos de MAO-AChE</b>	Propilaminas	Ladostigil	A y B	Antidepresivo/Anti-Parkinson/Anti-Alzheimer

Clasificación los compuestos inhibidores de MAO según la generación que corresponde, determinando si son selectivos o no selectivos, y según son reversibles o irreversibles. Se especifica la clase a la cual pertenecen, la selectividad por MAO que presentan (A, B, A y B,) y la aplicación que se atribuye en base a los trastornos neurológicos. Tomado y adaptado de Tripathi AC y col., 2018 (18).

### 3. ESTUDIOS Y RESULTADOS DE IMAOS EN EL CONTROL DEL ALZHEIMER

#### 3.1 Rasagilina y Ladostigil

La Rasagilina (Figura 5), es un inhibidor selectivo e irreversible de MAO-B (18). En un estudio basado en evidenciar los efectos anti EA y EP en ratones *in vivo*, se utilizaron fármacos que combinan la acción inhibitoria de MAO de rasagilina, junto a la actividad inhibitoria de la colinesterasa de rivastigmina, el cual es el ladostigil; y un segundo derivado de la rasagilina M-30. Estos revelaron que TV-3326 (Figura 6) y M-30 (Figura 7) tenían influencia en la regulación del procesamiento de APP, mediante la activación de la proteínas quinasa C (PKC) y las vías de señalización de la quinasa regulada por señal extracelular (ERK), aumentando el procesamiento de la APP por medio del aumento de la actividad de la  $\alpha$ -secretasa y reduciendo el proceso por  $\gamma$ -secretasa. De esta manera, se disminuyó la probabilidad de formación de agregados de  $A\beta$  (19). También se ha demostrado que ladostigil puede disminuir el estrés oxidativo de las células en ratones, ya que, tiene actividad antioxidante, es capaz de eliminar directamente los radicales libres sobre producidos en las células neuronales tratadas con  $H_2O_2$ , y un efecto indirecto al estimular la expresión y actividad de enzimas antioxidantes celulares, como catalasa y glutatión reductasa (20).

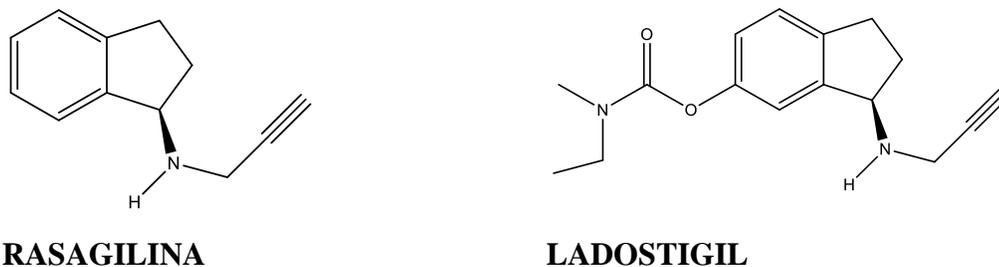
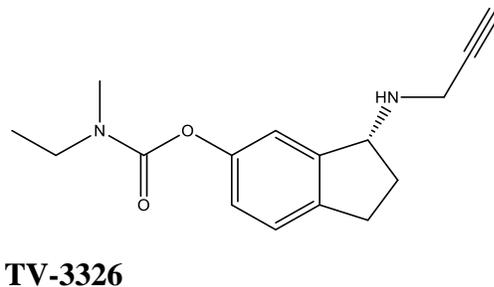
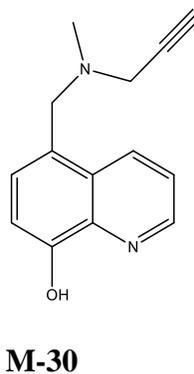


Figura 5. Estructuras de rasagilina y ladostigil.



**Figura 6. Estructura de TV-3326.**

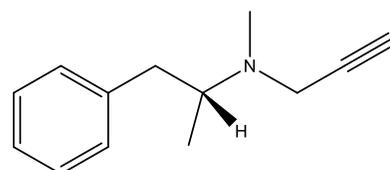


**Figura 7. Estructura de M-30.**

### 3.2 Selegilina

Selegilina (Figura 8) es un inhibidor irreversible de la MAO-B. Selegilina mejora los trastornos del comportamiento en la EA y en la EP al mejorar los niveles de catecolaminas y recientemente se sugirió que los inhibidores de MAO-B pueden inhibir la formación de depósitos de A $\beta$  (21). La MAO-B está asociada a la producción de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) en astrocitos susceptibles, por lo que la pérdida de memoria según un estudio de un modelo animal con EA, podía ser ocasionada debido a la inhibición de la transmisión sináptica por medio de GABA. Selegilina puede regular la generación de GABA mediante la inhibición de MAO-B, reestableciendo de esta manera la función cognitiva y plasticidad

sináptica en los modelos de ratones con EA (22). También este fármaco inhibe la apoptosis inducida por el estrés oxidativo y la muerte celular causada por el agotamiento del glutatión (GSH) (23).



**SELEGILINA**

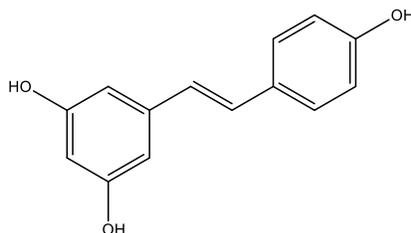
**Figura 8. Estructura de selegilina.**

### **3.3 Resveratrol**

Resveratrol (Figura 9) es una fitoalexina, es decir un metabolito secundario de plantas polifenólicas. Es un compuesto de origen vegetal que puede ser encontrado en las semillas de uva, en vinos y alimentos vegetales como guisantes y té. Es un potente antioxidante, teniendo un efecto inhibitorio sobre la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno, la distribución mitocondrial aberrante y la peroxidación de lípidos. Participa en la reducción del daño neuronal, en la apoptosis y en la mejora de la función del sistema nervioso central (24). Se ha informado que es un agente neuroprotector, debido a que es un activador de SIRT1, el cual se expresa en el cerebro de los mamíferos adultos. En un estudio en ratones, se observó que la sobreexpresión de SIRT1 inhibe la señalización de NF- $\kappa$ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) al disminuir la toxicidad inducida de A $\beta$  en cultivos neuronales. SIRT1 puede ser capaz de determinar la producción de A $\beta$  modulando la expresión de  $\beta$ -secretasa 1 a través de la señalización de NF- $\kappa$ B (25).

En base a estudios en animales, resveratrol suprime la actividad de enzimas involucradas en la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS), como el óxido nítrico sintasa (iNOS), la cual se asocia a la peroxidación inducida por A $\beta$ . Como este compuesto

puede interactuar con iones metálicos, esta interacción puede prevenir la acumulación de hierro o cobre que de otra manera podría conducir a la formación de ROS y neuroinflamación inducida por cobre y / o hierro (26).



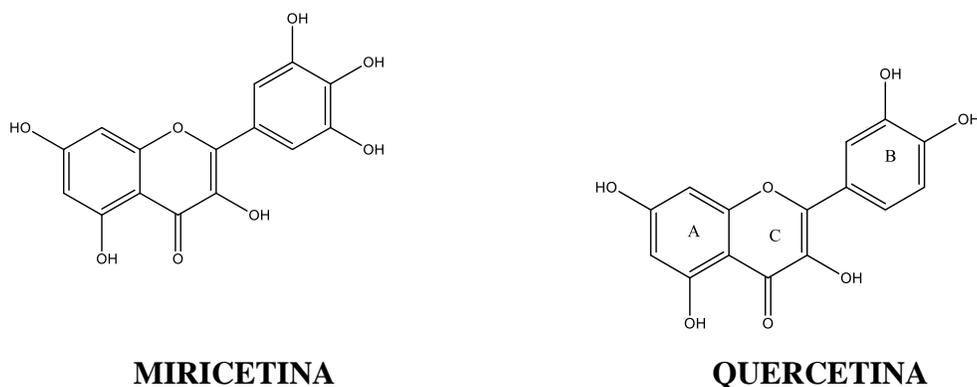
**RESVERATROL**

**Figura 9. Estructura de resveratrol.**

### **3.4 Miricetina y Quercetina**

Miricetina y quercetina son flavonoides, compuestos polifenólicos provenientes de plantas que tienen propiedades antioxidantes y quelante de metales. Si bien no hay una asociación directa entre estos compuestos con el estado neurológico de las personas con EA, tiene efectos beneficiosos el consumo debido a las capacidades de eliminar las ROS, la capacidad quelante de metales y su interacción con las vías de señalización intracelular neuronal. Miricetina (Figura 10) es un agente quelante de iones que actúa reduciendo el contenido de iones de hierro en el cerebro. Los iones de hierro pueden agravar el daño neuronal y el estrés oxidativo en los pacientes EA. La reducción de iones ocurre por la inhibición de la expresión del receptor de transferrina 1, por la reducción de la peroxidación de lípidos y el aumento de la actividad antioxidante. En ratones con EA, miricetina puede reducir el deterioro de la memoria y neurológico al regular el hierro e inhibir la actividad de AChE (27). Por otra parte, miricetina inhibe la actividad de la BACE-1 dificultando la producción de oligómeros de A $\beta$ , porque actúan en el centro activo de BACE-1, el grupo hidroxilo en la posición C7 del anillo A en la estructura de miricetina se une a la díada de aspartato (Asp32 y Asp228) mediante enlaces de hidrógeno. Además, aumenta los niveles de

$\alpha$ -secretasa. De esta manera se une e inhibe a BACE-1 para hidrolizar APP, logrando reducir la producción de A $\beta$  insoluble (28). Quercetina es utilizada para varios fines contra la EA, teniendo como objetivo la regulación del estrés oxidativo y la neuro inflamación, inhibe a AChE y aumenta los niveles de acetilcolina, reduce la fosforilación de Tau y la agregación de A $\beta$ . Quercetina inhibe de igual manera a BACE-1 por medio de la formación de enlaces de hidrógeno, en este caso en la posición C3 del anillo, además inhibe a NF- $\kappa$ B afectando a BACE-1. Quercetina puede reducir la hiperfosforilación de las proteínas Tau a través de MAPK y las vías de señalización PI3K / Akt / GSK3 $\beta$  en las células de una línea celular de las neuronas del hipocampo de ratón. Según otros estudios *in vitro* con ratones expuestos a cadmio, se ha demostrado que quercetina actúa como inhibidor competitivo de AChE y BChE, reduciendo la hidrólisis de acetilcolina, aumentando sus niveles en las hendiduras sinápticas (29).

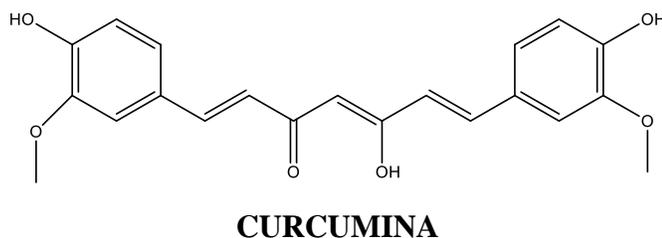


**Figura 10. Estructuras de miricetina y quercetina.**

### 3.5 Curcumina

Curcumina es un polifenol hidrófobo activo extraído de los rizomas de la hierba *Curcuma Longa*, también conocida como cúrcuma, que pertenece a la familia de las zingiberaceae. Curcumina (Figura 11) tiene propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anti EA. Inhibe la formación de A $\beta$  tóxico o insoluble, según algunas teorías señalan que esto ocurre gracias a la capacidad que tiene de unirse a metales iónicos como en Cu (II) y el Zn (II) y formar complejos de curcumina con Cu (II) y / o Zn (II); y según otras teorías que

no involucran iones metálicos; en cambio señalan las capacidades que tiene curcumina para unirse a  $A\beta$  e inhibir su agregación por medio de características estructurales propias; ambas maneras concluyen en que se inhibe agregación y formación de fibrillas de  $A\beta$  (30). Entre otras características de curcumina destaca que inhibe enzimas específicas como AChE, BChE, BACE-1 y el glucógeno quinasa 3 beta (GSK3 $\beta$ ) (31).



**Figura 11. Estructura de curcumina.**

**Tabla 2. Resumen de acción de compuestos iMAOs para el control de EA.**

Compuesto	Acción	Origen
<b>Rasagilina</b>	Disminuye la probabilidad de formación de agregados de $A\beta$ (19).	Origen sintético
<b>Ladostigil</b>	Disminuye el estrés oxidativo (20).	
<b>Resveratrol</b>	Determina la producción de $A\beta$ modulando la expresión de $\beta$ - secretasa 1 a través de la señalización de NF- $\kappa$ B (25).	
<b>Selegilina</b>	Regula la generación de GABA mediante la inhibición de MAO-B e inhibe la apoptosis inducida por el estrés oxidativo (22).	
<b>Quercetina</b>	Regula el estrés oxidativo y reduce la fosforilación la Tau y la agregación de $A\beta$ (29).	Origen orgánico
<b>Curcumina</b>	Disminuye la formación de agregados de $A\beta$ mediante la inhibición de enzimas específicas (31).	
<b>Miricetina</b>	Inhibe la actividad de la BACE-1 dificultando la producción de oligómeros de $A\beta$ (27).	

## 4. IMAOS DE ORIGEN NATURAL

### 4.1 Extracto de semillas de *Cassia obtusifolia*

La semilla de *Cassia obtusifolia* es conocida en China por sus propiedades diuréticas, como agente reductor del colesterol y de la presión arterial, también se ha reportado efectos neuroprotectores, antiinflamatorios y antioxidantes para la EA y EP debido a las antraquinonas, derivadores de naftopironas y los glucósidos presentes en su estructura (32)

En un estudio realizado por Paudel, se evaluó el potencial para inhibir MAO de las diferentes fracciones solubles del extracto de metanol de la semilla *C. obtusifolia*, las cuales demostraron buena inhibición contra MAO-A y MAO-B, posteriormente de estas fracciones se aislaron sus esqueletos (antraquinona, naftopironas, naftaleno y lactona naftalénica) y luego se evaluó su capacidad para inhibir MAO humana (h MAO) (3).

En el estudio de Paudel y colaboradores a partir del extracto metanólico de semillas de *C. obtusifolia* se pudieron aislar y caracterizar veintitrés antraquinonas en forma de agliconas o glucósidos que se observan en la figura 12. Todos los productos aislados fueron evaluados como potenciales inhibidores *in vitro* de hMAO en sus isoformas A y B. De todos los compuestos evaluados, el inhibidor que obtuvo mejores resultados fue el compuesto **12** para MAO-A humana con un valor  $IC_{50}$  de  $0,17 \pm 0,01 \mu M$ , seguido de **9** ( $IC_{50}$ :  $2,47 \pm 0,14 \mu M$ ), **8** ( $IC_{50}$  :  $5,35 \pm 0,09 \mu M$ ) y **3** ( $IC_{50}$  :  $11,12 \pm 0,60 \mu M$ ). Para el caso de MAO-B humana, **8** y **12** tuvieron mejor inhibición con valores de  $IC_{50}$  de  $4,55 \pm 0,09 \mu M$  y  $10,58 \pm 0,28 \mu M$  respectivamente (3).

Dentro de las naftopironas aisladas, **13,15** y **20** fueron más activas contra MAO-A con  $IC_{50}$  valores de 5,90; 11,26, y 16,32  $\mu M$ , respectivamente, sin embargo, la inhibición para MAO-B fue moderada para **20** (con valores de  $IC_{50}$  de  $35,10 \pm 3,12 \mu M$ ) y para los otros glucósidos fue leve (3).

Por otro lado, se evaluaron seis naftalenos y lactonas naftalénicas, de estos los compuestos **26** y **38** exhibieron buenos resultados para la inhibición de MAO-A con valores  $IC_{50} < 10 \mu M$ . Sin embargo, **26** no mostró un efecto inhibitor observable para MAO-B, mientras que **38** inhibió la isoenzima B moderadamente con un  $CI_{50}$  valor de  $96,15 \pm 3,35 \mu M$ . En conclusión, según el ensayo de inhibición enzimática, los compuestos **3**, **8**, **9**, **12**, **13**, **15**, **26** y **38** eran los más potentes ( $IC_{50}$ : 0,17 a 11,26  $\mu M$ ) y altamente selectivos para la inhibición de hMAO-A, estos resultados se ven expresados en la Tabla 2, comparándolos con los inhibidores de referencia deprenil y clorgilina (3).

Según el ensayo de cinética enzimática, el tipo de inhibición que presentaron los compuestos para h MAO-A fue de tipo competitivo para los compuestos **3**, **9** y **12**, no competitivo para **26** y **38**, y tipo mixto para **8**, **13** y **15**. En el caso de h MAO-B, el compuesto **8** mostró una inhibición de tipo mixto y **12** de tipo competitivo. Los resultados obtenidos fueron corroborados mediante estudio *in silico* de Docking molecular (3), pudiendo establecer las interacciones con el sitio activo y las energías de unión presentadas entre cada aminoácido del sitio activo y el compuesto evaluado.

**Tabla 3. Inhibición de MAO-A y MAO-B humana por compuestos de semillas de *Cassia obtusifolia*.**

Compuestos	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>		SI <sup>a</sup>
	h MAO-A (n=3)	h MAO-B (n=3)	
<b>Antraquinonas</b>			
obtusin ( 3 )	11,12±0,60	> 400	
alaternina ( 8 )	5,35±0,09	4,55 ±0,09	0,85
aloe-emodina ( 9 )	2,47±0,14	>400	
questin (emodin-8-metil éter) ( 12 )	0,17±0,01	10,58 ± 0,28	2,35
<b>Naftopironas</b>			
rubrofusarina ( 13 )	5,90 ± 0,99	91,40 ± 1,31	15,49
casiaside ( 15 )	11,26 ± 0,04	>400	
isorubrofusarin 10- O -β- d - glucopiranósido ( 20 )	16,32 ± 2,79	35,10 ± 3,12	2,15
<b>Naftalenos y lactonas naftalénicas</b>			
toralactona 9- O -β-gentiobiósido ( 26 )	7,36 ± 1,13	> 400	
(3 S )-9,10-dihidroxi-7-metoxi-3-metil-1-oxo-3,4-dihidro-1 H - benzo[ g ]isocromeno-3-ácido carboxílico 9- O -β- d - glucopiranósido ( 38 )	8,88 ± 0,90	96,15 ± 3,35	10,83
Deprenil <sup>c</sup>	8,41 ± 1,35	0,40± 0,01	0.04
Clorgilina <sup>d</sup>	0,00397 ± 0,75	63,41 ± 1,20	15 972.29

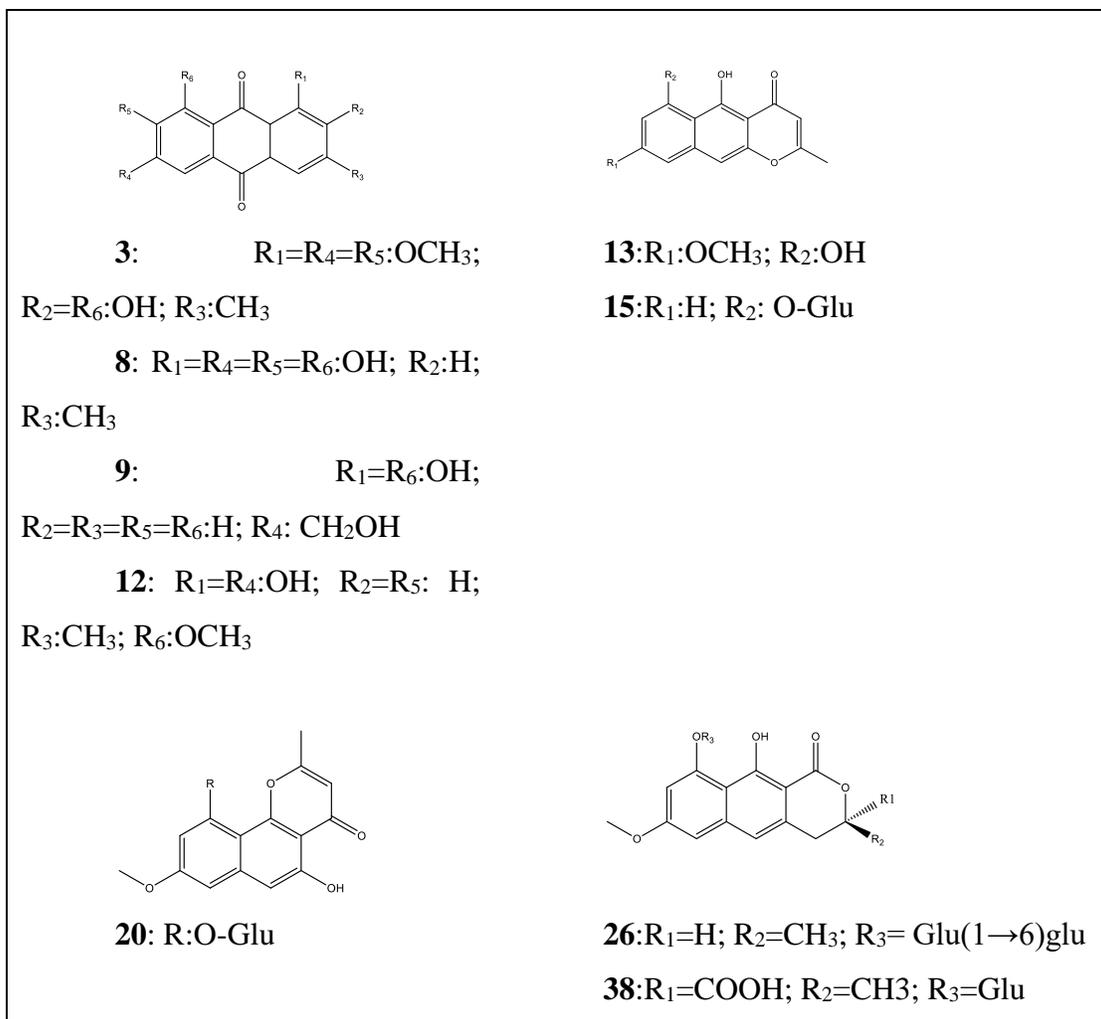
<sup>a</sup> CI<sub>50</sub> valores de concentración inhibitoria del 50% (IC<sub>50</sub>) (μM)

<sup>b</sup>SI: índice de selectividad

<sup>c</sup>deprenil: Inhibidor selectivo de referencia hMAO-B

<sup>s</sup>clorgilina: Inhibidor selectivo de referencia de hMAO-A, y los valores se extrajeron de la literatura

Fuente: Tomado y adaptado de Paudel P y col., (2019)(3).



**Figura 12. Estructuras químicas de los compuestos más activos sobre MAO aislados desde *C. obtusifolia*.**

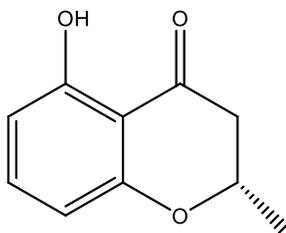
El análisis de las estructuras químicas de los compuestos más activos reportados por Paudel y col en 2019 muestra un alto grado de instauraciones en los compuestos y la presencia de sustituyentes oxigenados, ambos parámetros podrían estar siendo responsables de la actividad según se describe en el análisis *in silico* descrito, las estructuras de compuestos más activos aisladas desde los extractos de semillas de *Cassia Obtusifolia* son mostradas en la figura 11.

#### 4.2 Extracto de hongo de liquen endógeno *Daldinia fissa*.

Los líquenes son formas de vida de relación de simbiosis entre algas y un organismo fotosintético. Pueden vivir en ambientes extremos como tundra, desierto, áreas volcánicas, regiones polares, zonas tropicales y regiones templadas. Los metabolitos primarios y secundarios de los líquenes tienen propiedades antivirales, antibióticas, antitumorales o antialérgicas que han sido utilizados para desarrollar productos farmacológicos (33).

En un ensayo por investigadores del Korea Lichen Research Institute de Sunchon National University, en la República de Corea, se obtuvieron 195 extractos con acetato de etilo o butanol de los hongos liquen endógenos, de ellos fue evaluada sus actividades inhibitorias contra MAO-A, MAO-B, AChE y BChE. Se demostró que la molécula 5-hidroxi-2-metil-croman-4-ona (HMC) (Figura 13), obtuvo actividades inhibitorias contra las enzimas MAO-A y MAO-B con valores de  $CI_{50}$  de 13,97 y 3,23  $\mu$ M respectivamente, y para AChE y BChE mayores de 40 $\mu$ M, teniendo así mejores resultados contra MAO-B, presentando en este caso un patrón de inhibición de tipo competitivo, además se le realizó una prueba de citotoxicidad a esta molécula, en la cual se evidenció que no disminuyó la viabilidad celular de las células utilizadas en el ensayo.

De acuerdo con un ensayo de acoplamiento molecular se mostró que (S)-HMC se ubicaba bien en el sitio de unión de los complejos activos de MAO-A y MAO-B, pero que la afinidad de unión del compuesto por MAO-B (-7,3 kcal/mol) era mayor que la de MAO-A (-6,1 kcal/mol), y que el compuesto podía interactuar con MAO-B por un enlace de hidrógeno con el residuo Cys172 a una distancia de 3,656 Å, mientras que no se predijo ninguna interacción de enlace de hidrógeno para MAO-A. Mediante el análisis farmacogenético se mostró de HCM tenía una alta absorción intestinal, que puede cruzar la barrera hematoencefálica y no inhibe el citocromo P450 (34).

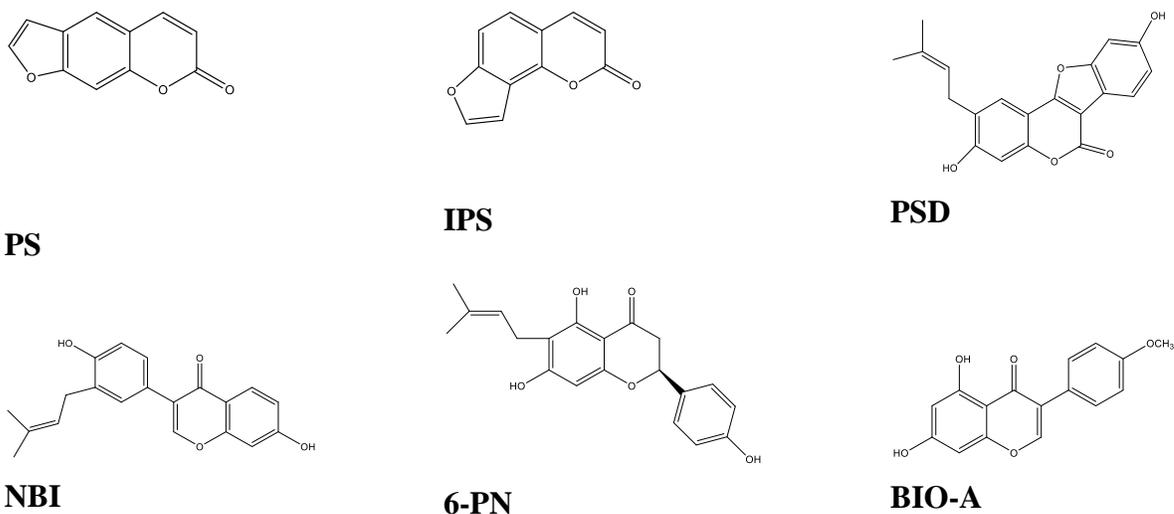


**Figura 13. Estructura molecular de 5-hidroxi-2-metil-croman-4-ona (HMC).**

#### **4.3 Extractos de semillas de *Psoralea corylifolia***

*Psoralea corylifolia* es una planta de la India usada en la medicina indígena, la cual tiene diversas propiedades que le permiten ser utilizada para la curación de diversas dolencias. La planta posee funciones antimicrobianas y citotóxicas, mientras que sus semillas son usadas para el tratamiento de diferentes condiciones como la inflamación, alopecia, eccemas, entre otros. Tiene efecto anti EA mediante la modulación del péptido A $\beta$ , ya que posee compuestos que pueden inhibir la oligomerización de estos péptidos (37). También tiene actividad que disminuye la neuroinflamación y el estrés oxidativo debido a unos compuestos denominados chalconas que se han aislado de sus semillas, los cuales exhiben inhibiciones dependientes de la dosis de la producción de óxido nítrico y prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (35).

En un estudio realizado por Mahajan, se analizaron seis componentes de las semillas, tres de ellos curaminas; psoraleno (PS), isopsoralen (IPS) y psoralidin (PSD), y cuatro flavonoides; 6-prenilnaringenina (6-PN), neobavaisoflavona (NBI) y biochanina-A (BIO-A) los cuales comparten una estructura de benzopirona (Figura 14). Para el ensayo se determinó la capacidad de estos componentes para inhibir las enzimas recombinantes humanas MAO-A y MAO-B, los resultados de estos se compararon con la inhibición de un extracto de referencia: extracto etanólico de PCS (PCSEE) mediante ensayos espectrofotométricos y se confirmó mediante ensayos de luminiscencia (36).



**Figura 14. Estructuras de seis componentes de benzopirona de semillas de *Psoralea corylifolia* .(PCS): las cumarinas incluyen psoraleno (PS), isopsoralen (IPS) y psoralidin (PSD). Los flavonoides de estructura cromona incluyen 6-prenilnaringenina (6-PN), neobavaisoflavona (NBI) y biochanina-A (BIO-A).**

En el ensayo espectrofotométrico destacó la inhibición del compuesto BIO-A con un  $IC_{50}$  para h MAO-A de 3,43  $\mu$ M y para h MAO-B de 0,09  $\mu$ M, a diferencias de los demás que obtuvieron valores de  $IC_{50}$  sobre los 15  $\mu$ M (Tabla 4), esto fue confirmado mediante los ensayos de luminiscencia. Mediante el ensayo de reversibilidad se determinó que BIO-A es un inhibidor reversible para h MAO-A y h MAO-B, por otro lado mediante la prueba de acoplamiento se evidenció que BIO-A tiene interacciones más fuertes en el sitio activo de MAO-B que MAO-A, debido a interacciones hidrofóbicas reversibles y las formaciones de enlaces H distantes que podrían reflejar consistentemente la alta afinidad, reversibilidad y grado de competitividad de BIO-A hacia su modo de inhibición MAO-B, a diferencia MAO-A, con la cual tuvo un enlace de H único con FAD de la enzima (37).

**Tabla 4. Tabla comparativa de resultados de IC<sub>50</sub> en el ensayo de inhibición obtenido de los extractos de semillas de *Psoralea corylifolia*.**

Componentes	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>	
	hMAO-A	hMAO-B
<b>PS</b>	89,04± 5,74	174,80 ±50,9
<b>IPS</b>	20,62± 2,45	51,00± 0,24
<b>NBI</b>	66,52± 5,66	77,93± 1,84
<b>6-PN</b>	54,53± 0,32	17,93± 1,84
<b>BIO-A</b>	3,43± 0,31	0,09± 0,01
<b>Deprenil<sup>b</sup></b>	1,88 ± 0,99	0,013± 0,001
<b>Clorgilina<sup>c</sup></b>	0,0006± 0,0001	49,66 ±7,47

<sup>a</sup> CI<sub>50</sub> valores de concentración inhibitoria del 50% (IC<sub>50</sub>) (μM)

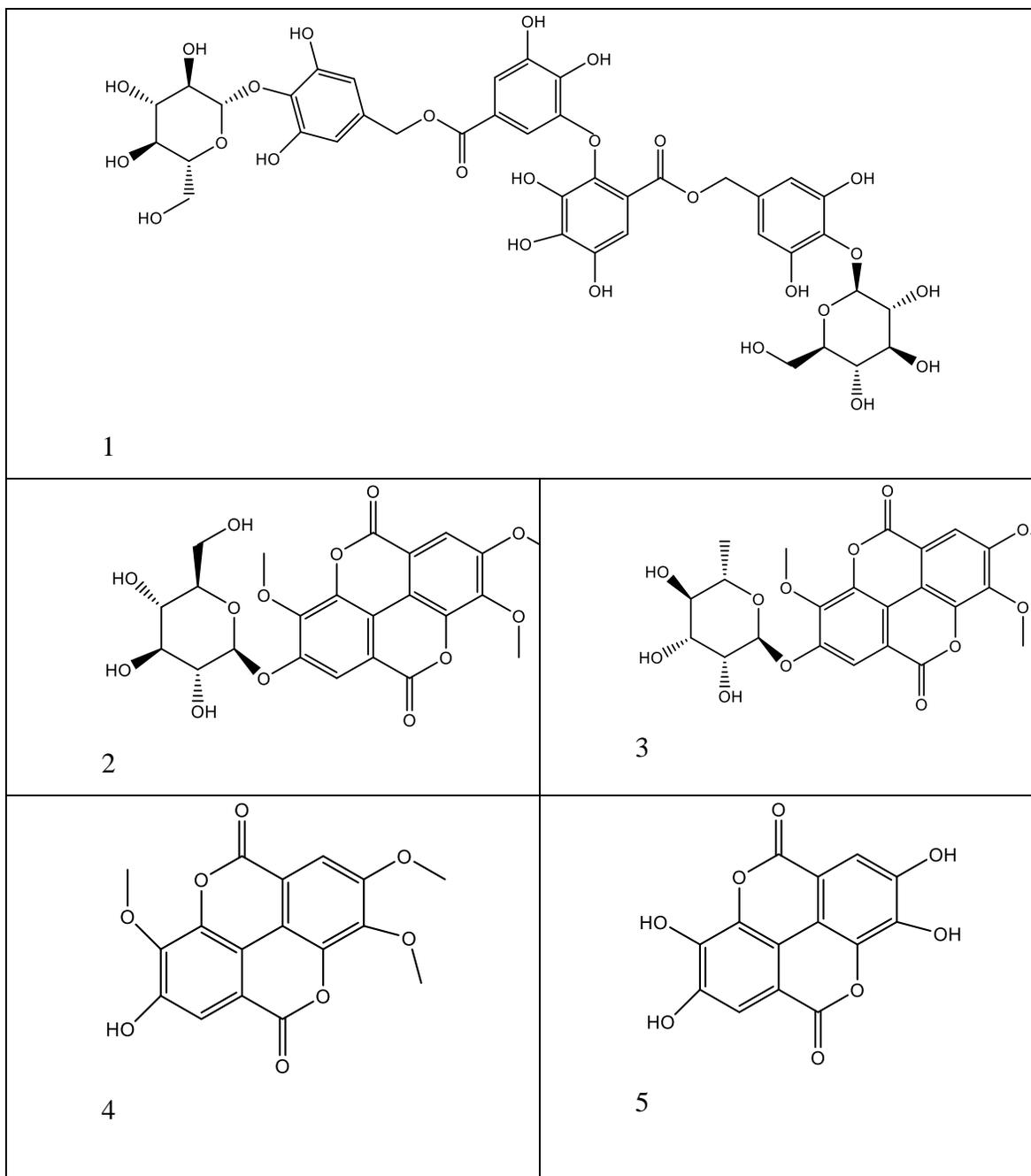
<sup>c</sup>deprenil: Inhibidor selectivo de referencia hMAO-B

<sup>s</sup>clorgilina: Inhibidor selectivo de referencia de hMAO-A.

Fuente: Tomado y adaptado de Mahajan y col., 2022 (36)

#### 4.4 Extractos del tallo de *Castanopsis cuspidata* var. *Sieboldii*

*C. cuspidata* es un árbol de hojas perenne que se encuentra distribuido en la zona oeste de Japón, el cual destaca por sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antifúngicas. Jong y colaboradores realizaron un estudio en el cual se aisló cinco compuestos de los tallos de la planta y evaluó sus actividades inhibitorias contra AChE, BChE, MAO-A, MAO-B y BACE-1 (Figura 15), además realizó estudios cinéticos y de reversibilidad, pruebas de citotoxicidad, farmacocinética *in silico* y simulaciones de acoplamiento (38).



**Figura 15. Estructura química de compuestos aislados de *C. cuspidata*.** Chestanina ( 1 ), ácido 4'- O- ( β -d-glucopiranosil)-3,3',4-tri- O -metilgálico ( 2 ), 4'- O- ( α -l-ramnopiranosil)-3, ácido 3',4-tri- O - metilgálico ( 3 ), ácido 3,3',4-tri- O - metilgálico ( 4 ) y ácido elágico ( 5 ). Tomado y adaptado de Jong y col., 2021 (38).

Respecto a las actividades inhibitorias de los cinco compuestos denominados de **1** al **5**, los cinco inhibieron débilmente a BChE, MAO-A y BACE-1. Los compuestos **3** y **4** tuvieron un IC<sub>50</sub> de 10,1 y 10,7 μM, respectivamente, para AChE; **3** y **5** obtuvieron valores de IC<sub>50</sub> de 7,27 y 9,21 μM, respectivamente, para MAO-B. Por lo tanto, se puede sugerir que **3** es un inhibidor de doble acción para AChE y MAO-B y que **4** y **5** son inhibidores efectivos de AChE y MAO-B, respectivamente. **3**, **4** y **5** inhibieron la AChE de manera competitiva pero parcialmente mixta, mientras que **3** y **5** inhibieron la MAO-B de manera competitiva (38).

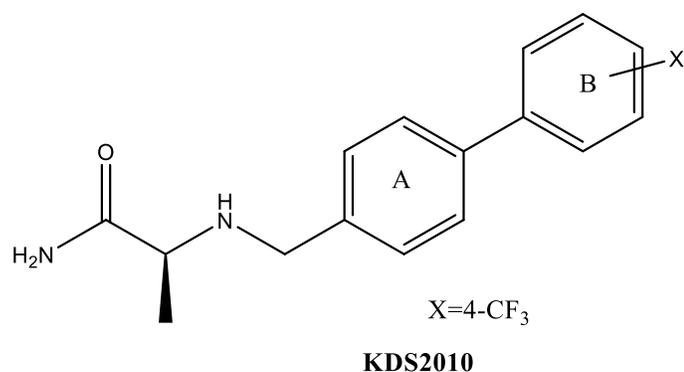
Según el estudio de farmacocinética *in silico* por la herramienta SwissADME, predijo que **3,4** y **5** se absorben bien en el tracto gastrointestinal, no se encontró que estos fueran sustrato de la glicoproteína P y no son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. Referente a la citotoxicidad, no fueron tóxicos o ligeramente tóxicos para células normales y cancerosas, por lo cual los aislados de la planta demuestran que sus inhibiciones podrían tener un potencial uso en la EA (38).

## 5. IMAOS DE ORIGEN SINTÉTICO

### 5.1 KDS2010

La selegilina es uno de los compuestos que siendo administrado por corto plazo ha demostrado mejora en déficit cognitivos en los pacientes con EA, sin embargo en los tratamientos a largo plazo no han obtenido los mismos resultados, es por esto que Park y colaboradores realizaron un estudio para investigar la causa de la disminución de los efectos de la selegilina a largo plazo en modelos de ratón APP/PS1 que presentan una mutaciones en la APP y  $\gamma$ -secretasa, junto con esto también desarrollaron un nuevo inhibidor de MAO-B denominado KD2010 (Figura 16) (39).

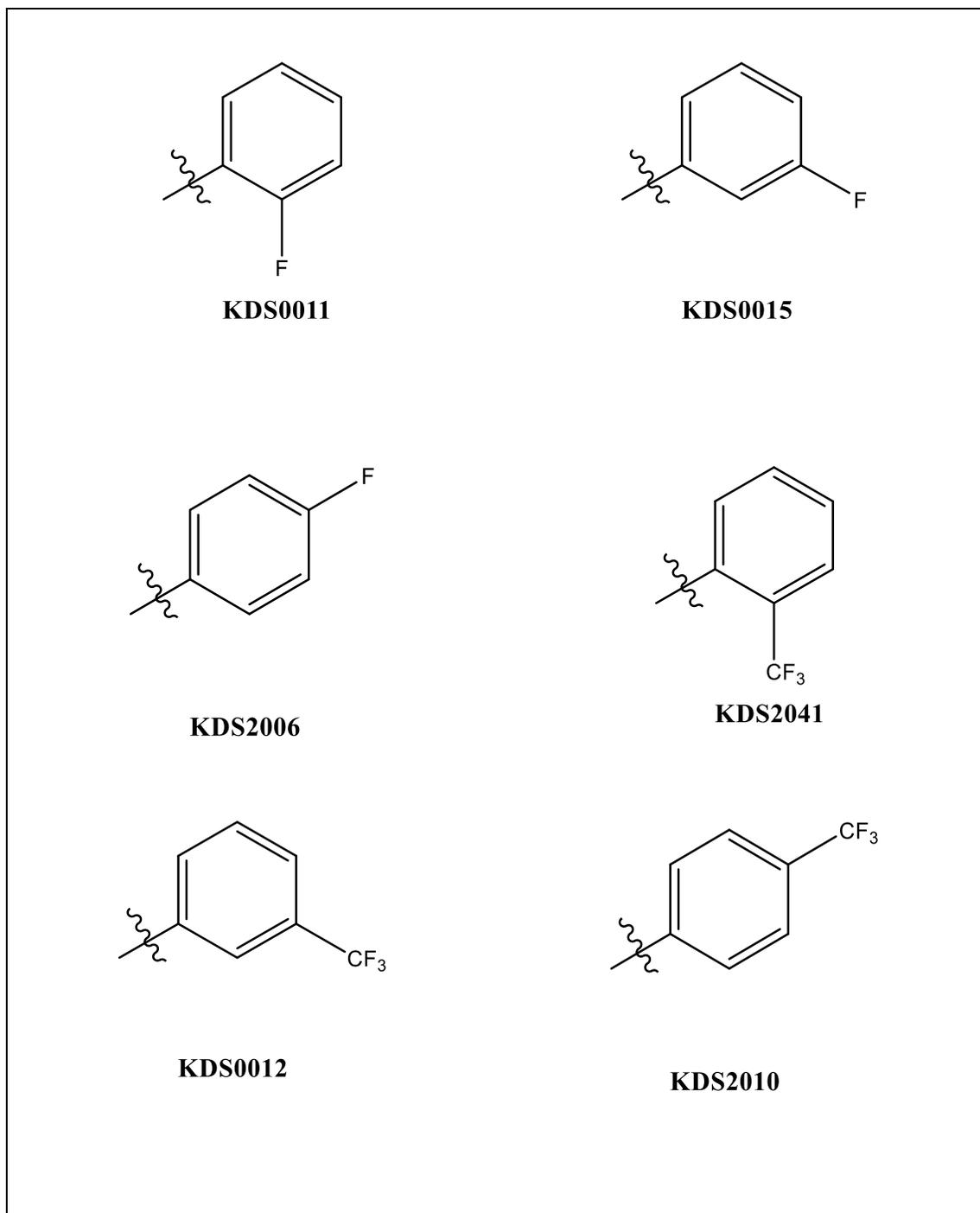
El fundamento principal de este ensayo se basa en los altos niveles de GABA sintetizado por MAO-B en astrocitos reactivos que puede provocar las alteraciones en la memoria de los modelos de animales con EA, usar el inhibidor irreversible selegilina se suprime la producción de GABA mejorando así la plasticidad sináptica y el aprendizaje en los modelos de ratones con EA. A los ratones se le administro selegilina por vía oral (10 mg/kg por día) durante un período de 4 semanas y se monitorearon los efectos sobre los astrocitos hipertrofiados y el nivel de GABA para comparar con los de tratamiento a corto plazo por un período de 3 días. Con esta dosis se demostró que la selegilina inhibe específicamente la actividad de la MAO-B en el cerebro, los altos niveles de GABA en ratones APP/PS1 se redujo significativamente en ratones de tipo salvaje (WT) después de 3 días de tratamiento con selegilina. Por el lado contrario, el tratamiento con selegilina de 4 semanas resultó en el regreso completo del nivel aberrante de GABA a los niveles de APP/PS1 no tratados (39).



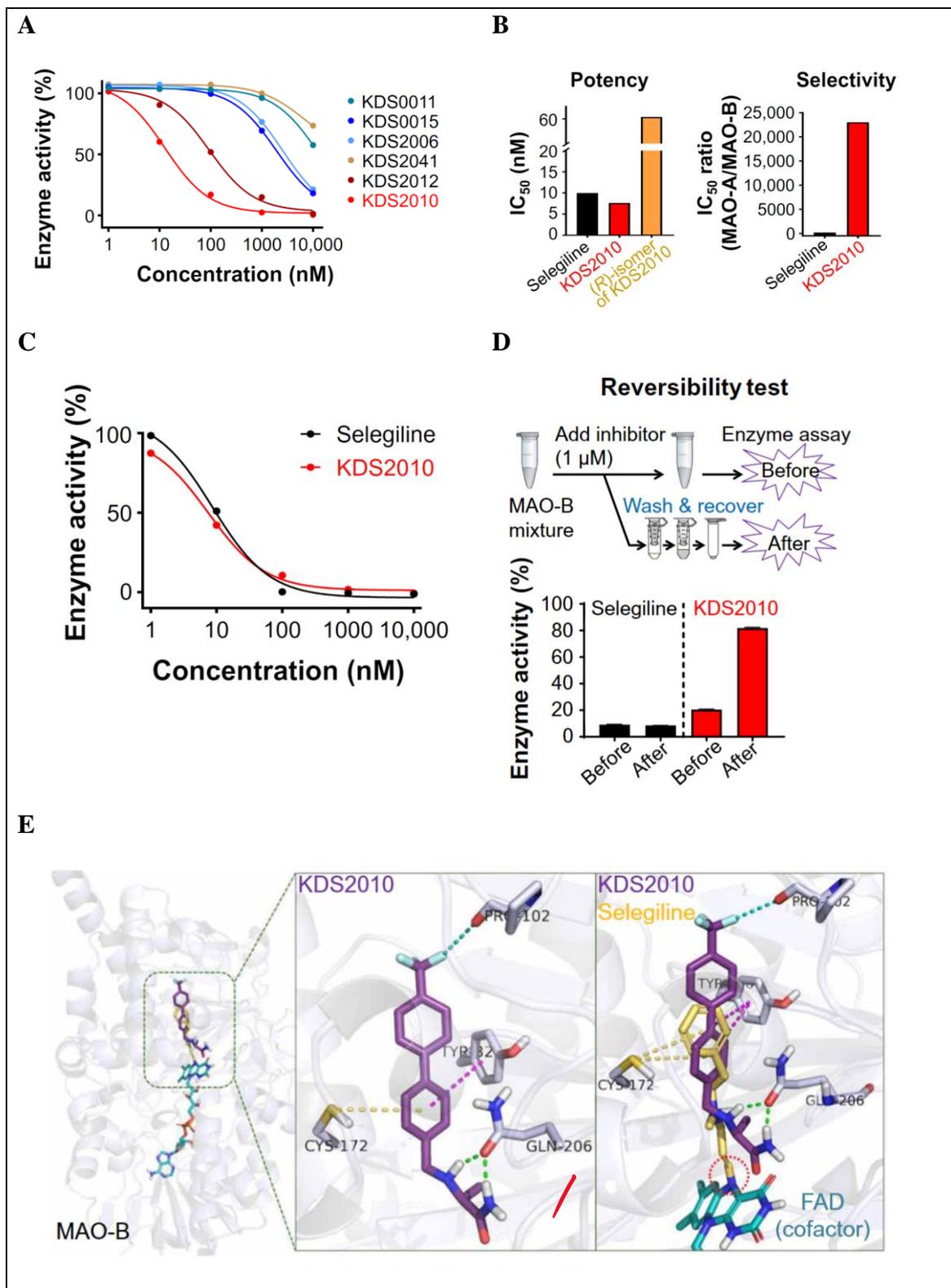
**Figura 16. Estructura química de KDS2010.**

Respecto a KDS2010, este fue sintetizado a partir de derivados de  $\alpha$ -aminoamida que contienen un resto bifenilo con varios grupos funcionales en el anillo fenilo B, luego se introdujo varios grupos atractores de electrones en el anillo de fenilo B (Figura 17). Luego, se colocaron los grupos atractores de electrones en las posiciones *orto*, *meta* y *para* y se descubrió que en la posición *para* (KDS2010) mostró la potencia más alta entre los derivados. KDS2010 exhibió una mayor potencia, es decir, un  $IC_{50} = 7,6$  nM y una selectividad mucho mayor para MAO-A que el inhibidor irreversible, la selegilina.

Además, KDS2010, que es el estereoisómero (*S*), mostró una marcada selectividad de enantiómero (selectividad de ocho veces) sobre el isómero (*R*). Por último, KDS2010 demostró mayor reversibilidad KDS2010 en la actividad de la enzima MAO-B en un experimento de lavado y recuperación, Observamos que KDS2010 causó una recuperación de más del 80 % de la actividad enzimática, mientras que casi no se observó recuperación para la selegilina (Figura 18) (39).



**Figura 17. Estructuras químicas de los derivados de KDS.**



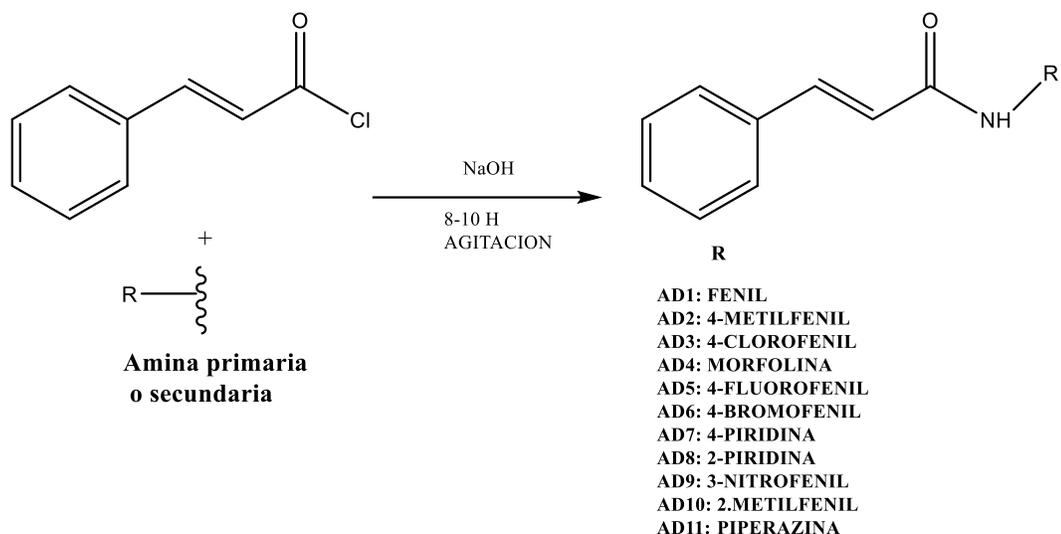
**Figura 18. Ensayos de derivados de KDS y MAO-B** **A.** Curvas de concentración-actividad enzimática de los derivados de KDS seleccionados en el ensayo de enzima MAO-B ( $n = 4$  ensayos). **B.** Potencia y selectividad de selegilina y KDS2010 basadas en niveles de  $IC_{50}$  (en nM) de MAO-B y la isoforma MAO-A. **C.** Curva de concentración-actividad

enzimática para selegilina y KDS2010 en el ensayo de enzima MAO-B ( $n = 4$  ensayos).**D.** Diagrama del protocolo de ensayo de reversibilidad y actividad enzimática normalizada al grupo tratado con sulfóxido de dimetilo en cada paso "antes" y "después".**E.**A LA izquierda: Posición de unión de selegilina (amarillo), dinucleótido de flavina y adenina (FAD) (cian) y KDS2010 (púrpura) dentro del bolsillo de unión de MAO-B. En el medio: las interacciones moleculares de KDS2010 se indican mediante la línea discontinua [enlace halógeno (cian), interacción  $\pi$ -azufre (amarillo),  $\pi$ - $\pi$  en forma de T (magenta) y enlace de hidrógeno (verde)]. A la derecha: la selegilina se unió covalentemente a FAD, un cofactor MAO-B (círculo rojo punteado). Fuente: Tomado de Park y col.,2019 (39).

Posteriormente, mediante un estudio de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad *in vitro* e *in vivo* (ADMCE/Tox) se evaluaron las propiedades farmacológicas de KDS2010. El compuesto mostró una baja actividad inhibidora del citocromo P450 ( $IC_{50} > 10 \mu M$  para cinco isotipos), baja actividad inhibidora de hERG (gen relacionado con el éter humano) ( $IC_{50} > 50 \mu M$ ) y excelente estabilidad tanto en el microsoma hepática (92 % restante) como en el plasma (98 % restante). Se confirmó que KDS2010 es seguro *in vivo* sin toxicidad significativa después de la administración oral de una dosis única de 1000 mg/kg y dosis consecutivas de 200 mg/kg por día durante 14 días. Respecto al tipo de inhibición, KDS2010 es un inhibidor competitivo que se dirige a la misma cavidad de unión que la selegilina, pero su interacción con residuos críticos en la cavidad de unión de MAO-B es más compacta y reversible, el factor que lo diferencia con la selegilina, que forma enlaces covalentes con FAD, se estima que es posible que la cola de amida de KDS2010 no se superponga con el cofactor FAD según los resultados del modelo molecular (39).

## 5.2 Derivados de enamidas

Kavully y colaboradores diseñaron nuevos inhibidores de MAO-B mediante el principio de hibridación molecular para diseñar inhibidores de enamida. Para la síntesis de estos, realizaron la mezcla de cloruro de cinamoílo y de aminas sustituidas (0,01 M cada una) en NaOH al 10 % (Figura19)(16).



**Figura 19. Rutas sintéticas para producir AD1 a AD11.**

Para los ensayos enzimáticos se usaron MAO-A y MAO-B humanas recombinantes y quinuramina (0,06 mM) y bencilamina (0,3 mM) como sustratos, respectivamente. De los 11 derivados, nueve mostraron una actividad inhibidora potente contra MAO-B a 10  $\mu\text{M}$  con actividades residuales de <40%, pero **AD4** y **AD11** mostraron actividades inhibidoras débiles. Los compuestos **AD3** y **AD9** mostraron las mayores actividades inhibidoras frente a MAO-B con valores de  $\text{IC}_{50}$  de 0,11 y 0,10  $\mu\text{M}$ , respectivamente, y fueron seguidos por **AD2** y **AD1** (0,51 y 0,71  $\mu\text{M}$ , respectivamente). La presencia de un grupo  $\text{NO}_2$  en la posición *meta* en el anillo **A** de **AD9** aumentó la potencia en la misma medida que el cloro en la posición *para* en el anillo **A** de **AD3**. Los otros cinco compuestos tenían valores  $\text{IC}_{50}$  que oscilaban entre 2,30 y 7,20  $\mu\text{M}$ . Nueve de los once compuestos inhibieron débilmente MAO-A con  $\text{IC}_{50}$  valores de >40  $\mu\text{M}$ , mientras que **AD9** y **AD7** tenían valores  $\text{IC}_{50}$  de 4,21 y 5,95  $\mu\text{M}$ , respectivamente. **AD3** tuvo el valor de índice de selectividad (SI) más alto para MAO-B en > 363,6, seguido por **AD9** en 42,1 (16).

Según el estudio de cinética, **AD3** y **AD9** son inhibidores de tipos competitivo de MAO, uniéndose al sitio activo de la enzima libre. Para el estudio de citotoxicidad **AD3** y **AD9** se evaluaron utilizando un ensayo MTT y líneas celulares VERO normales. Ambos compuestos lograron una viabilidad celular >89 % a 100  $\mu\text{g/ml}$ . El ensayo MTT reveló que los compuestos **AD3** y **AD9** eran relativamente no tóxicos para las líneas

celulares VERO normales con valores  $IC_{50}$  de 153,96 y 194,04  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. Según el estudio de reversibilidad para la inhibición de MAO-B en AD3 y AD9, las inhibiciones de MAO-B por **AD3** y **AD9** se recuperaron de 30,8 a 79,4 % y de 34,3% a 84,1 %, respectivamente. Estos valores de recuperación fueron similares a los de la lazabemida de referencia reversible (del 24,4 al 85,0%), a diferencia del inhibidor irreversible pargilina que se recuperó parcialmente (del 28,8 al 46,7%), por lo cual indicaría que ambos inhiben reversiblemente a MAO-B (16).

Según estudios de acoplamiento *in vitro* Docking molecular AD3 y AD9, ambos inhibidores ingresaron al sitio de unión de MAO-B al presentar FAD con un anillo aromático sustituido e interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógenos con la enzima, lo que sugiere que esta es la presentación preferida independientemente de la isoforma de MAO como se muestra en la figura 20 y 21 (16).

**Tabla 5. Inhibiciones de enzimas MAO humanas recombinantes y AChE por enamidas.**

Compuestos	Actividad residual a 10 $\mu$ M (%)			IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) <sup>a</sup>		
	MAO-A	MAO-B	AChE	MAO-A	MAO-B	SI <sup>b</sup>
<b>AD1</b>	94,5 $\pm$ 1,47	6,53 $\pm$ 2,55	83,1 $\pm$ 0,12	>40	0,71 $\pm$ 0,39	>56,3
<b>AD2</b>	99,6 $\pm$ 4,67	8,63 $\pm$ 1,49	78,8 $\pm$ 0,20	>40	0,51 $\pm$ 0,059	>78,4
<b>AD3</b>	72,9 $\pm$ 0,61	5,09 $\pm$ 1,85	71,9 $\pm$ 1,20	>40	<b>0,11 <math>\pm</math> 0,024</b>	>363,6
<b>AD4</b>	85,0 $\pm$ 4,43	76,1 $\pm$ 1,50	82,7 $\pm$ 1,09	>40	>40	
<b>AD5</b>	98,5 $\pm$ 1,01	22,9 $\pm$ 2,38	72,7 $\pm$ 1,01	>40	4,91 $\pm$ 0,021	>8,2
<b>AD6</b>	80,6 $\pm$ 5,40	12,5 $\pm$ 2,69	81,9 $\pm$ 0,12	>40	2,30 $\pm$ 0,010	>17,4
<b>AD7</b>	34,1 $\pm$ 1,09	39,7 $\pm$ 2,66	83,1 $\pm$ 0,21	5,95 $\pm$ 0,83	6,52 $\pm$ 0,002	0,91
<b>AD8</b>	86,4 $\pm$ 1,22	18,6 $\pm$ 0,80	83,5 $\pm$ 1,31	>40	2,81 $\pm$ 0,81	>14,2
<b>AD9</b>	25,7 $\pm$ 1,74	-3,16 $\pm$ 2,21	70,0 $\pm$ 0,11	4,21 $\pm$ 0,98	<b>0,10 <math>\pm</math> 0,013</b>	42,1
<b>AD10</b>	92,0 $\pm$ 1,12	38,2 $\pm$ 2,45	77,6 $\pm$ 0,13	>40	7,20 $\pm$ 0,18	>5,6
<b>AD11</b>	84,8 $\pm$ 2,08	73,3 $\pm$ 3,03	75,5 $\pm$ 1,69	>40	>40	
<b><sup>c</sup>Clorgilina</b>				0,0050 $\pm$ 0,000052	2,45 $\pm$ 0,035	
<b><sup>d</sup>Lazabemida</b>				-	0,040 $\pm$ 0,0019	

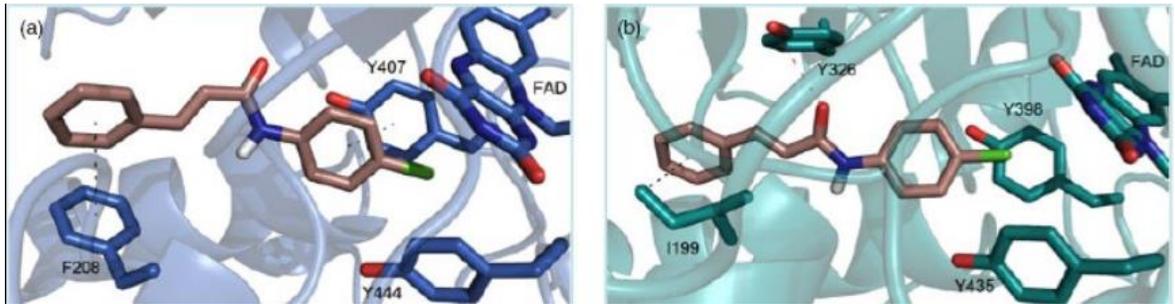
<sup>a</sup> CI<sub>50</sub> valores de concentración inhibitoria del 50% (IC<sub>50</sub>) ( $\mu$ M)

<sup>b</sup>SI: índice de selectividad

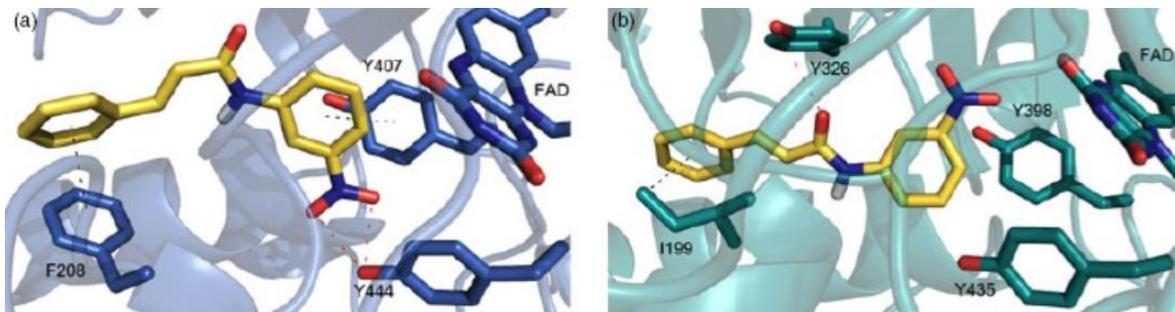
<sup>c</sup>Clorgilina: Inhibidor de referencia de hMAO-A.

<sup>d</sup>Lanzabemida: inhibidor de referencia reversible de la MAO-B

Fuente: Tomado y adaptado Kavully y col., 2020 (16).



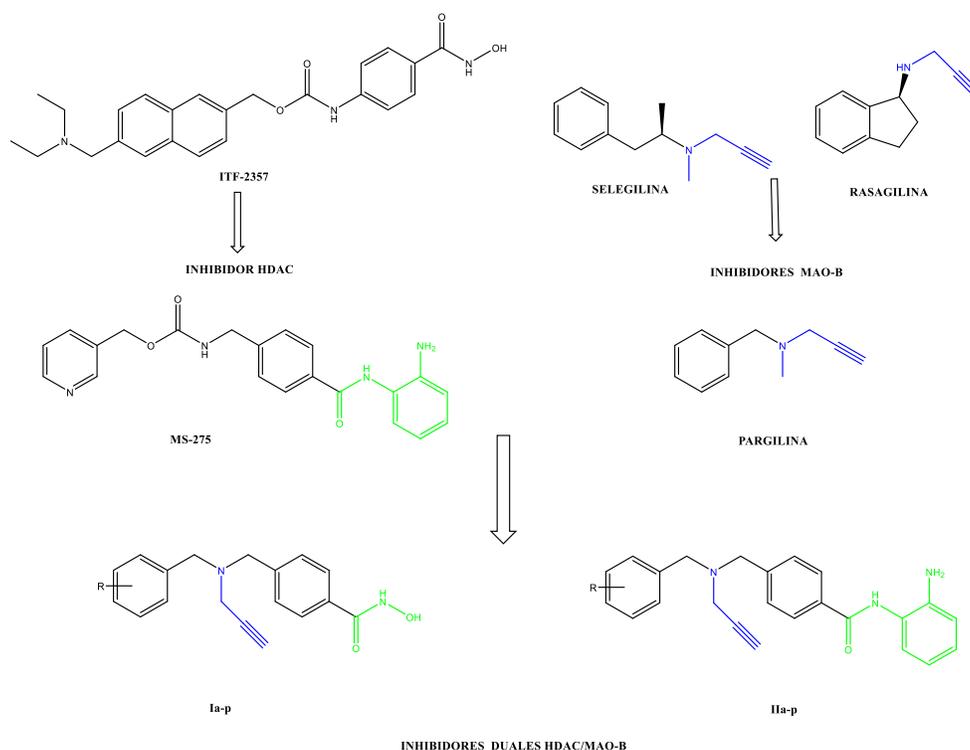
**Figura 20.** Las poses mejor calificadas para AD3 en los sitios de unión de MAO-A (a) y MAO-B (b). Las proteínas se representan como dibujos animados, mientras que los residuos involucrados en las interacciones ligando-proteína se representan en formato de barra. Se muestran las interacciones hidrofóbicas  $\pi$ - $\pi$  (líneas negras) y los enlaces H (líneas rojas). Fuente: Tomado de Kavully y col., 2020 (16)



**Figura 21.** Las poses mejor calificadas para AD9 en los sitios de unión de MAO-A (a) y MAO-B (b). Las proteínas se representan como dibujos animados, mientras que los residuos involucrados en las interacciones ligando-proteína se representan en formato de barra. Se muestran las interacciones hidrofóbicas  $\pi$ - $\pi$  (líneas negras) y los enlaces H (líneas rojas)- Fuente: Tomado Kavully y col., 2020 (16).

### 5.3 Inhibidores duales HDAC1/MAO-B

Las histonas desacetilasas (HDAC) regulan los procesos celulares mediante la eliminación de un grupo acetilo de los residuos de lisina de las proteínas diana, estas se encuentran dentro del organismo y se dividen en familias según su mecanismo catalítico. La reducción de la actividad de estas moléculas reduce el efecto tóxico de la acumulación de A $\beta$  al mejorar la actividad fagocítica de la microglía, además juegan un papel importante en la regulación de la expresión de genes inflamatorios, interfiriendo con la función de las células inmunitarias y regulando las vías de señalización inflamatoria. La *o*-aminobenzamida y los restos de ácido hidroxicinámico son dos tipos diferentes de agentes quelantes de iones de zinc y también son los principales grupos funcionales de los HDACI. Yao y colaboradores, combinaron los fármacos de los HDACI y los inhibidores de MAO-B en una molécula utilizando la estructura de pargilina como plantilla y el anillo aromático (40) obteniendo nuevos híbridos moleculares con parte de ambas estructuras, los cuales fueron evaluados sobre HDAC y MAO-B, mostrando actividad dual (Figura 22)



**Figura 22. Estructuras de híbridos inhibidores duales de HDAC y MAO-B.**

Para evaluar las actividades inhibitorias de los compuestos dirigidos MAO-B se evaluaron primero la inhibición contra h MAO-B a una concentración de 100nM y se usó Pargilina como fármaco de referencia, luego fueron seleccionados los 6 compuestos con una inhibición más alta para determinar sus valores de IC<sub>50</sub> frente a h MAO-B(40). Los resultados se presentan en la tabla 6.

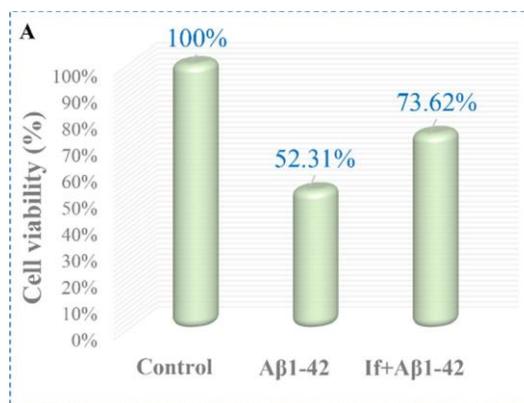
**Tabla 6. Valores de IC<sub>50</sub> de los compuestos seleccionados y pargilina frente a MAO-B.**

Compuestos	IC <sub>50</sub> (nM)
<b>Ib</b>	136,4 ± 5,8
<b>If</b>	99,0 ± 1,3
<b>Ik</b>	101,0 ± 3,0
<b>Io</b>	107,9 ± 2,5
<b>IIg</b>	102,6 ± 0,3
<b>III</b>	106,4 ± 4,3
<b>Pargilina<sup>a</sup></b>	116,8 ± 0,3

<sup>a</sup>Pargilina= inhibidor de referencia para MAO-B

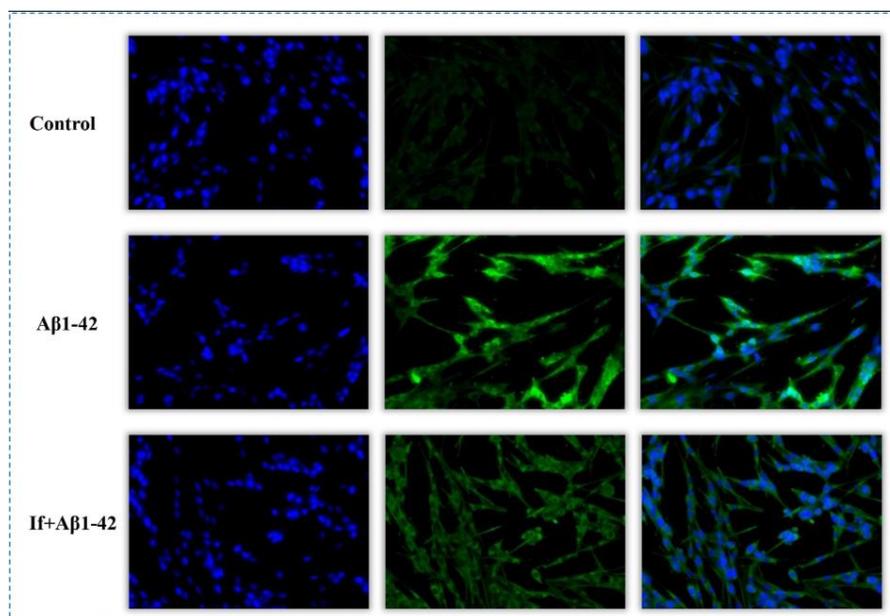
Tomado y adaptado de Yao y col.,(2022) (40)

Entre los compuestos evaluados el que presentó mayor actividad contra h MAO-B fue el híbrido **If** superando a pargilina. También se evaluó el efecto neuroprotector y actividad antioxidante del híbrido **If**. La toxicidad del híbrido **If** se determinó mediante el ensayo CCK-8 utilizando células PC12 derivadas de feocromocitoma de rata inducida por Aβ1-42. Como se informa en la figura 23, en comparación con el grupo control, la viabilidad de las células tratadas con Aβ1-42 se redujo notablemente al 52,31 %, mientras que la viabilidad de las células tratadas en combinación con **If** aumentó al 73,62 %, lo que demuestra que el híbrido **If** podría revertir la lesión celular inducida por Aβ1- 42 (40)



**Figura 23. Efecto neuroprotector del híbrido If contra la toxicidad inducida por Aβ1-42 a la concentración de 50 μM.** Tomado y adaptado de Yao y col.,(2022) (40)

En un ensayo de fluorescencia se evaluó el estrés y daño oxidativo mediante el nivel de especies reactivas del oxígeno (ROS) intracelular, en el cual la intensidad de la fluorescencia verde es proporcional al nivel de ROS. Como se observa en la figura 24 el híbrido **If** disminuyó los niveles del ROS intracelular (40).

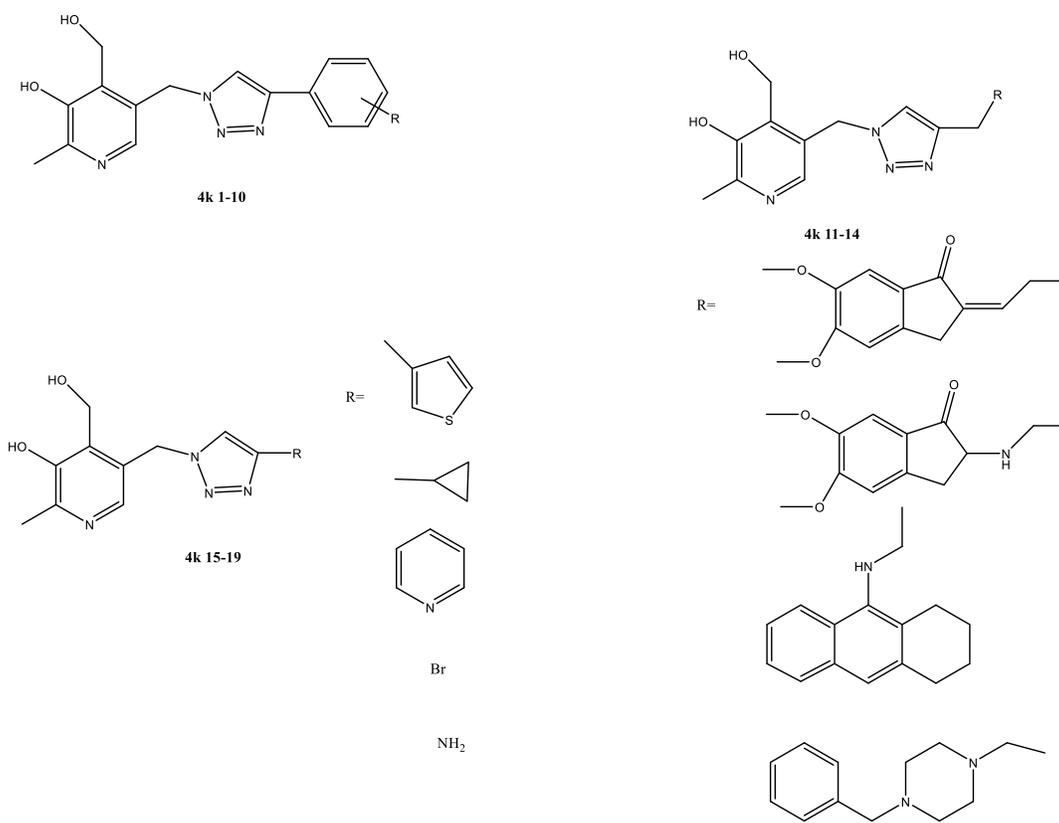


**Figura 24. Efecto inhibitorio del híbrido If contra la generación de ROS intracelular.** La fluorescencia azul indica el núcleo y la fluorescencia verde indica el citoplasma. Tomado y adaptado de Yao y col.,(2022) (40)

En la investigación también se evaluó si **If** era capaz de penetrar la barrera hematoencefálica (BBB), para esto se usaron dos programas virtuales *in silico* de predicción de propiedades similares a fármacos ADMETlab y SwissADME y *in vivo* con modelos de ratones ICR, basado en ambos estudios se probó que **If** podría penetrar instantáneamente en la BBB y acumularse en el tejido cerebral(40).

#### 5.4 Inhibidores duales de AChE y MAO-B a partir de derivados de piridoxina.

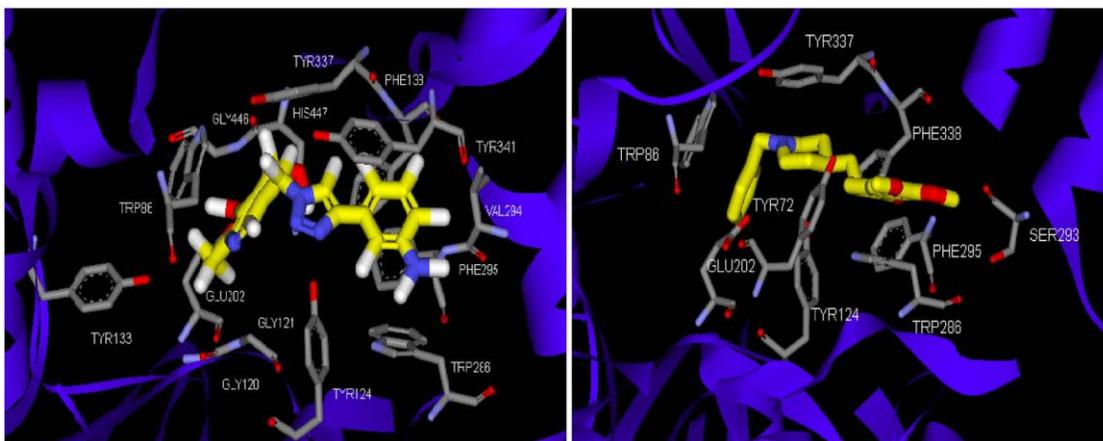
La piridoxina es un 4-metanol en la esencia de la vitamina B6, una importante vitamina soluble en agua presente de forma natural en muchos alimentos, estudios recientes exponen las propiedades antioxidantes y de inhibición enzimática (41). . En el presente estudio de utilizaron los derivados de piridoxina para evaluar su actividad como inhibidores de AChE y MAO (Figura 25).



**Figura 25. Estructuras de los derivados sintéticos de piridoxina.**

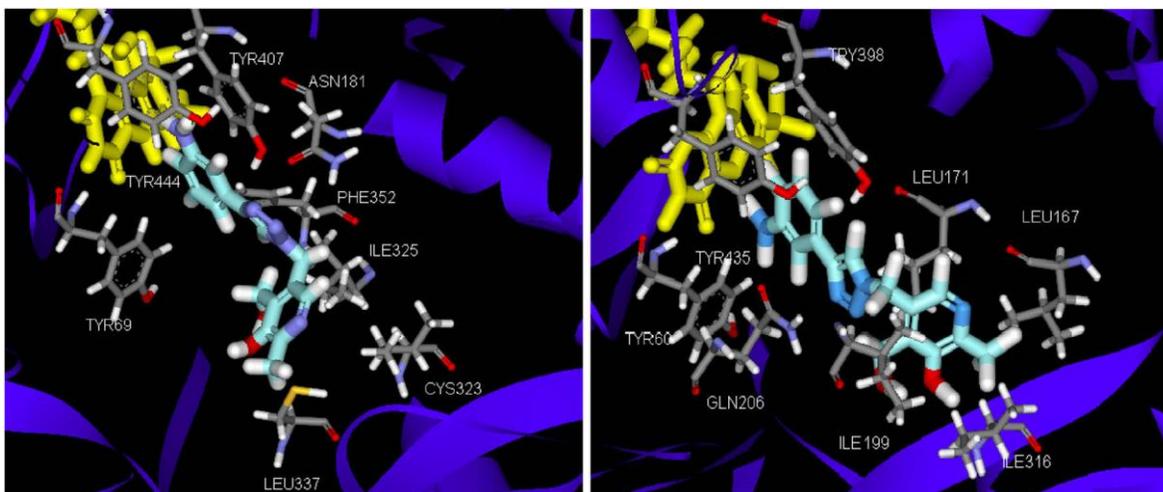
Los derivados de piridoxina obtenidos se pueden clasificar en tres clases; la clase I contiene un anillo aromático ( **4k1–4k10** ), la clase II contiene grupos funcionales de inhibidores de la AChE, como tacrina y donepezilo ( **4k11–4k14** ), y la clase III contiene heterociclos de amina o bromo ( **4k15 –4k19** ). Se evaluó la inhibición *in vitro* de MAO y AChE para estos compuestos utilizando como referencia a clorgilina, selegilina y donepezilo, donde se obtuvo que el compuesto **4k5**, fue el mejor inhibidor para MAO-B con un valor de  $IC_{50}$  0,039  $\mu$ M (41).

Se realizaron estudios de acoplamiento molecular de **4k5** con AutoDock para AChE y MAO. En la figura 26 se muestran las geometrías de acoplamiento de **4k5** y donepezilo con AChE, donde existen dos dominios funcionales en el sitio activo de AChE. Al igual que donepezilo, **4k5** se fija en el sitio activo con interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre Trp86 y Phe295 por la contribución de anillos aromáticos (41).



**Figura 26. Modelos de acoplamiento 3D de compuestos derivados y AChE.** A la izquierda **4k5** con AChE y a la derecha donepezilo con AChE. La enzima se muestra como una cinta. Los ligandos en amarillo y los residuos claves que interactúan se muestran en modelos de barras y de color gris.

Respecto a MAO, este tiene tres sitios funcionales en el sitio activo (Figura 27). Los resultados de acoplamiento muestran que **4k5** está incrustado en un gran bolsillo hidrofóbico formado por Tyr 69, Ile199, Leu167, Gln206, Ile316 y Leu171 en el caso de MAO-B. Por otro lado, en MAO-A **4k5** no logró formar ninguna interacción de apilamiento  $\pi$ - $\pi$  (41)



**Figura 27. Modelos de acoplamiento 3D de compuestos derivados y MAO.** A la izquierda **4k5** con MAO-A y a la derecha **4k5** con MAO-B. La enzima se muestra como una cinta. El cofactor FAD en amarillo, los ligandos (azul-verde) y los residuos clave que interactúan se muestran en modelos de barras de color gris.

## CONCLUSIONES

Los iMAOs son moléculas que han demostrado múltiples funciones a nivel neuronal disminuyendo la probabilidad de formación de agregados de A $\beta$ , disminuyen el estrés oxidativo y la hiperfosforilación de Tau.

Los fármacos iMAOs han aumentado su uso actualmente para el tratamiento de la EA, sin embargo, se ha evidenciado que el uso prolongado de estos no tiene beneficios positivos en cuanto a disminución de elementos tóxicos en el cerebro, por lo que la búsqueda de nuevas moléculas inhibitoras de MAOs resulta de gran importancia en la clínica.

En la naturaleza hay diversas plantas que han presentado entre sus extractos componentes con actividad inhibitoria óptima contra MAO-A y MAO-B, además de otras propiedades como antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas que podrían tener un efecto positivo para en cuerpo humano en caso de ser utilizadas como componentes de fármacos.

Por otro lado, las moléculas sintetizadas han evidenciado según estudios de cinética enzimática presentar potentes características inhibitorias, además los estudios de neurotoxicidad demuestran las propiedades que tiene de traspasar la barrera hematoencefálica y los bajos niveles de toxicidad que emiten los compuestos. Otro factor importante de estos compuestos sintetizados es también la posibilidad de desarrollar fármacos con más de una molécula objetivo, lo que les permite contribuir a la disminución y eliminación agentes tóxicos a nivel cerebral y de esta manera disminuir las probabilidades de la progresión de la EA.

No se han encontrado o sintetizado moléculas que contengan mejores características que las de referencia, sin embargo, es importante continuar con los estudios buscando nuevos compuestos o con aquellas moléculas que muestran mejores resultados, ya que según la evidencia los iMAOs han presentado efectos como potenciales tratamientos para las enfermedades neurodegenerativas como es el caso de la EP y EA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020;25(24):5789.
2. Manzoor S, Hoda N. A comprehensive review of monoamine oxidase inhibitors as Anti-Alzheimer's disease agents: A review. *Eur J Med Chem*. 2020;206:112787.
3. Paudel P, Seong SH, Shrestha S, Jung HA, Choi JS. In Vitro and in Silico Human Monoamine Oxidase Inhibitory Potential of Anthraquinones, Naphthopyrones, and Naphthalenic Lactones from *Cassia obtusifolia* Linn Seeds. *ACS Omega*. 2019;4(14):16139-52.
4. Zagórska A, Jaromin A. Perspectives for New and More Efficient Multifunctional Ligands for Alzheimer's Disease Therapy. *Molecules*. 2020;25(15).
5. Hung S-Y, Fu W-M. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *Journal of Biomedical Science*. 2017;24(1):47.
6. Kumar A, Sidhu J, Goyal A, Tsao JW. Alzheimer Disease. *StatPearls* [Internet]. 2021 August 11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/>.
7. Liu P-P, Xie Y, Meng X-Y, Kang J-S. History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2019;4(1):29.
8. Liyuan Fan CM, Xinchao Hu , Shuo Zhang , Zhihua Yang , Zhengwei Hu , Huifang Sun , Yu Fan , Yali Dong , Jing Yang , Changhe Shi, Yuming Xu. *PubMed*. New Insights Into the Pathogenesis of Alzheimer's Disease2019.
9. Erkinen MG, Kim MO, Geschwind MD. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(4).
10. Cummings JL, Tong G, Ballard C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. *J Alzheimers Dis*. 2019;67(3):779-94.
11. Chu LW. Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment. *Hong Kong Med J*. 2012;18(3):228-37.
12. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Rep*. 2019;20(2):1479-87.
13. Mendiola-Precoma J, Berumen LC, Padilla K, Garcia-Alcocer G. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016:2589276.

14. Finberg JP, Rabey JM. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. *Front Pharmacol.* 2016;7:340.
15. Sabri MA, Saber-Ayad MM. MAO Inhibitors. *StatPearls* [Internet]. 2022 January. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557395/>.
16. Kavully FS, Oh JM, Dev S, Kaipakasser S, Palakkathondi A, Vengamthodi A, et al. Design of enamides as new selective monoamine oxidase-B inhibitors. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2020;72(7):916-26.
17. Cai Z. Monoamine oxidase inhibitors: promising therapeutic agents for Alzheimer's disease (Review). *Mol Med Rep.* 2014;9(5):1533-41.
18. Tripathi AC, Upadhyay S, Paliwal S, Saraf SK. Privileged scaffolds as MAO inhibitors: Retrospect and prospects. *Eur J Med Chem.* 2018;145:445-97.
19. Uddin MS, Kabir MT, Rahman MH, Alim MA, Rahman MM, Khatkar A, et al. Exploring the Multifunctional Neuroprotective Promise of Rasagiline Derivatives for Multi-Dysfunctional Alzheimer's Disease. *Curr Pharm Des.* 2020;26(37):4690-8.
20. do Carmo Carreiras M, Ismaili L, Marco-Contelles J. Propargylamine-derived multi-target directed ligands for Alzheimer's disease therapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 2020;30(3):126880.
21. Baysal I, Yabanoglu-Ciftci S, Tunc-Sarisozen Y, Ulubayram K, Ucar G. Interaction of selegiline-loaded PLGA-b-PEG nanoparticles with beta-amyloid fibrils. *J Neural Transm (Vienna).* 2013;120(6):903-10.
22. Behl T, Kaur D, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Zengin G, et al. Role of Monoamine Oxidase Activity in Alzheimer's Disease: An Insight into the Therapeutic Potential of Inhibitors. *Molecules.* 2021;26(12).
23. Cai M, Yang EJ. Effect of Combined Electroacupuncture and Selegiline Treatment in Alzheimer's Disease: An Animal Model. *Front Pharmacol.* 2020;11:606480.
24. Galiniak S, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D. Health benefits of resveratrol administration. *Acta Biochim Pol.* 2019;66(1):13-21.
25. Gomes BAQ, Silva JPB, Romeiro CFR, Dos Santos SM, Rodrigues CA, Gonçalves PR, et al. Neuroprotective Mechanisms of Resveratrol in Alzheimer's Disease: Role of SIRT1. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:8152373.

26. Simunkova M, Alwasel SH, Alhazza IM, Jomova K, Kollar V, Rusko M, et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease. *Arch Toxicol.* 2019;93(9):2491-513.
27. Song X, Tan L, Wang M, Ren C, Guo C, Yang B, et al. Myricetin: A review of the most recent research. *Biomed Pharmacother.* 2021;134:111017.
28. Liu M, Guo H, Li Z, Zhang C, Zhang X, Cui Q, et al. Molecular Level Insight Into the Benefit of Myricetin and Dihydromyricetin Uptake in Patients With Alzheimer's Diseases. *Front Aging Neurosci.* 2020;12:601603.
29. Khan H, Ullah H, Aschner M, Cheang WS, Akkol EK. Neuroprotective Effects of Quercetin in Alzheimer's Disease. *Biomolecules.* 2019;10(1).
30. Goozee KG, Shah TM, Sohrabi HR, Rainey-Smith SR, Brown B, Verdile G, et al. Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease. *Br J Nutr.* 2016;115(3):449-65.
31. Chainoglou E, Hadjipavlou-Litina D. Curcumin in Health and Diseases: Alzheimer's Disease and Curcumin Analogues, Derivatives, and Hybrids. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6).
32. Paudel P, Seong SH, Fauzi FM, Bender A, Jung HA, Choi JS. Establishing GPCR Targets of hMAO Active Anthraquinones from *Cassia obtusifolia* Linn Seeds Using In Silico and In Vitro Methods. *ACS Omega.* 2020;5(13):7705-15.
33. Oh JM, Kim YJ, Gang HS, Han J, Ha HH, Kim H. Antimicrobial Activity of Divaricatic Acid Isolated from the Lichen *Evernia mesomorpha* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules.* 2018;23(12).
34. Jeong GS, Kang MG, Han SA, Noh JI, Park JE, Nam SJ, et al. Selective Inhibition of Human Monoamine Oxidase B by 5-hydroxy-2-methyl-chroman-4-one Isolated from an Endogenous Lichen Fungus *Daldinia fissa*. *J Fungi (Basel).* 2021;7(2).
35. Alam F, Khan GN, Asad M. *Psoralea corylifolia* L: Ethnobotanical, biological, and chemical aspects: A review. *Phytother Res.* 2018;32(4):597-615.
36. Mahajan N, Koul B, Gupta P, Shah BA, Singh J. *Psoralea corylifolia* Linn: Panacea to several maladies. *South African Journal of Botany.* 2022.
37. Zarmouh NO, Eyunni SK, Soliman KFA. The Benzopyrone Biochanin-A as a reversible, competitive, and selective monoamine oxidase B inhibitor. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2017;17(1):34.

38. Oh JM, Jang H-J, Kang M-G, Song S, Kim D-Y, Kim JH, et al. Acetylcholinesterase and monoamine oxidase-B inhibitory activities by ellagic acid derivatives isolated from *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii*. *Scientific Reports*. 2021;11(1):13953.
39. Park J-H, Ju YH, Choi JW, Song HJ, Jang BK, Woo J, et al. Newly developed reversible MAO-B inhibitor circumvents the shortcomings of irreversible inhibitors in Alzheimer's disease. *Science Advances*. 2019;5(3):eaav0316.
40. Yao C, Jiang X, Zhao R, Zhong Z, Ge J, Zhu J, et al. HDAC1/MAO-B dual inhibitors against Alzheimer's disease: Design, synthesis and biological evaluation of N-propargylamine-hydroxamic acid/o-aminobenzamide hybrids. *Bioorganic Chemistry*. 2022;122:105724.
41. Jia Z, Wen H, Huang S, Luo Y, Gao J, Wang R, et al. "Click" assembly of novel dual inhibitors of AChE and MAO-B from pyridoxine derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Heterocyclic Communications*. 2022;28(1):18-25.