



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

**HÍBRIDOS MOLECULARES COMO POTENCIALES FÁRMACOS PARA EL  
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

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

**AUTOR: PEDRO ANDRÉS QUEZADA INOSTROZA  
PROFESORA GUIA: DRA. LIC. BIOL. MARGARITA GUTIERREZ CABRERA**

**TALCA – CHILE  
AÑO 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



## TABLA DE CONTENIDOS

1. Resumen.....	6
2. Introducción.....	7
3. Objetivo.....	9
4. Metodología de búsqueda y organización de la información.....	10
5. Marco Teórico.....	
5.1 Epidemiología del Alzheimer.....	15
5.2 Factores de Riesgo y de Prevención de la Enfermedad del Alzheimer.....	20
5.3 Etiología Genética del Alzheimer.....	22
5.4 Patología de la Enfermedad del Alzheimer.....	22
5.5 Mecanismo de placas A $\beta$ amiloides.....	25
5.6 Alteraciones de la proteína Tau.....	26
5.7 Neurotransmisores y el Alzheimer.....	27
5.7.1 Acetilcolina (Ach).....	28
5.7.2 Glutamato.....	30
5.8 Tratamiento para el Alzheimer.....	31
5.9 Híbridos Moleculares como Fármacos.....	33
5.9.1 Híbridos moleculares basados en Tacrina.....	36
5.9.1.1 Híbrido 7-MEOTA con Amantadina.....	41
5.9.1.2 Híbridos Tacrina-neuroaminas.....	44
5.9.1.3 Híbridos Tacrina – ferúlico.....	49
5.9.1.4 Híbridos Tacrina – ibuprofeno.....	53
5.9.2 Híbridos de tetrahydroacridina con ácido diclorobenzoico.....	53
5.9.3 Híbridos de chalcona, vitamina E y donepezilo.....	55
5.9.4 Híbridos de Cumarina.....	58
6. Conclusión.....	62
7. Bibliografía .....	63

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1.</b> Actividades biológicas de los híbridos 1 y 2 de 7-MEOTA-amantadina. (nd. No detectado).....	42
<b>Tabla 2.</b> Inhibición de AChE y BuChE de los híbridos tacrina – neuroaminas.....	48
<b>Tabla 3.</b> Inhibición de AChE y BuChE de los híbridos tacrina-ferúlico (IC <sub>50</sub> , nM).....	51
<b>Tabla 4.</b> Actividades inhibitoras de la colinesterasa de los compuestos sintetizados 3a–3h.....	54
<b>Figura 1.</b> El crecimiento en números de personas con demencia (en millones) en países de renta baja, media y alta .....	17
<b>Figura 2.</b> Estimación de la prevalencia de demencia en mayores de 60 años .....	17
<b>Figura 3.</b> Estimación de la incidencia de demencia en mayores de 60 años. ....	18
<b>Figura 4.</b> Causas principales de defunción en el mundo en 2019.....	19
<b>Figura 5.</b> Patogenia de la enfermedad de Alzheimer (EA). Hipótesis de la Cascada amiloide. APP: proteína precursora del amiloide.....	24
<b>Figura 6.</b> Enfermedad de Alzheimer presenil, corteza cerebral. A) Numerosas placas neuríticas β-amiloides, a poco aumento. B) Ovillos neurofibrilares de (pTau) ocupando el citoplasma de numerosas neuronas (tinción de Del Río Hortega con carbonato de planta amoniacal).....	24
<b>Figura 7.</b> Procesamiento de APP. A la izquierda, vía amiloidogénica y a la derecha, vía no amiloidogénica.....	26
<b>Figura 8.</b> Proceso de neurotransmisión entre dos neuronas.....	28
<b>Figura 9.</b> Proceso de neurotransmisión de ACh. ....	29
<b>Figura 10.</b> Estructuras Químicas de fármacos utilizados para la enfermedad de Alzheimer hasta el 2020.....	32
<b>Figura 11.</b> Representacion general de fármacos híbridos.....	33
<b>Figura 12.</b> Diseño de Moléculas derivadas de Tacrina.....	36

<b>Figura 13.</b> Híbrido de tacrina ( $IC_{50} = 0.03 \mu M$ ) y selegina ( $IC_{50} = 0.01125 \mu M$ ), inhibidor de la actividad de AChE y MAO.....	37
<b>Figura 14.</b> Híbrido de tacrina y 7-metoxiheptafilina, inhibidor de AchE y actividad antioxidante.....	39
<b>Figura 15.</b> Híbrido formado por dos restos tacrinos unidos a través de cistamina.....	40
<b>Figura 16.</b> Diseño de los híbridos <b>1</b> y <b>2</b> de 7-MEOTA-amantadina.....	41
<b>Figura 17.</b> Ruta de síntesis de híbrido 7-MEOTA-amantadina tioureas.....	43
<b>Figura 18.</b> Diseño de los híbridos tacrina – neuroamina.....	45
<b>Figura 19.</b> Síntesis de los híbridos tacrina – neuroaminas <b>12-26</b> .....	46
<b>Figura 20.</b> híbridos tacrina – neuroaminas.....	47
<b>Figura 21.</b> Síntesis de los híbridos tacrina-ferúlico <b>31-33</b> .....	49
<b>Figura 22.</b> Obtención del híbrido <b>34</b> .....	50
<b>Figura 23.</b> Síntesis de híbridos tacrina-ferúlico ( $CI_{50}$ , nM).....	51
<b>Figura 24.</b> Síntesis de Híbridos de tetrahidroacridina con ácido diclorobenzoico, <b>2a–2h</b> y <b>3a–3h</b> . Reactivos: (a) ácido 3,5-diclorobenzoico, CDMT, <i>N</i> -metilmorfolina, THF; (b) HCl/éter.....	53
<b>Figura 25.</b> Estrategia sintética para la obtención de híbridos multitarget: Chalcona:vitaminaE:donepezilo.....	55
<b>Figura 26.</b> Híbrido multitarget más activo de la serie chalcona-vitamina E-donepezilo.....	56
<b>Figura 27.</b> (A) Citotoxicidad de <b>17f</b> en células PC12. (B) La atenuación de la lesión de células PC12 inducida por $H_2O_2$ por el compuesto <b>17f</b> se probó utilizando el ensayo MTT. (C) La actividad LDH del compuesto <b>17f</b> sobre la lesión celular PC12 inducida por $H_2O_2$ se evaluó mediante el ensayo LDH. VE: vitamina E.....	57
<b>Figura 28.</b> Protocolo de diseño de híbridos de ácido fenólico y 1,3,4-oxadiazol portadores de cumarina como agentes anti-Alzheimer.....	58
<b>Figura 29.</b> Híbridos cumarina-triazol como agentes anti alzheimer.....	59

## RESUMEN

La enfermedad del Alzheimer es la forma más común de demencia, consiste en un trastorno neurodegenerativo irreversible que se caracteriza por un deterioro cognitivo progresivo y atrofia cerebral, fue descrita y diagnosticada por primera vez en 1906 por el Dr. Alois Alzheimer. No se tiene conocimiento exacto de su etiología, sin embargo, se han descrito algunos factores que pueden favorecer su desarrollo entre los cuales destaca principalmente la edad, su patogénesis es compleja, ya que se alteran varios mecanismos biológicos, siendo los más relevantes, la deposición de  $\beta$ -amiloide y la formación de ovillos neurofibrilares intraneuronales.

Considerando que hacia el año 2050 se ha estimado que un 70% de la población con demencia vivirá en regiones de menor desarrollo, las que son el principal foco de prevalencia de este trastorno que aún no tiene cura, solo tratamientos que buscan disminuir los efectos que este ocasiona, de aquí nace la importancia de poder conocer y entender de mejor manera la enfermedad del Alzheimer, con la finalidad de poder encontrar un tratamiento óptimo. Es por ello que el presente estudio tiene como propósito comprender los híbridos moleculares como potenciales fármacos para el tratamiento de la enfermedad del Alzheimer.

**Palabras claves: demencia, Alzheimer, híbridos moleculares,  $\beta$ -amiloide, ovillo neurofibrilar**

## INTRODUCCIÓN

La demencia según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es un síndrome, generalmente de naturaleza crónica o progresiva, caracterizado por el deterioro de la función cognitiva, es decir, la capacidad para procesar el pensamiento, más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal. La demencia afecta a la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio. Los tipos de demencia son múltiples y variados, sin embargo, la enfermedad del Alzheimer (EA) es la forma más común de esta, representando entre un 60% y un 70% de los casos.

La EA fue descrita y diagnosticada por primera vez por el Dr. Alois Alzheimer en 1906, esta es un trastorno neurodegenerativo irreversible que se caracteriza por un deterioro cognitivo progresivo y la atrofia cerebral. A excepción de las infrecuentes formas hereditarias autosómicas dominantes, no se tiene conocimiento exacto de su etiología, aun así, se han descrito algunos factores que pueden facilitar su desarrollo entre los que destaca principalmente la edad. Su patogénesis es compleja, puesto que se altera un gran número de mecanismos biológicos, entre los que se encuentra la deposición de  $\beta$ -amiloide, la formación de ovillos neurofibrilares intraneuronales (NTFs), neuroinflamación, alteración de las enzimas Acetilcolinesterasa (AChE), butirilcolinesterasa (BuChE), entre otros, sin embargo, la cascada amiloide sigue siendo su teoría etiopatogenia más respaldada.

A pesar del esfuerzo investigativo que se viene realizando en las últimas décadas, desde el año 2003 no se ha comercializado ningún tipo de medicamento nuevo contra la EA, a pesar de eso, existen numerosas moléculas que se encuentran en ensayos clínicos, ya sean inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE),  $\beta$ -secretasa (BACE-1) y  $\gamma$ -secretasa, agonistas y antagonistas de receptores de neurotransmisores, anticuerpos que tienen como finalidad eliminar agregados proteicos de  $\beta$ -amiloide y *tau*, entre otros.

Hoy en día aún se dispone de escasos recursos terapéuticos que tengan como finalidad el tratamiento de la EA, lo que se debe a la complejidad de las alteraciones que se observan en los pacientes, aun así, en todo el mundo se están realizando profundas investigaciones con la finalidad de poder entender de mejor manera este trastorno para así lograr el hallazgo de un tratamiento que sea eficaz y eficiente a largo plazo. La hipótesis colinérgica es la que ha



tenido mayor enfoque a fin de intentar detener la progresión de la EA, basándose en la corrección del deterioro cognitivo a través de la manipulación de este sistema de neurotransmisión. De la inmensa cantidad de fármacos que han sido probados, los inhibidores de acetilcolinesterasa (IAChE) son particularmente los que han podido demostrar una mayor eficacia, a pesar de esto no es más que un decoroso avance esto debido a que la mejoría de los pacientes es solamente sintomática, ya que no se trata de un tratamiento curativo, por lo que los beneficios no son más que transitorios, cabe mencionar que estos fármacos solo han sido aplicados en casos leves o moderados, jamás en estados avanzados. En la actualidad, las opciones terapéuticas para el tratamiento de la EA están limitadas exclusivamente a tres inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) los cuales son donepezilo, rivastigmina y galantamina, esto debido a que tacrina fue retirada del mercado por su hepatotoxicidad; y memantina, que actúa como un antagonista del receptor de *N*-metil-D-aspartato (NMDA). Estos fármacos poseen efectos que han demostrado ser beneficiosos en las funciones cognitivas de los pacientes durante los primeros 6-12 meses de tratamiento y en algunos casos particulares consiguen retrasar el decline degenerativo, sin embargo, ninguno de ellos ha sido capaz de poder bloquear o revertir la neurodegeneración. La complejidad de la patología de la EA ha impulsado el diseño de moléculas capaces de interactuar con dos o más dianas farmacológicas complementarias, se espera que estos ligandos multi-diana (MTL) sean capaces de representar ventajas importantes en el tratamiento de enfermedad del Alzheimer. La siguiente revisión bibliográfica busca poder comprender de mejor manera los híbridos moleculares con la finalidad de hacer uso de estos como potenciales fármacos para el tratamiento de la enfermedad del Alzheimer.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Comprender los híbridos moleculares como potenciales fármacos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer

### **Objetivos Específicos:**

1. Distinguir la prevalencia e incidencia de la enfermedad de Alzheimer
2. Comprender la fisiopatología y los factores desencadenantes de la enfermedad de Alzheimer
3. Conocer híbridos moleculares y su mecanismo de acción

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

### 1. Términos de búsqueda

En esta revisión bibliográfica se realizará una búsqueda de información que contemplará términos claves de la literatura internacional como es el caso de los que se encuentran a continuación:

- Alzheimer disease
- Dementias and Alzheimer's disease
- Epidemiology of Alzheimer's disease and other dementias
- Neurodegeneration and Alzheimer's disease
- Early-onset and late-onset Alzheimer's disease
- Pharmacological therapy of Alzheimer's disease and other dementias
- Potential multifunctional hybrids for the treatment of Alzheimer's disease
- New anti-alzheimer hybrids
- Pharmacological study of new tacrine-huperzine A hybrid anticholinesterase drugs potentially useful for the treatment of Alzheimer's disease

### 2. Bases de datos incluidas

Las bases de datos que serán consultadas debido a la confianza y calidad de su información, además de la distinción de sus publicaciones son: Scielo, Web of Science,

PubMed y Elsevier, cabe mencionar que dicha información será corroborada con diversos libros relacionados a los temas abordados.

### 3. Años de publicación a considerar en la búsqueda

Para la realización de la búsqueda bibliográfica serán considerados estudios publicados desde el año 2012 hasta el 2022, con la finalidad de aprovechar al máximo la información disponible sobre el tema.

### 4. Formulación de criterios de inclusión y exclusión

Los estudios considerados en la revisión deberán cumplir con los siguientes criterios:

#### **Inclusión**

- i. Investigaciones relacionadas con el estudio de la enfermedad del Alzheimer.
- ii. Investigaciones relacionadas con el estudio de tratamientos de la enfermedad del Alzheimer.
- iii. Investigaciones relacionadas con híbridos moleculares como fármacos contra la enfermedad del Alzheimer.
- iv. Rango de publicaciones idealmente en el rango de 2012 y 2022.
- v. Estudios en distintos idiomas encontrados en las bases de datos.

## **Exclusión**

- i. Ausencia de declaración de conflicto de interés o declaración de conflicto de interés

## **5. Justificación de criterios de inclusión y exclusión**

## **Inclusión**

- i. Investigaciones relacionadas con el estudio de la enfermedad del Alzheimer: se utilizarán investigaciones que engloben a la enfermedad del Alzheimer en estas, ya sea como tema principal o no, con la finalidad de poder comprender de mejor manera el comportamiento de esta enfermedad y el efecto que tiene en las personas.
- ii. Investigaciones relacionadas con el estudio de tratamientos de la enfermedad del Alzheimer: se emplearán este tipo de estudios para comprender de mejor manera los tratamientos actuales y las rutas que estos utilizan, con el propósito de tener claro este tema y a partir de eso poder establecer una buena relación entre la enfermedad del Alzheimer y el eje central que es un potencial tratamiento a dicha enfermedad
- iii. Investigaciones relacionadas con híbridos moleculares como fármacos contra la enfermedad del Alzheimer: estos estudios están directamente relacionados con el objetivo de esta revisión bibliográfica, por lo tanto, son de suma importancia a la hora de comprender de forma clara como los híbridos moleculares pueden ser potenciales fármacos contra la enfermedad del Alzheimer.

- iv. Rango de publicaciones idealmente en el rango de 2012 y 2022: se utilizará este rango con el propósito de utilizar de ser posible la información más relevante hasta la fecha y poder comprender el progreso que ha habido sobre el tema
- v. Estudios en distintos idiomas encontrados en las bases de datos: con este criterio se busca que el idioma no sea una barrera para la recopilación de conocimientos actualizados sobre el tema.

## **Exclusión**

- i. Ausencia de declaración de conflicto de interés o declaración de conflicto de interés: con este criterio se busca anticipar y evitar situaciones en las que la revisión bibliográfica pudiera verse alterada por diversos motivos externos, de esta forma se espera poder mantener la veracidad del estudio.

### 6. Descripción de los procedimientos de búsqueda en las bases de datos

Se emplearan términos relacionados con los “híbridos moleculares como potenciales fármacos para el tratamiento de la enfermedad del Alzheimer” para lo que se utilizarán combinaciones booleanas como es el caso de AND, OR, SAME, además del operador de posición comillas (“”) para así poder optimizar y ampliar la búsqueda en las bases de datos.

### 7. Procedimiento de revisión de literatura, clasificación y organización de artículos

Luego de llevar a cabo la búsqueda de información en las bases de datos según los términos de búsqueda mencionados anteriormente, con la intención de filtrar la información útil y así poder clasificarla según corresponda. Posterior al proceso de búsqueda se deberá leer principalmente los títulos y resúmenes de los estudios encontrados para comprender la idea

principal de estos, con la finalidad de aceptarlos o rechazarlos en base a los criterios de inclusión y exclusión establecidos previamente. Para finalizar, la información será agrupada por tema de manera general a específico en el marco teórico.

## MARCO TEÓRICO

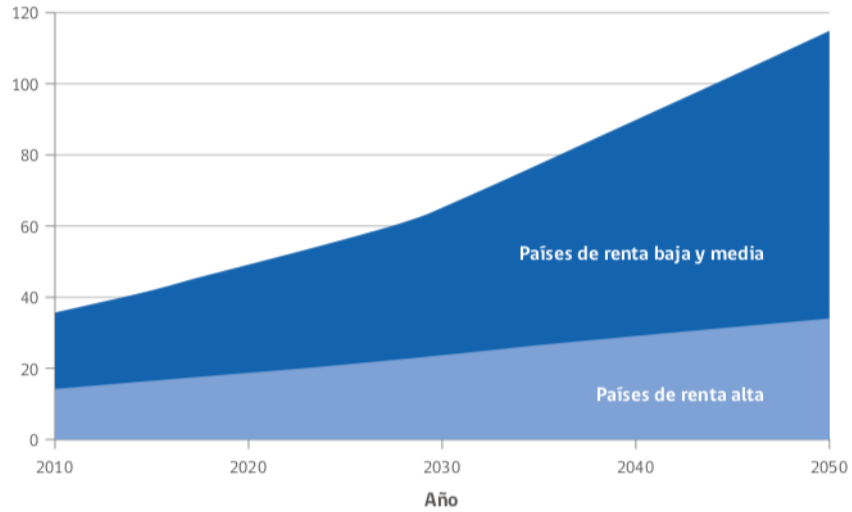
### 1. Epidemiología del Alzheimer:

El envejecimiento de la población mundial ha sido un proceso sin precedentes en la historia de la humanidad y una fuente de complejidad con respecto a la provisión de asistencia sanitaria y social al menos desde la perspectiva de la salud pública. El aumento de la longevidad y la supervivencia ha ocasionado un incremento de la prevalencia de las enfermedades crónicas y una compresión de la morbilidad en personas de edades avanzadas (1). La demencia es un síndrome clínico de gran frecuencia, en especial a partir de los 65 años, que se caracteriza por un deterioro constante de las funciones mentales superiores que provoca una alteración de la capacidad del individuo para poder llevar a cabo con normalidad las actividades de la vida cotidiana de las personas que no padecen alteraciones del nivel de conciencia. En el 2014, la Federación Internacional de la Enfermedad de Alzheimer (ADI) estimó que a nivel mundial la EA y otras demencias afectaron a 44 millones de personas (2). En 2015 había alrededor de 47 millones de personas con demencia en el mundo y, según las proyecciones de población si la prevalencia de demencia actual se mantiene constante, en el año 2050 se espera que la padezcan alrededor de 130 millones de personas (3). A lo largo de la década de los noventa, los estudios poblacionales sobre la demencia se normalizaron de forma paulatina, lo que condujo a que se llevaran a cabo estudios cuyo principal objetivo fue cuantificar la epidemiología de la demencia en Estados Unidos, en países del este de Europa, Australia, Canadá, Japón, China y Taiwán. Durante el año 2000 se constituyó el 10/66 Dementia Research Group, el cual es un colectivo de investigadores que tienen como interés la epidemiología de la demencia, el grupo se encuentra coordinado por el Instituto de Psiquiatría del King's College de Londres, que ha llevado a cabo estudios epidemiológicos armonizados en Latinoamérica, India, China, Nigeria y Sudáfrica (1). Mientras se desarrollan los estudios poblacionales, la tecnología computacional aporta de gran forma ya que gracias

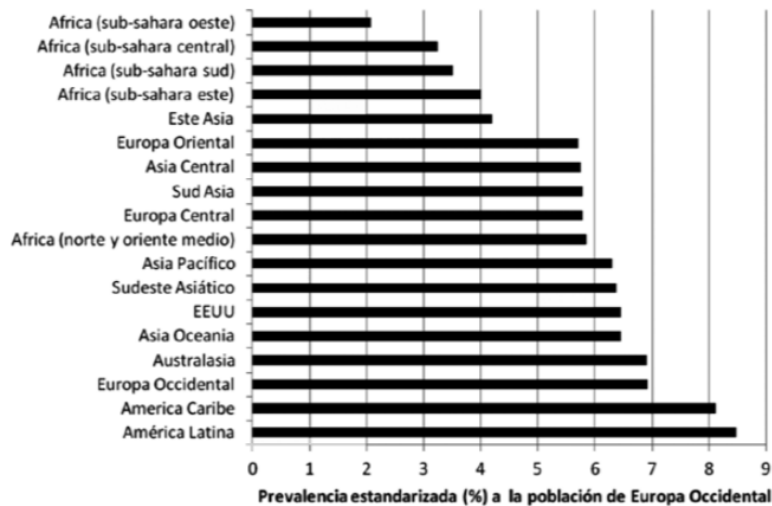


a la digitalización de las historias clínicas de las últimas décadas se facilitó la posibilidad de realizar estudios epidemiológicos con estos datos.

De acuerdo a las cifras de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) (OCDE, 2014) se estima que la prevalencia de la demencia aumente en alrededor del 50% en los países de altos ingresos para el año 2030, y casi un 80% en países de medianos y bajos ingresos. (4) (fig. 1). También es posible mencionar que según un metaanálisis de 157 estudios epidemiológicos realizados en el periodo correspondiente al intervalo entre 1980 y 2009 en el mundo, la prevalencia de demencia se sitúa, sujeto a la zona geográfica, en un 58% para las personas mayores de 60 años, se observa un patrón de crecimiento exponencial con la edad, doblándose cada cinco años aproximadamente, y un predominio del sexo femenino (1) (fig. 2). Con relación a la EA, un metaanálisis de ocho estudios poblacionales europeos indica una prevalencia del 5.1%, más frecuente en mujeres, y un incremento el cual es exponencial en relación a la edad (0.97% para 65-74 años, 7.7% para 75-84 años y 22.5% para  $\geq 85$  años) (5). Mientras que otro metaanálisis de 20 estudios que se llevaron a cabo en distintas partes del mundo muestra una prevalencia puntual y período de EA del 4% y 3%, respectivamente (6) . Es destacable también mencionar que datos epidemiológicos poblacionales recientes sugieren que más de cuatro millones de personas en Estados Unidos padecen EA. Estos datos muestran una prevalencia de 3% para personas de 65-74 años, 18.7% para aquellos entre 75 y 84 años y 44.2% para individuos mayores de 85 años, además de ser la quinta causa de muerte en ese país. (7).



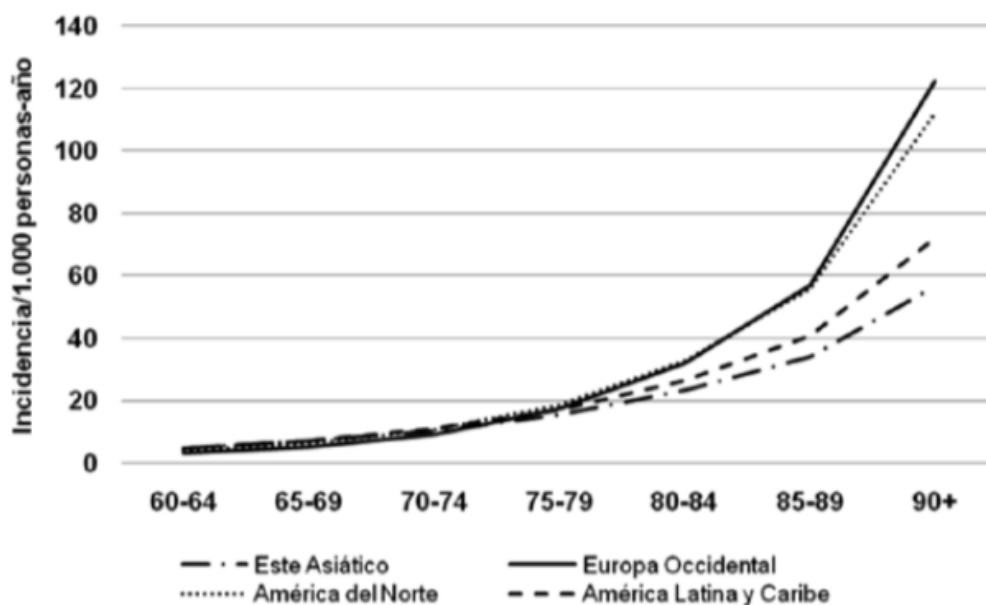
**Figura 1.** El crecimiento en números de personas con demencia (en millones) en países de renta baja, media y alta. Tomado de ADI, 2009 (4)



**Figura 2.** Estimación de la prevalencia de demencia en mayores de 60 años. Tomado de Golden Burden of Disease region, 2013 (1)

Con respecto a los estudios sobre la incidencia de demencia y de la EA en particular coinciden en informar que se trata de una patología que aumenta con la edad y que presenta un patrón de crecimiento exponencial a partir de los 65 años (fig. 3). Mientras que la incidencia acumulada de demencia estimada para mayores de 60 años de acuerdo con un

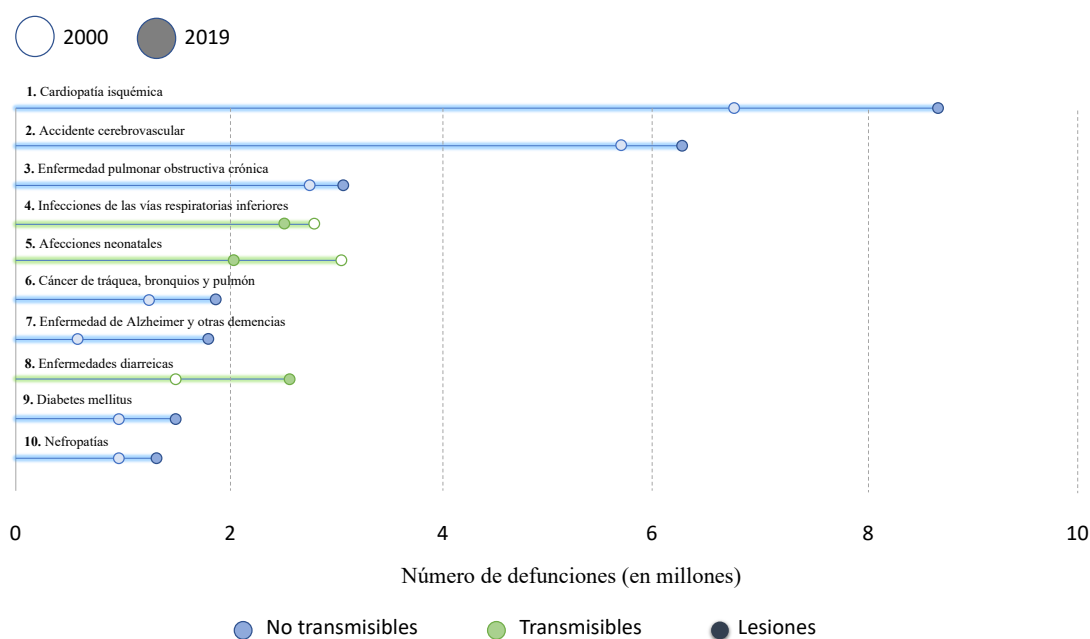
metaanálisis es de 52.8 por 1.000, y la tasa de incidencia es de de 17.1 por 1.000 personas/año (8). Una revisión sistemática de estudios poblacionales de EA utilizó 13 estudios con datos de incidencia acumulada y 30 con datos de densidad de incidencia, los investigadores en dicha revisión metaanalizaron los datos de los estudios para la población de 60 años y más, y llegaron a la conclusión de que la proporción de incidencia anual agrupada obtenida fue de 34.1 casos por cada 1.000 habitantes, con un rango que osciló entre 11.5 en Nigeria y 97.8 en Estados Unidos. La tasa de incidencia fue de 15.8/1.000 personas por año, y entre los estudios con bajas tasas de incidencia se encuentra uno realizado en los Países Bajos (7.03 por 1.000 personas/año) y otro en España (9.2 por 1.000 personas/año). Es importante destacar que el metaanálisis mostró una elevada heterogeneidad ( $I^2 = 97.4\%$ ) entre los estudios. (1,8)



**Figura 3.** Estimación de la incidencia de demencia en mayores de 60 años. Tomada de adaptado de Alzheimer’s Disease International, 2015 (1)

La OMS dio a conocer en su última actualización de las diez causas más comunes de defunción en el mundo en 2019 que la enfermedad de Alzheimer y otras formas de demencia se situaron en el séptimo lugar de las causas de defunción mundial. Estas afectan de forma

desproporcionada a las mujeres, el 65% de las muertes por Alzheimer y otras formas de demencia en el mundo corresponde a mujeres (9) (fig. 4). La OMS señala que estos padecimientos duplicaron su mortalidad en los últimos 15 años. Una novedad en dicha lista es que el VIH/Sida ya no figura en ella. Para el estudio, la OMS partió de los 55,4 millones de fallecimientos registrados en 2019, de los cuales el 55% fueron consecuencia de las 10 causas enumeradas. Actualmente, la EA en los EEUU ocupa la sexta causa de muerte y se estima que para el 2050, más de 16 millones de personas tendrán la condición. Este fenómeno no tan sólo ocurre en EEUU, sino también en el resto del mundo (2).



**Figura 4.** Causas principales de defunción en el mundo en 2019. Tomado de WHO, 2019 (9)

Se estima que para el 2050, las personas de 65 años en adelante conformarán el 22% de la población mundial, 80% de ellas provenientes de Asia, África y América Latina (10). Por este motivo es que en estas regiones se debe prever que la epidemia aumente en las próximas décadas, debido a que se reconoce que existe un bajo conocimiento con respecto a las demencias por parte de las poblaciones y de los responsables en la creación de políticas, así como una baja planificación en la reparación de los sistemas de salud para enfrentar la enfermedad. Por lo tanto, es de suma importancia que cada país se preocupe del tema

realizando un monitoreo de la prevalencia de la EA, para poder identificar las necesidades poblacionales y analizar el impacto de la misma, así como su distribución en el contexto de transiciones demográficas y sanitarias (2).

## 2. Factores de Riesgo y de Prevención de la Enfermedad del Alzheimer:

Según la OMS un factor de riesgo corresponde a cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión (4). En la situación particular de los desórdenes cognitivos de las personas mayores, cada etiología de demencia contiene sus propios factores de riesgo y protección, sin embargo, varios de ellos son compartidos por entidades, a pesar de ser clínicamente muy diferentes. Esto se puede apreciar en el caso de ciertos factores de riesgo vasculares tales como la hipertensión, diabetes mellitus, dislipidemia y síndrome metabólico (11), los cuales se asocian de manera consistente con un mayor riesgo de que una persona desarrolle la EA (4), en especial cuando dichos factores se encuentran presentes en edades medias de la vida, ya que se ha demostrado que esto favorece el desarrollo de la EA (11), por lo que se considera muy conveniente e importante llevar un buen control de estos factores de riesgo desde su diagnóstico.

Los factores de riesgo para la EA son clasificados como: modificables y no modificables (12). Los factores de riesgo modificables, contribuyen a una mayor vulnerabilidad, algunos de los más citados son: la dieta, bajo nivel de educación, tabaquismo, estilo de vida poco saludable (obesidad, sedentarismo, privación de sueño, estrés y trastornos de salud mental no tratados) y las condiciones propias del síndrome metabólico (hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipidemia) (4) (12), los cuales de ser modificados e intervenidos oportunamente se podría atenuar el riesgo de EA. Los factores de riesgo no modificables principalmente hacen referencia a la edad, la historia familiar de demencias similares o alteraciones genéticas, ya sean monogénicas o poligénicas específicas. Siendo la edad el más

importante, ya que el riesgo de padecer EA crece exponencialmente con el envejecimiento, su incidencia se duplica cada cinco años a partir de los 65 años de edad (fig. 3). En relación a dichas alteraciones genéticas, se debe hacer mención a las dos variedades de inicio de la EA, la temprana y la tardía, donde los 65 años es la edad que establece el límite arbitrario entre ambas formas (13), la forma esporádica o de comienzo tardío es la más frecuente y el gen de mayor relevancia es el APOE, específicamente un genotipo homocigoto APOE $\epsilon$ 4, el cual es poco común. Mientras que en la forma de comienzo precoz, la cual corresponde a una de las formas frecuentes de EA, donde los síntomas comienzan antes de los 65 años, se han encontrado mutaciones principalmente en tres genes: proteína precursora del amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN-1) y presenilina 2 (PSEN-2) (4) (13).

Como contraparte, se han reconocido algunos factores denominados protectores los que se asocian a un menor riesgo de desarrollar EA. Entre estos los más relevantes corresponden al control de los factores de riesgo vascular ya mencionados y la mantención disciplinada de un estilo de vida saludable (actividad física regular, estimulación mental e interacción social), ya que según variadas investigaciones, estos incidirían de forma clara en la posibilidad de no presentar una demencia (4). En los países de mayor desarrollo, en los últimos años ha existido una creciente cultura de un estilo de vida saludable, no sucediendo lo mismo en los países de mediano o bajos ingresos. Considerando que hacia el año 2050 se ha estimado que un 70% de la población con demencia vivirá en regiones de menor desarrollo (fig. 1), se debe tomar en cuenta a nivel mundial una implementación sistemática de campañas de salud multifactorial en estos países con la finalidad de intentar ayudar a reducir el riesgo global de la EA, ya que la estrategia más lógica, económica y sostenible es la prevención.

### 3. Etiología Genética:

En una baja proporción, menos del 5% de todos los pacientes, la enfermedad del Alzheimer se transmite de forma autosómica dominante (AD), se estima que tiene una penetrancia próxima al 100% a los 60 años de edad. En estos casos, suele comenzar antes de la edad de 65 años, habitualmente ocurre en la década de los 50 años e incluso antes. Hasta la actualidad se han descrito principalmente mutaciones en 3 genes: en el gen de la proteína precursora del amiloide (APP) en el cromosoma 21, en el gen de la presenilina-1 (PSEN1) en el cromosoma 14, y en el gen de la presenilina-2 (PSEN2) en el cromosoma 1 (14), los tres están estrechamente relacionados con la producción, agregación o aclaramiento de  $\beta$ -amiloide. También, se han descrito ciertos factores genéticos que intervienen en la presentación de la enfermedad, sin embargo, estos no siguen un patrón mendeliano. Entre ellos, el más conocido es el gen que codifica la apolipoproteína E (ApoE) en el cromosoma 19. Existen 3 posibles alelos: E2, E3, y E4. La persona portadora del alelo E4 del gen de la ApoE representa un factor de riesgo de padecer EA dosis-dependiente, es decir, la presencia de una copia del alelo E4, como es el caso de los heterocigotos, se multiplica por 2-3 veces la posibilidad de desarrollar EA en relación con las personas no portadoras de este alelo, pero si son dos las copias del alelo ApoE4 como es el caso de los homocigotos, el riesgo se multiplica por 8-12 veces (11). Aun así, en la mayoría de los casos se presentan de forma esporádica, sin historia familiar ni factores genéticos conocidos.

### 4. Patología de la enfermedad de Alzheimer:

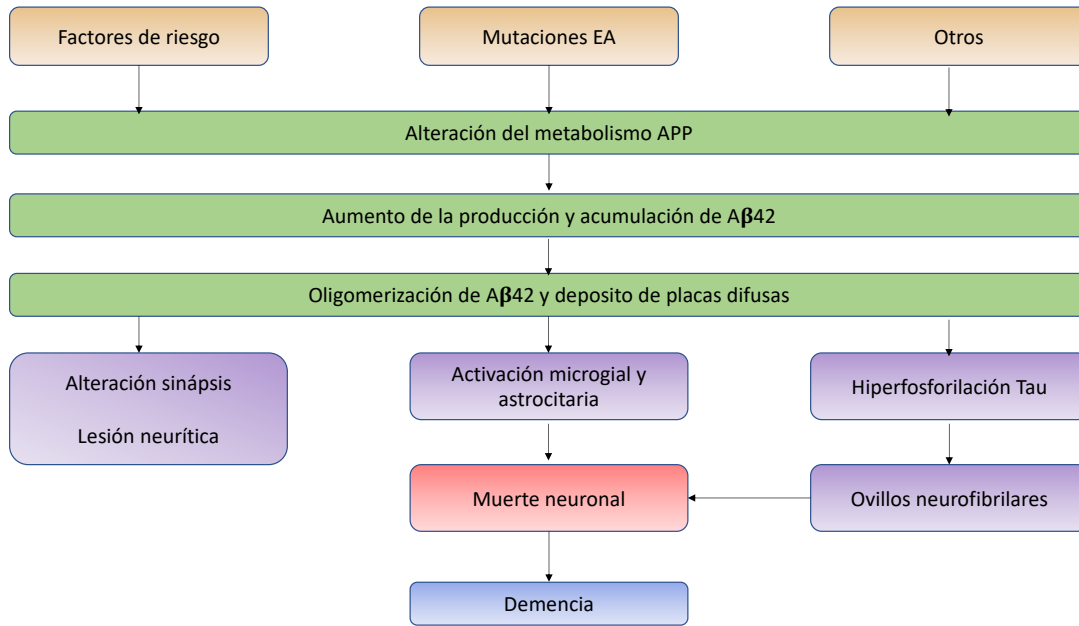
No se conoce el desencadenante de la enfermedad de Alzheimer, sin embargo, sea cual fuere el mecanismo, todos llevan a un punto en común el cual consiste en un proceso neurodegenerativo de causa incierta y patogenia parcialmente conocida que afecta preferentemente a sujetos mayores de 65 años de edad (11), clínicamente se caracteriza por un deterioro de manera progresiva e irreversible de las funciones cerebrales cognitivas, entre

las cuales destacan principalmente la pérdida de un tipo muy selectivo de memoria, el juicio, el lenguaje, entre otros. Constituye la forma más frecuente de demencia.

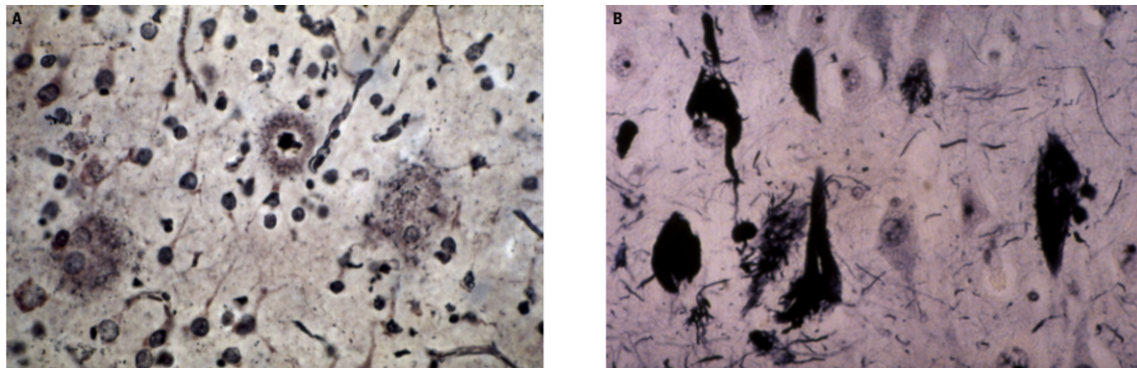
La primera hipótesis relacionada con la patogenia de esta enfermedad nace como consecuencia de la demostración de un déficit específico de colina acetiltransferasa, enzima responsable de la formación de acetilcolina, la cual es un neurotransmisor de importancia en el correcto funcionamiento de la actividad neuronal. A raíz de esto, el déficit de acetilcolina en la EA ha sido replicado en gran cantidad de estudios, lo que dio lugar a la llamada “hipótesis colinérgica” y al primer grupo de fármacos sugeridos específicamente para el tratamiento de esta enfermedad (11). En la actualidad, se tiene conocimiento de que la ausencia de este neurotransmisor en la EA es consecuencia de la pérdida de neuronas colinérgicas y no el origen del proceso que causa la enfermedad.

Hoy en día se hace mayor énfasis en la hipótesis de la cascada amiloide (fig. 5) descrita hace aproximadamente más de 20 años y continua vigente, está en definitiva sugiere que el proceso comienza con un metabolismo anormal de la APP que provocaría un aumento en la cantidad de  $\beta$ -amiloide cerebral lo que lleva a su deposición en forma de placas como causa directa del desarrollo de la demencia (15). Posterior a la formación de dichas placas la proteína Tau ( $\tau$ ), que cumple una función importante en el transporte intracelular y a nivel estructural en las neuronas, se hiperfosforila y tiende a conformar ovillos neurofibrilares que se acumulan en el interior de las neuronas (14). Estos gatillantes van a interactuar con los orgánulos subcelulares de las neuronas (fig. 6), desencadenando la disfunción neuronal y la apoptosis celular dando como resultado la disminución de la memoria y la capacidad cognitiva, siendo el envejecimiento el factor de riesgo clave en esta patología multifactorial. Recientemente se ha sugerido que podría ser debido a la pérdida funcional y no a la pérdida de células neuronales lo que conduce al deterioro cognitivo (14).





**Figura 5.** Patogenia de la enfermedad de Alzheimer (EA). Hipótesis de la Cascada amiloide. APP: proteína precursora del amiloide. Tomado de Merino, 2015 (11)

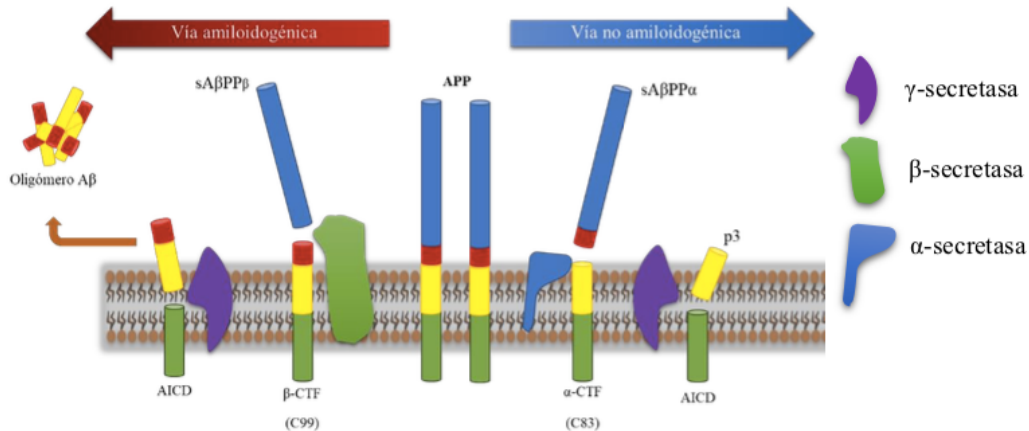


**Figura 6.** Enfermedad de Alzheimer presenil, corteza cerebral. A) Numerosas placas neuríticas  $\beta$ -amiloides, a poco aumento. B) Ovillos neurofibrilares de (pTau) ocupando el citoplasma de numerosas neuronas (tinción de Del Río Hortega con carbonato de planta amoniacal). Tomado de Merino, 2015 (11)

## 5. Mecanismo de placas A $\beta$ amiloides:

El A $\beta$  es un polipéptido que proviene de una glicoproteína de transmembrana, la APP, que está codificada en un gen en el cromosoma 21 (16). Los péptidos A $\beta$  son productos naturales del metabolismo, que habitualmente constan de 36 a 43 aminoácidos. El monómero A $\beta_{40}$  es el más frecuente en comparación a las especies A $\beta_{42}$ , sin embargo, este último es el más propenso a la formación de agregados, debido a su alto potencial tóxico. Además, provoca una serie de reacciones en cascada, las que conllevan finalmente la pérdida neuronal, degeneración neurofibrilar y reactividad astrocitaria (17). Esta proteína presenta un gran segmento N-terminal en el espacio extracelular, un dominio de transmembrana y un pequeño segmento C-terminal en el espacio intracelular, es degradada por tres proteasas:  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasa (18). La ruta amiloidogénica (fig. 7), la cual ocurre en condiciones patológicas, los péptidos A $\beta$  provienen de la proteólisis de la APP, por las acciones de la  $\beta$ -secretasa; también llamada “Beta-site APP Cleaving Enzyme” (BACE1) y la  $\gamma$ -secretasa (17). Una desregulación entre la producción, aclaramiento y la agregación de los péptidos ocasiona la acumulación de A $\beta$ , cuyo exceso puede ser el factor inicial de la enfermedad (19), principalmente esto ocurre debido a un aumento en la actividad de  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa, dando lugar a una alta concentración de péptidos A $\beta_{42}$ , los fragmentos de A $\beta$  de 42 y 43 aminoácidos tienden a agregarse originando las placas amiloides (18). Además, los niveles de la enzima encargada de degradar el péptidos A $\beta$  (neprilisina) disminuyen con la edad, estimulando una mayor acumulación del péptido (14). Por ello, las placas cerebrales cargadas con péptido A $\beta$ , también denominadas placas seniles o amieloides, las neuritas distróficas en los campos terminales neocorticales y los ovillos neurofibrilares prominentes en las estructuras mediales del lóbulo temporal, son una particularidad patológica importante de la enfermedad de Alzheimer (17). Mientras que la ruta no amiloidogénica (fig. 7) ocurre de manera fisiológica, es decir, en un estado no patológico, sin ocasionar alguna alteración que favorezca el desarrollo de la EA. Esta comienza con un corte de APP por la enzima  $\alpha$ -secretasa, que libera al espacio extracelular el péptido APP $\alpha$ . A este péptido se le atribuyen funciones importantes como la regulación de la excitabilidad neuronal y mejora en el

aprendizaje y en la memoria, además se cree que está involucrado en la activación de receptores muscarínicos (17).



**Figura 7.** Procesamiento de APP. A la izquierda, vía amiloidogénica y a la derecha, vía no amiloidogénica. Tomado de Bórnez MM, 2020 (15)

## 6. Alteraciones de la proteína Tau

El gen tau que codifica para la proteína Tau ( $\tau$ ) se encuentra en el cromosoma 17, dicha proteína es expresada ampliamente en el sistema nervioso central y periférico, pero también está presente en riñones, pulmón y testículos. A nivel neuronal tau es más abundante en los axones, aunque también se le encuentra en los compartimentos somatodendríticos (20). Tau forma parte de una familia de proteína asociadas a microtúbulos (MAP) siendo esta la principal MAP en las neuronas, interacciona con la tubulina, promueve el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos, los que son requeridos para la morfogénesis y el transporte de los axones (11).

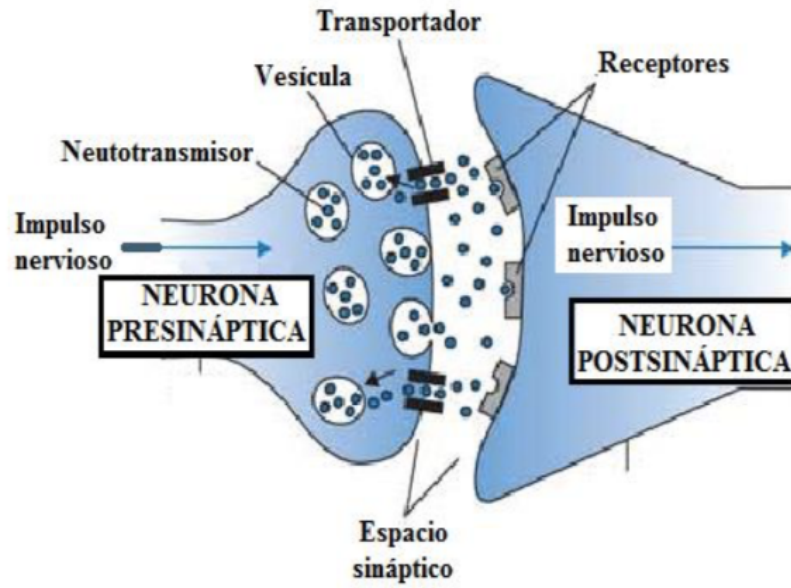
Cuando la proteína  $\tau$  se fosforila, pierde su afinidad por el microtúbulo y permite el desensamblaje de estos. En la EA, esta es fosforilada de una manera excesiva, es decir, se hiperfosforila, otorgándole una capacidad agregante, lo que a su vez conlleva a que se

organicen en filamentos helicoidales pareados y filamentos rectos, los que son insolubles y además se unen a otros elementos para formar los ovillos neurofibrilares intracitoplasmáticos (NFT) propios de la enfermedad. (15). Los NFT tiene un efecto tóxico sobre las neuronas, además de la cualidad de difundir a neuronas contiguas y progresar hacia otras regiones del cerebro. En estados iniciales de la EA, es posible encontrar NFT en el córtex entorrinal, desde donde progresa al hipocampo, el neocórtex de asociación y finalmente hacia la corteza motora y sensitiva. La patología neurofibrilar posee una buena correlación con el estado clínico con el paciente (21).

El estudio neuropatológico macroscópico del paciente con EA con recurrencia presenta atrofia cerebral, la que afecta de manera precoz y dominante a los hipocampos y la amígdala, seguido de lóbulos parietales y frontales, mientras que en fases avanzadas, a todo el cerebro. Con respecto al estudio microscópico, placas seniles, placas neuríticas y ovillos neurofibrilares son los hallazgos típicos y que forman parte de los criterios de diagnóstico histológico. La pérdida de neuronas y sinapsis habitualmente es un hallazgo constante, pero es difícil de cuantificar y es por ello que no se utiliza como criterio (21)

## 7. Neurotransmisores y el Alzheimer

La neurona corresponde a la unidad funcional especializada del sistema nervioso central (SNC), distinguida por su excitabilidad ocasionada gracias a alteraciones en el potencial transmembranal y su conductabilidad, es decir, su capacidad para transmitir dicha excitabilidad a otras células. Todo esto puede suceder gracias a la liberación de compuestos químicos llamados neurotransmisores. Estos son sintetizados y liberados en las superficies de las terminaciones nerviosas de la neurona presináptica a nivel de la hendidura sináptica, para posteriormente unirse a proteínas receptoras en la membrana celular de la célula diana que en este caso sería la neurona postsináptica, dando lugar a cambios en el potencial de esta produciendo que se excite, se inhiba o sufra una modificación funcional (fig. 8) (22). La enfermedad del Alzheimer se asocia a alteraciones en los niveles de distintos neurotransmisores.



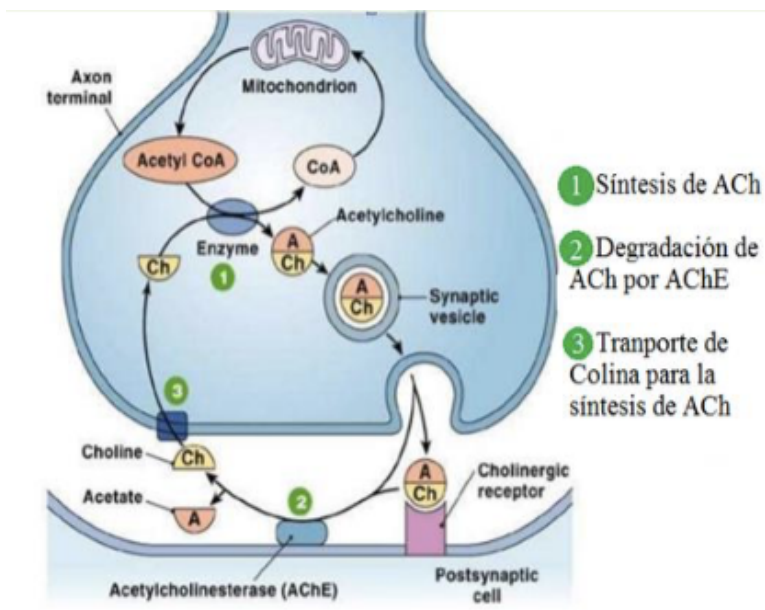
**Figura 8.** Proceso de neurotransmisión entre dos neuronas. Tomado de Serrano AV, 2017 (22)

### 7.1. Acetilcolina (ACh)

Primer neurotransmisor descubierto que participa en el sistema nervioso central a través de sinapsis neuromusculares, en el sistema nervioso autónomo mediante sinapsis ganglionares y en los órganos diana de la rama parasimpática. También está ampliamente distribuido en el sistema nervioso central. Se encarga de regular los niveles de vigilancia y del funcionamiento de las grandes áreas de asociación como es el caso del aprendizaje, memoria y control motor (22). La ACh se sintetiza a partir de los núcleos basales de Meynert, el cual se encuentra situado en el prosencéfalo, de manera tal que proyecta sus axones en dirección al neocórtex e hipocampo liberando acetilcolina, esta zona es la fuente principal de ACh a nivel neocortical (17).

Su síntesis se lleva a cabo en el botón terminal liberándose al espacio sináptico desde las vesículas donde se acumula mediante exocitosis la que se encuentra mediada por el ingreso de  $Ca^{2+}$ . La enzima acetilcolintransferasa (AChT) es la encargada de sintetizar la

ACh a partir de la colina por acción de la acetilcoenzima A. Por el contrario, en el espacio sináptico es metabolizada por la enzima Acetil colinesterasa (AChE) (Fig.9) junto con la butirilcolinesterasa (BChE) que se sintetiza en la glía y participa en la degradación de la ACh en restos de colina y acetato (17,22) La ACh actúa sobre receptores muscarínicos, lo que se encuentran acoplados a proteínas G, y sobre los nicotínicos. En el momento en que se alteran los niveles de acetilcolina, se generan disfuncionalidades en la conducta y procesos específicos como es el caso de la pérdida de memoria y atención, confusión en el habla, desorientación y ataxia. Además, descensos en los niveles de Dopamina provocan un aumento en su acción. Disminuciones de la neurotransmisión colinérgica en el núcleo de Meynert se relaciona con la enfermedad de Alzheimer (22).



**Figura 9.** Proceso de neurotransmisión de ACh. Tomado de Serrano AV, 2017 (22)

Se ha demostrado que las sinapsis colinérgicas se ven particularmente afectadas por la neurotoxicidad generada por los oligómeros de A $\beta$  y que el deterioro cognitivo es la principal consecuencia del deterioro cognitivo (23)

## 7.2. Glutamato

El aminoácido glutamato es el principal neurotransmisor excitador del SNC, se acumula en vesículas en las neuronas y se libera por exocitosis dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  (22), su interacción con los diversos receptores específicos que se encuentran en las membranas neuronales son responsables de variadas funciones, como el movimiento, la cognición y la memoria (17). Durante la transmisión neuronal, la señal que se genera activa las sinapsis y, por lo tanto, estimula la liberación de glutamato en la hendidura sináptica. De esta forma, posterior a la liberación de glutamato, este va a interactuar con sus receptores, de los cuales es posible clasificarlos en dos tipos: los receptores metabotrópicos (mGluRs), que se encuentran en la membrana pre y postsináptica, que a su vez, se encargan de promover la activación de segundos mensajeros vía proteínas G, y los receptores ionotrópicos, que se encuentran en la membrana postsináptica y que están acoplados a un canal iónico, su activación permite la entrada de diversos iones, principalmente de calcio y sodio, así como, la salida de potasio (22). El glutamato se encarga aproximadamente del 70% de las sinapsis excitatorias, es por esto que es muy importante en las funciones fisiológicas del SNC. La excesiva estimulación de estos receptores puede generar neurotoxicidad, que se relaciona con procesos neurodegenerativos agudos y crónicos.

## 8. Tratamiento para el Alzheimer

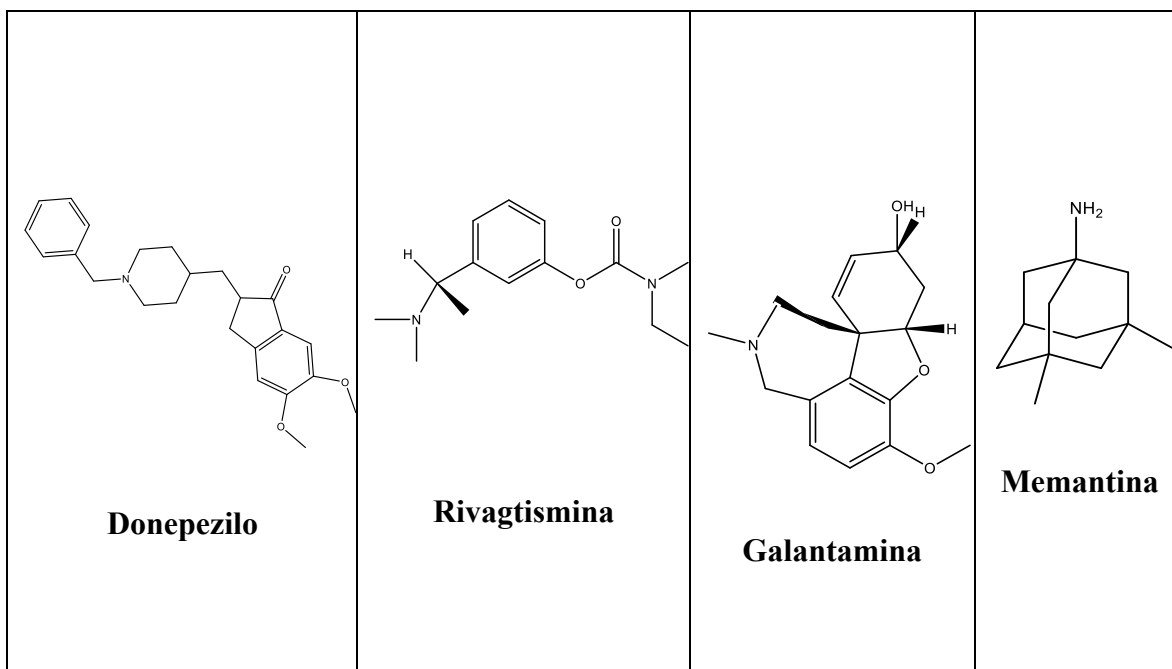
Debido a que la enfermedad de Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo, es decir, que las neuronas mueren con el tiempo, hasta el momento no existe una cura. Por lo pronto, hay tratamientos para retrasar el daño y mantener las funciones mentales óptimas en el individuo enfermo (24). Es por esto que únicamente se emplean fármacos y distintos métodos no farmacológicos que consiguen retardar su aparición, evolución y paliar algunos de los

síntomas, intentando así mejorar el estilo de vida del enfermo (22). Los tratamientos farmacológicos utilizados hoy en día se enfocan en estabilizar los niveles de los neurotransmisores que se ven alterados en la EA, es decir, la finalidad de estos es el aumento de los niveles de acetilcolina y la disminución de los de glutamato. Si se regulan los niveles de los neurotransmisores, es muy probable que el enfermo de Alzheimer consiga mantener funciones relativamente adecuadas en relación al pensamiento, la memoria y el lenguaje. Sin embargo, es importante destacar que estos fármacos no impiden que las neuronas continúen muriendo, por lo que su eficiencia es por un tiempo limitado (24).

La FDA (Food and Drug Administration) es quien se preocupa de la autorización de aquellos fármacos para el tratamiento de pacientes con EA que presenten a lo menos dos ensayos clínicos que gocen de relevancia en los cuales se toman en cuenta la función cognitiva y escalas de valoración global, empleándose principalmente ADAS-Cog (Alzheimer Disease Assessment Scale Cognitive), la que valora la función cognitiva (a mayor puntuación, mayor disfunción), y CIBIC-Plus (Clinical Interview Base Impression of Charge with Caregiver Input), que se encarga de valorar, según la opinión de los cuidadores, la clínica del paciente. En ambas escalas, mientras mayor es la puntuación, mayor será el nivel de deterioro cognitivo, utilizándose una puntuación negativa en caso de mejoría de este (22). En la actualidad, ciertos medicamentos han sido aprobados en Estados Unidos para el tratamiento del Alzheimer por la FDA. Dichos fármacos (fig. 10) se dividen en dos grupos terapéuticos, inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y antagonistas del receptor de ácido *N*-metil-D-aspartato (NMDA). Los inhibidores de AChE aprobados son tres, donepezilo, galantamina y rivastigmina (este último, inhibidor de AChE no selectivo), los cuales son empleados en etapas iniciales y moderadas, estos fármacos permiten aumentar la concentración de ACh en la hendidura sináptica, al bloquear la enzima que se encarga de su metabolización. Mientras que para etapas severas, se administra el fármaco llamado memantina, único fármaco aprobado dentro de los inhibidores del receptor NMDA, que protege las células neuronales y reduce la excitotoxicidad al inhibir la estimulación patológica de los receptores NMDA (24,25). En el año 2021 la FDA aprobó el Aducanumab, desde el año 2003 que no se aprobaba un fármaco contra la EA, es un anticuerpo dirigido contra el péptido  $\beta$ -amiloide y su aprobación ha generado controversia ya que, a juicio de la



comunidad científica, carece de suficiente evidencia clínica que asegure su eficacia y, adicionalmente, se han observado algunos efectos adversos (26).

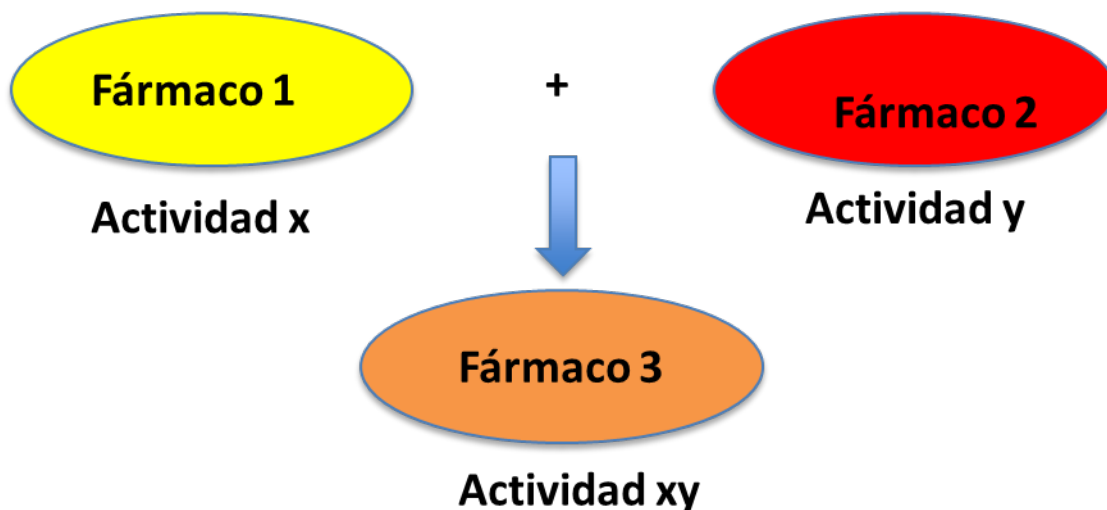


**Figura 10.** Estructuras Químicas de fármacos utilizados para la enfermedad de Alzheimer hasta el 2020. Elaborado por Quezada Inostroza, Pedro.

## 9. Híbridos Moleculares como Fármacos

Los objetivos del grupo terapéutico utilizado para tratar la EA incluyen principalmente receptores, además están estrechamente relacionados con la producción de  $A\beta$ , la hiperfosforilación de tau y la neuroprotección. Se ha descubierto que los compuestos que se dedican a mejorar la neurotransmisión también se encuentran implicados en muchos otros aspectos. El rol fundamental de la química médica consiste en diseñar, sintetizar y desarrollar nuevas moléculas de baja toxicidad y que presenten un buen perfil farmacodinámico, para este propósito se pueden aplicar diferentes estrategias de

descubrimiento de fármacos (25). Es por esto que identificar el potencial de interacciones fármaco-fármaco (DDI, Drug-Drug Interactions) es un factor de importancia durante el desarrollo y revisión regulatoria de un nuevo fármaco. La DDI basada en transportadores puede deberse a la competencia por un sitio de unión al transportador (por un sustrato competitivo o un inhibidor) o variaciones en el nivel de expresión del transportador (por un inductor) (27). La competencia por las mismas rutas de transporte entre fármacos coadministrados puede dar lugar a alteraciones significativas en los perfiles de absorción, distribución tisular, metabolismo y excreción de un fármaco. La finalidad de los estudios sobre DDI es establecer el potencial de las interacciones clínicas entre un fármaco en investigación y otros fármacos que pueden administrarse conjuntamente. Los híbridos moleculares buscan evitar esta coadministración de fármacos, ya que estos corresponden a la unión de dos o más moléculas química diferentes con la intención de potenciar la actividad de ambas, a nivel farmacológico tienen la finalidad de generar un mayor efecto, disminuir dosis o generar algún efecto dual (fig. 11)



**Figura 11.** Representación general de fármacos híbridos. Elaborado por Gutierrez Cabrera, Margarita

Un ejemplo de fármacos híbridos sería el caso de la cafiaspirina, la que se encuentra compuesta por cafeína y ácido acetilsalicílico como principios activos, donde el ácido acetilsalicílico actúa reduciendo el dolor y la fiebre, mientras que la cafeína, tiene una acción estimulante sobre el sistema nervioso, dichos componentes se encuentran en una proporción 1:10 respectivamente, este medicamento se encuentra indicado en adultos y niños mayores de 16 años para el alivio sintomático de los dolores ocasionales leves o moderados, como dolores de cabeza, dentales, menstruales, musculares (contracturas) o de espalda (lumbalgia) y estados febriles. (28)

La identificación temprana de compuestos que sean sustratos o inhibidores de transportadores actualmente es una tarea rutinaria durante la optimización y selección de fármacos candidatos. Una perspectiva integradora de *in vitro* e *in vivo* contribuye de manera positiva, ya que podrían iniciarse costosos estudios clínicos basados únicamente en los resultados *in vitro*. La variabilidad en la determinación de parámetros *in vitro*, como es el caso de los valores  $IC_{50}$  o  $K_i$ , entre laboratorios puede conducir a distintas conclusiones para las proyecciones de la interacción *in vivo* basadas en criterios universales como los propuestos en el borrador de la FDA y las guías de interacción de medicamentos de la EMA (27). Por lo tanto, es importante comprender las fuentes de variabilidad y utilizar métodos estandarizados dentro de un laboratorio para minimizar la variabilidad.

Las curvas de respuesta obtenidas de las dosis de un fármaco ayudan a medir y analizar la relación entre las capacidades inhibitorias de un fármaco asociadas con sus respectivas concentraciones. Las curvas de concentración inhibitoria se denominan  $IC_x$  y son curvas de dosis-respuesta que nos permiten determinar la concentración necesaria de fármaco para reducir una población de células viables en  $x\%$ , en paralelo con células cultivadas sin exposición al fármaco. Este cambio en el volumen de la población celular puede significar el resultado de una mayor muerte celular o de una supresión de la proliferación celular. Los estudios farmacológicos y de descubrimiento de fármacos utilizan los valores  $IC_{50}$  para determinar la eficacia (potencia) del fármaco, ya que este corresponde a la medida cuantitativa que indica la cantidad de una sustancia inhibidora particular que se necesita para inhibir, *in vitro*, un proceso biológico o componente biológico determinado en un 50%. Un valor  $IC_{50}$  bajo indica que el fármaco es potente a bajas concentraciones y, por lo tanto, presentará una toxicidad sistémica más baja cuando se administre al paciente. Las curvas de

dosis-respuesta del fármaco también se utilizan para identificar terapias combinadas sinérgicas y mecanismos de interacción farmacológica (29).

Por lo visto anteriormente, las recopilaciones públicas sobre los datos de  $IC_{50}$  representan una gran cantidad de conocimientos sobre bioactividad con una importancia creciente. Una de las fundamentales bases de datos de bioactividades públicas correspondiente a moléculas pequeñas es ChEMBL, que actualmente contiene aproximadamente tres veces más valores  $IC_{50}$  que valores  $K_i$ . Se ha evidenciado que la brecha entre el número de valores de  $IC_{50}$  y  $K_i$  sigue aumentando, debido a que a diferencia de los valores de  $K_i$ , los datos de  $IC_{50}$  son específicos del ensayo. El uso adecuado de los datos de  $IC_{50}$  facilita el desarrollo de métodos útiles para el descubrimiento de fármacos. Estos métodos se pueden utilizar para predecir efectos adversos fuera del objetivo. Por lo general, los modelos públicos de toxicidad fuera del objetivo, se basan y validan en datos públicos mixtos de  $IC_{50}$ , ya que no hay suficientes datos públicos disponibles que se originen a partir de un solo ensayo (30).

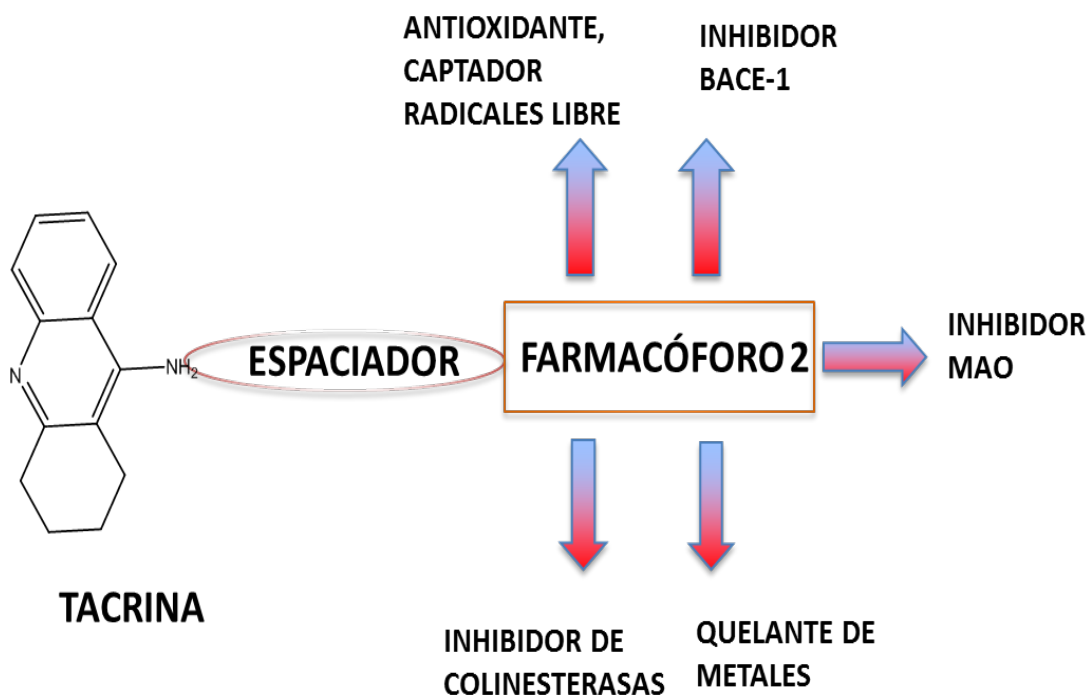
Los inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChEI) se proponen como una buena elección de molécula base para la creación de híbridos moleculares como fármacos contra la EA, debido a que muchos AChEI son compuestos multi-diana, compuestos químicos capaces de modular múltiples dianas simultáneamente, con perfiles de eficacia y seguridad superiores, porque aumentan la cantidad de ACh y agonizan los receptor de acetilcolina muscarínica M1 que se encuentran en el hipocampo, lo que en consecuencia conlleva a la posterior regulación del procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP), mostrando de esta manera un efecto de neuroprotección y de mejora de la memoria (25).

### 9.1 Híbridos moleculares basados en Tacrina

La Tacrina ( $IC_{50} = 0.03 \mu M$ ) fue el primer inhibidor de la colinesterasa de acción central aprobado por la FDA para el tratamiento de la EA. Fue retirado del mercado farmacéutico un tiempo después de su aprobación porque causó hepatotoxicidad, esto se

debió a que inducía una elevación de los niveles séricos de alanina aminotransferasa. Sin embargo, debido a su potencia, tamaño pequeño (masa molar: 198.264 g/mol) y utilidad económica, ha sido ampliamente utilizado en el diseño y desarrollo de compuestos híbridos (31).

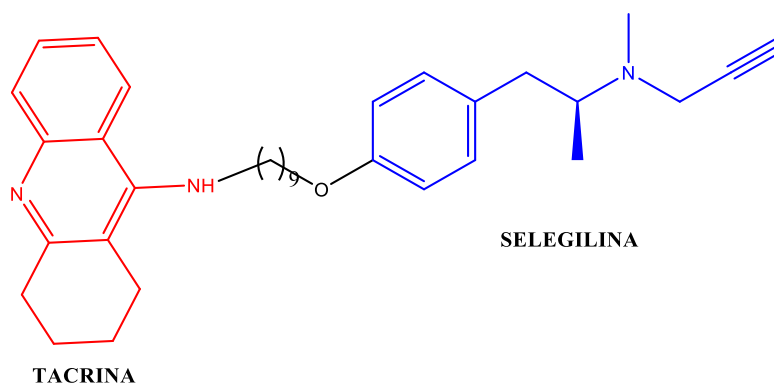
El grupo más extenso de estos agentes comprende inhibidores de colinesterasa de sitio de unión dual que frecuentemente presentan propiedades adicionales de las cuales las que toman mayor relevancia son la actividad antiagregante, actividad antioxidante y neuroprotectora, además del bloqueo de canales de calcio, inhibición de BACE1 y bloqueo del canal del receptor NMDA (25). Los híbridos derivados de tacrina en general se han diseñado usando la molécula de tacrina, un espaciador hidrocarbonado de diferente longitud y un segundo fármaco, que en conjunto con Tacrina, potencian la actividad de ambas moléculas demostrando en conjunto, actividad sobre más de un blanco terapéutico de interés en la EA (fig.12)



**Figura 12.** Diseño de Moléculas derivadas de Tacrina. Tomado de Catalán MA, 2018 (25)

La Enzima Monoaminoxidasa (MAO) deshace intracelularmente varias aminas, incluyendo la serotonina y las catecolaminas. Existen 2 tipos de esta, MAO-A y MAO-B. Estudios recientes han demostrado que la actividad de la MAO-B se encuentra aumentada en la corteza de pacientes con EA, lo que tiene como consecuencia que se ocurra un aumento de los niveles cerebrales de radicales hidroxilo, los cuales se encuentran relacionados con la deposición de placas de A $\beta$  (32). Se ha sugerido el potencial terapéutico de los inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) en el tratamiento de la EA debido a sus propiedades neuroprotectoras más allá de su impacto sobre la neurotransmisión monoaminérgica. El impacto neuroprotector de los IMAO puede contribuir no solo al aumento de la neurotransmisión, sino también a prevenir la generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la formación de especies de radicales libres, los cuales son neurotóxicas (25).

Últimamente se han investigado numerosos ligandos multifuncionales que tienen actividad inhibidora de la MAO. Siendo uno de los diseños más destacados el de un híbrido de tacrina, el cual se encuentra conectado mediante separadores de carbono de diferentes longitudes a selegilina, un conocido inhibidor de la MAO (fig. 13). Los estudios de inhibición de MAO-A y MAO-B expusieron que estos son buenos inhibidores de ambas enzimas, asimismo de AChE y BuChE (33)

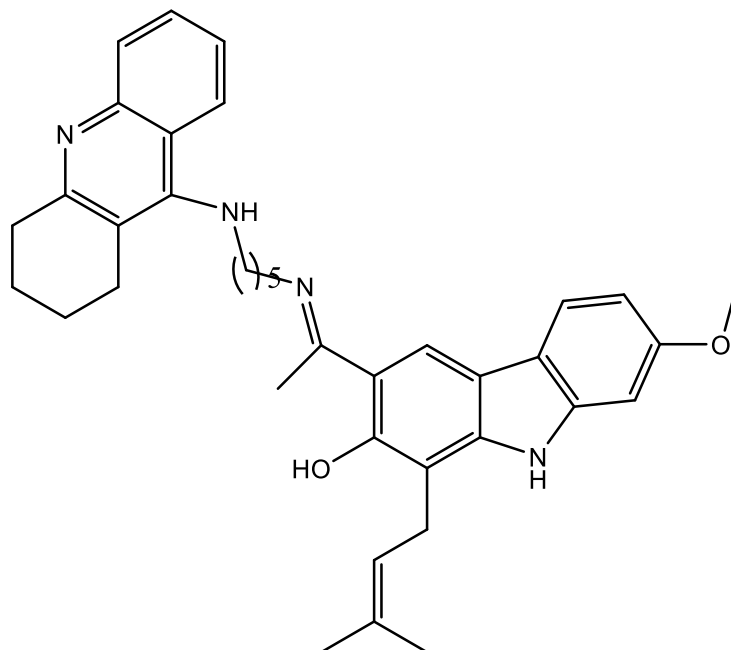


**Figura 13.** Híbrido de tacrina ( $IC_{50} = 0.03 \mu M$ ) y selegilina ( $IC_{50} = 0.01125 \mu M$ ), inhibidor de la actividad de AChE y MAO. Tomado de Catalán MA, 2018 (25)

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) tienen un papel fundamental en la regulación de varias funciones fisiológicas de los organismos vivos. Las propiedades bioquímicas intrínsecas de las ROS que se encuentran íntimamente relacionadas a los mecanismos necesarios para el crecimiento, la aptitud o el envejecimiento de los organismos vivos, han llevado a los investigadores a aprovechar al máximo dichas especies químicas activas para contribuir a los avances médicos (34).

El estrés oxidativo se describe como un desequilibrio entre la producción ROS y su eliminación mediante mecanismos antioxidantes. El estrés oxidativo es de gran interés en la EA ya que se encuentra relacionado con la agregación A $\beta$ , debido a su conexión con la actividad de BACE1. La producción de ROS se debe a una gran diversidad de fuentes, por lo tanto, la terapia antioxidante en la demencia puede traer múltiples beneficios, particularmente en la etapa temprana de la EA (33).

Los derivados de carbazol, heptafilina y 7-metoxiheptafilina, se unieron con tacrina mediante una cadena de cinco o tres átomos de carbono (fig. 14), como resultado de esta síntesis, se demostró que los nuevos híbridos corresponden a inhibidores moderados de AChE y ocasionaron una actividad antioxidante muy potente. También presentaron un efecto neuroprotector sobre el estrés oxidativo inducido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la toxicidad inducida por el péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub>. (25)

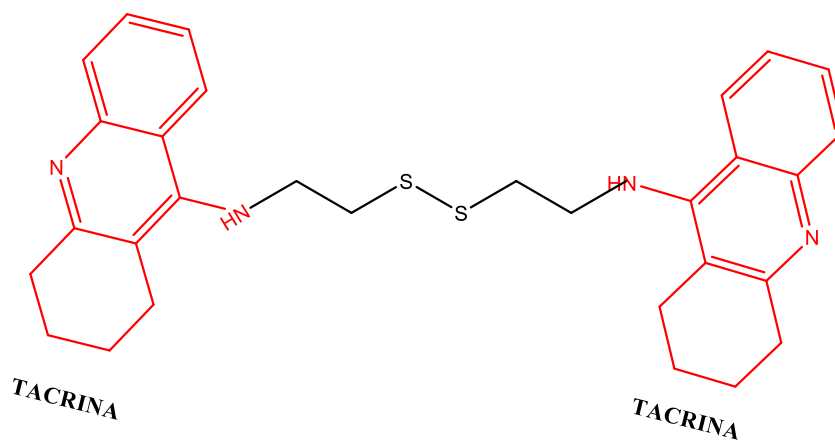


**Figura 14.** Híbrido de tacrina y 7-metoxiheptafilina, inhibidor de AchE y actividad antioxidante. Tomado de Catalán MA, 2018 (25)

El péptido amiloide induce una liberación exagerada de glutamato, lo que a su vez promueve la afluencia de  $\text{Ca}^{2+}$  hacia las células neuronales a través de los canales acoplados al receptor de glutamato, como es el caso del receptor NMDA. Este proceso conlleva a un aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, el que es responsable de la hiperactividad de la óxido nítrico sintasa, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la regulación positiva de una diversidad de quinasas que se encuentran implicadas en la fosforilación de la proteína tau (32). La finalidad de la neuroprotección es combatir este proceso enfocándose en los mecanismos más comunes que conducen al daño cerebral, como es el caso del estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, la excitotoxicidad, los cambios inflamatorios, la acumulación de hierro y la agregación de proteínas (33). La excitotoxicidad se define como una excesiva estimulación de los receptores de glutamato ionotrópicos (NMDA) y un desbalance de la homeostasis neuronal del calcio, lo que conlleva a daño neuronal al aumentar los ROS, originar una disfunción mitocondrial y la apoptosis por el aumento de la activación de enzimas involucradas en este proceso (35). Es por esto que se diseñó un híbrido al unir dos restos de tacrina mediante una cistamina (fig. 15). La cistamina es distinguida por sus tener atributos antioxidantes, citoprotectores y neuroprotectores. El



compuesto demostró una actividad inhibitoria contra ambas colinesterasas en el rango nanomolar, cualidades inhibitorias en la agregación A $\beta$  autoinducida y en la agregación A $\beta$  inducida por AChE. Además presenta un efecto neuroprotector contra el estrés oxidativo inducido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ensayos realizados *in vitro*, lograron evidenciar que este híbrido bitacrina-cistamina inhibe de buena manera la AChE y la agregación de A $\beta$  inducida por AChE, asimismo presenta la propiedad de ser quelante de metales (32).

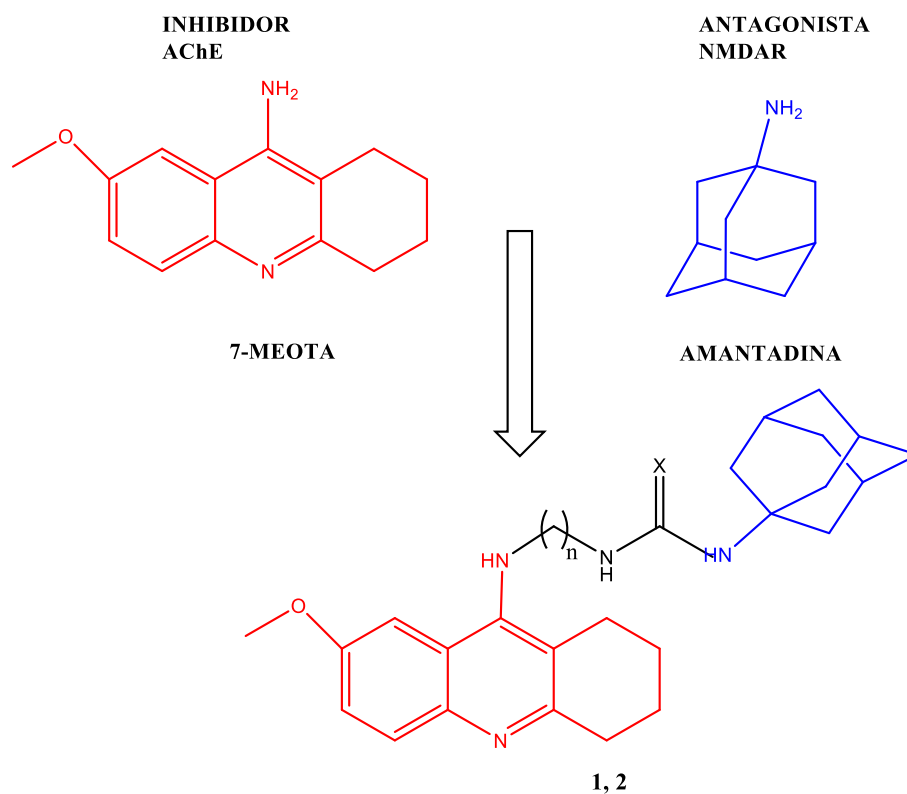


**Figura 15.** Híbrido formado por dos restos tacrinos unidos a través de cistamina. Tomada de Catalán MA, 2018 (25)

#### 9.1.1 Híbrido 7-MEOTA con Amantadina

La Tacrina, como ya se mencionó anteriormente, es un IChE reversible no competitivo activo en el sistema nervioso central y ligeramente selectivo para BChE, que fue retirado del mercado farmacológico por su hepatotoxicidad. Sus derivados 7-metoxitacrina (7-MEOTA) y 6-clorotacrina (6-Cl-THA) son compuestos anti-ChE potentes con efectos secundarios menores (37,38). Es por esto que se diseñó y sintetizó híbridos de 7-MEOTA y amantadina (fig 16) enlazados por uniones de metileno-tiourea o metileno-urea, los cuales se prepararon basándose en la estrategia del ligando dirigida a múltiples dianas, ya que la amantadina es un antagonista de NMDA y el 7-MEOTA que es un inhibidor de AChE con efectos secundarios significativamente menores en comparación con Tacrina (36). Estos

inhibidores demostraron ser capaces de interactuar simultáneamente con el sitio aniónico periférico (PAS) y el sitio catalítico activo (CAS) de AChE (25). Los híbridos en cuestión exhibieron una muy buena actividad inhibitoria hacia AChE y BChE humana, los receptores NMDA y la agregación A $\beta$  dando como resultado inhibidores más selectivos de esta enzima (25,36)



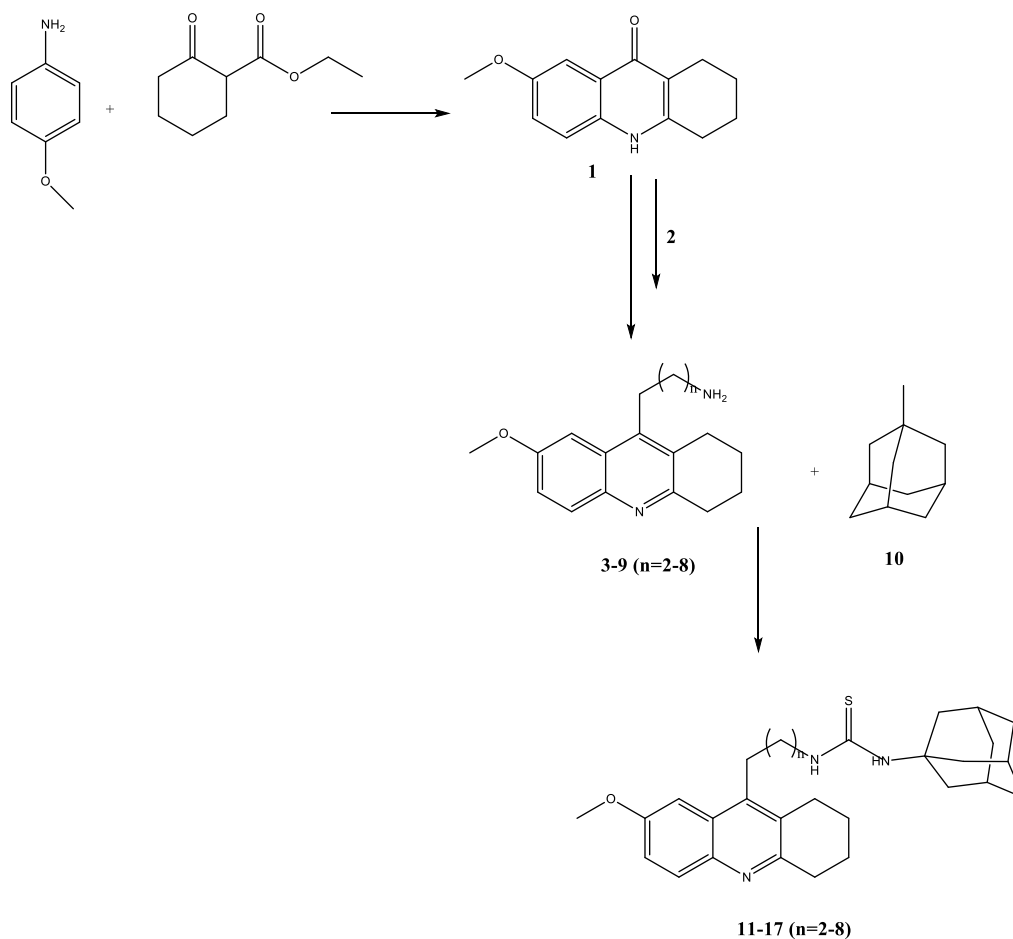
**Figura 16.** Diseño de los híbridos 1 y 2 de 7-MEOTA-amantadina. Tomada de Marotta G, 2020 (36)

Compuesto	n	X	AChE IC <sub>50</sub> (μM)	BChE IC <sub>50</sub> (μM)	Aβ IC <sub>50</sub> (μM)	NMDAR IC <sub>50</sub> (μM)
1	5	S	0.47	0.11	66.5	1.80
2	8	O	2.03	18.82	0.038	nd

**Tabla 1.** Actividades biológicas de los híbridos **1** y **2** de 7-MEOTA-amantadina. (nd. No detectado) Tomada de Marotta G, 2020 (36).

Estos híbridos actúan como inhibidores competitivos de hAChE y hBChE, siendo el compuesto que contiene tiourea el que presentó una mayor selectividad por este último, esto puede ser beneficioso, ya que se ha demostrado que los niveles de esta enzima aumentan a lo largo de la EA.

Como se aprecia en la tabla 1, sus IC<sub>50</sub> son más bajos para ambas enzimas que la referencia 7-MEOTA (IC<sub>50</sub> = 10,50 μM para hAChE e IC<sub>50</sub> = 21 μM para hBChE), los híbridos tienen un enlazador de cinco carbonos que es el que demostró mayor potencia de ambas series, lo que sugiere que esta es la distancia óptima en este caso para la interacción de destino (36). Además, el híbrido **2**, que contiene urea, mostró la mayor inhibición de la agregación de Aβ, mientras que el híbrido **1**, que contiene tiourea, inhibe el NMDAR con un valor IC<sub>50</sub> similar al de la memantina (IC<sub>50</sub> = 1,80 μM frente al IC<sub>50</sub> = 1 μM) y la misma eficiencia que el bloqueador de canales abiertos, pero con una cinética más reducida, lo que puede sugerir por qué se une preferentemente a NMDAR extrasináptico (eNMDAR) (39). De hecho, la selectividad por los eNMDAR es deseable debido a la participación que estos tienen en la excitotoxicidad mediada por glutamato, lo que se obtiene a través de inhibidores dependientes del uso con un inicio de acción lento (40). Además de todas estas propiedades juntas, los compuestos probados mostraron una actividad de débil a moderada orientada a la enzima BACE-1, la que junto con la actividad inhibitoria sobre la agregación de Aβ mostrada anteriormente, demuestra sus cualidades antiamiloides (36)



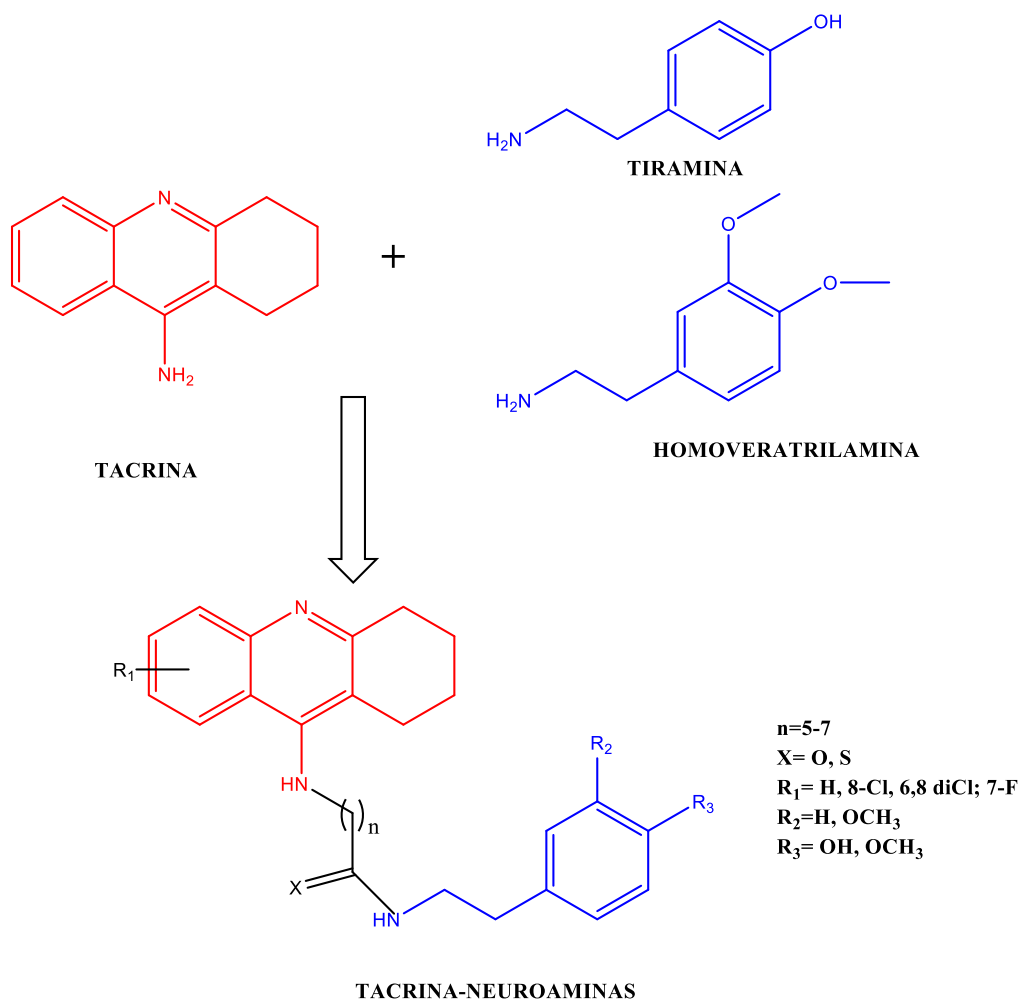
**Figura 17.** Ruta de síntesis de híbrido 7-MEOTA-amantadina tioureas. Tomada de Catalán MA, 2018 (25)

El procedimiento sintético general para heterodímeros de 7-MEOTA-amantadina se puede apreciar con detalle en la figura 17. (25)

### 9.1.2 Híbridos Tacrina-neuroaminas

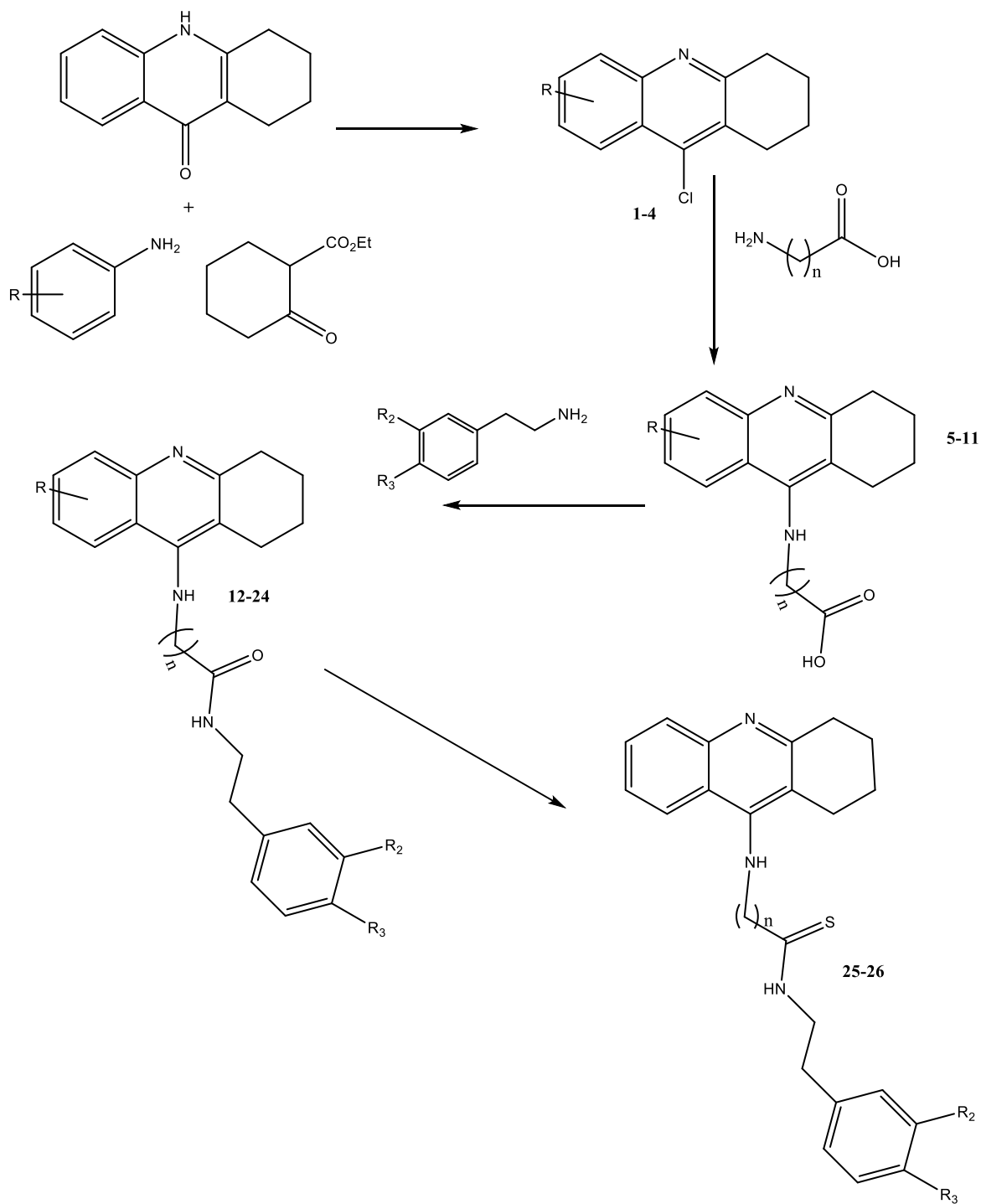
Las neuroaminas actúan como neurotransmisores y neuromoduladores, estas se caracterizan por contener un grupo amino conectado a un anillo aromático a través de una cadena de dos carbonos. Estas derivan de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina. La síntesis de los híbridos tacrina – neuroaminas con diferentes sustituyentes en el

fragmento de tacrina ( $R_1 = H, 8\text{-Cl}, 6,8\text{-diCl}, 7\text{-F}$ ), distintas longitudes en el espaciador ( $n = 5\text{-}7$ ), con uniones de tipo amida o tioamida ( $X = O, S$ ) y la utilización de dos tipos de neuroaminas: tiramina y homoveratrilamina (fig. 18) (18). La tiramina es una neuroamina endógena que opera como intermediario en la síntesis de dopamina y otras catecolaminas neurotransmisoras, esta se produce por descarboxilación de L-tirosina. También actúa directamente como neuromodulador, como reveló el descubrimiento de un receptor acoplado a proteína G con alta afinidad por tiramina, llamado TAAR1 (trace amine-associated receptor 1) (41), que está ampliamente expresado en SNC. Mientras que la homoveratrilamina es una catecolamina análoga de la dopamina, donde los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 4 de la dopamina han sido reemplazados por grupos metoxilo (18). Ambas neuroaminas se pueden encontrar de forma natural en vegetales, en especial la tiramina en alimentos fermentados, en plantas, en el hígado de pollo y en pescados, por lo que no es de esperar toxicidad en los híbridos que se han propuesto.



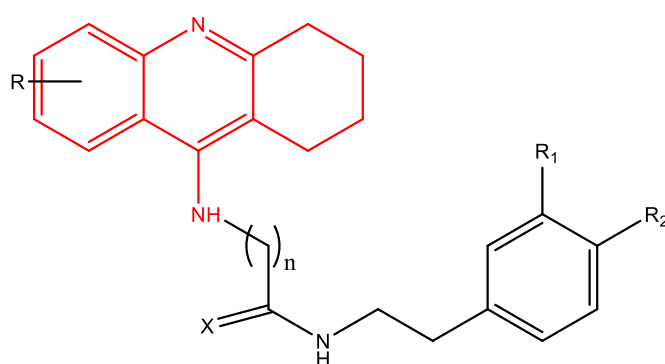
**Figura 18.** Diseño de los híbridos tacrina – neuroaminas. Tomado Iglesias BL, 2018 (18)

La obtención de los híbridos tacrina – neuroaminas se obtuvo mediante una serie de procesos, los cuales se ven reflejados en el paso a paso de la figura 19 (18)



**Figura 19.** Síntesis de los híbridos tacrina – neuroaminas **12-26**. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

Usando tacrina como referencia interna, se evaluó la capacidad de los híbridos tacrina – neuroaminas como inhibidores de AChE y BuChE, debido a su menor coste y a su alto grado de homología con las enzimas humanas, inicialmente se emplearon enzimas de mamífero, concretamente AChE de eritrocitos bovinos y BuChE de suero de caballo. Todos los híbridos tacrina – neuroaminas **12-26** son potentes inhibidores de AChE y BuChE de mamífero, con valores de  $CI_{50}$  en el orden nanomolar para la mayoría de los compuestos, los que se pueden observar en la tabla 2. (fig. 20)



**Figura 20.** híbridos tacrina – neuroaminas. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

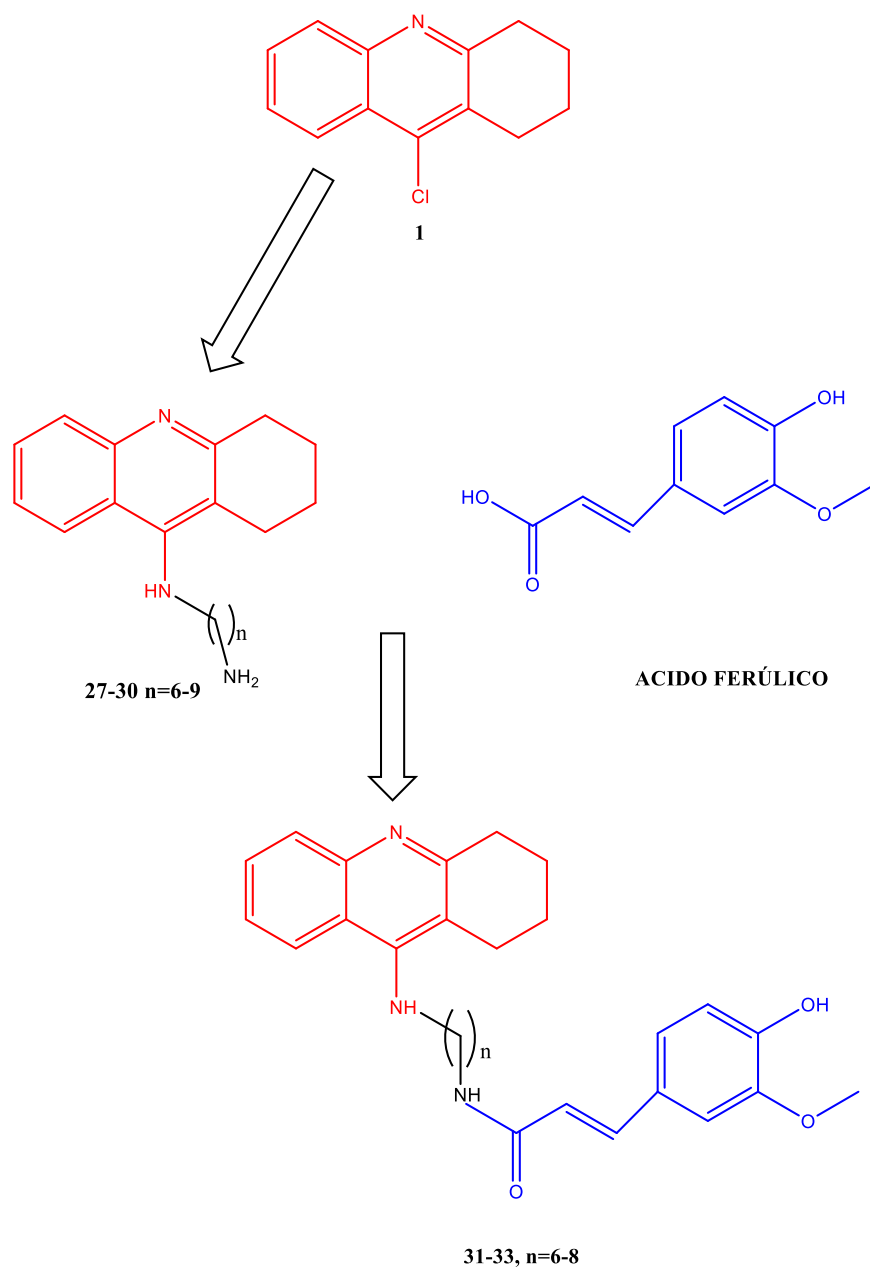


						IC <sub>50</sub> ± SEM (nM)			Selectividad eq-BuChE vs.	
Compuesto	n	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R	X	bov-AChE	eq-BuChE	h-AChE	bov-AChE	h-AChE
<b>15</b>	5	H	OH	8-Cl	O	300 ± 28	85 ± 7	73.8 ± 5.8	3.5	0.9
<b>16</b>	5	H	OH	6.8-diCl	O	7.5 ± 0.2	40 ± 3	6.75 ± 0.02	0.2	0.2
<b>17</b>	5	H	OH	6.8-diCl	O	100 ± 7	250 ± 23	123 ± 10	0.4	0.5
<b>18</b>	5	H	OH	7-F	O	100 ± 8	1 ± 0.01	237 ± 16	100	237
<b>21</b>	7	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	O	100 ± 8	1.5 ± 0.1	8.01 ± 0.12	67	5.3
<b>23</b>	5	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	O	50 ± 4	350 ± 21	49.3 ± 5.8	0.1	0.1
<b>25</b>	5	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	S	75 ± 5	6.5 ± 0.5	93.6 ± 2.5	12	14
Tacrina						40 ± 2	10 ± 4	350 ± 10	4	35

**Tabla 2.** Inhibición de AChE y BuChE de los híbridos tacrina – neuroaminas. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

### 9.1.3 Híbridos Tacrina – ferúlico

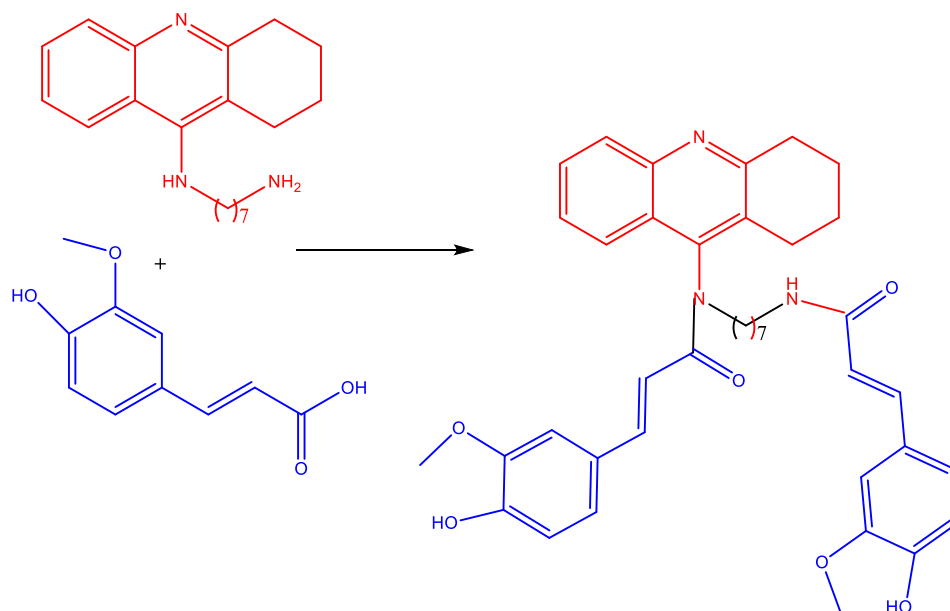
Para poder lograr la síntesis de híbridos derivados de tacrina y ácido ferúlico se llevaron a cabo una serie de pasos de reacción (fig. 21), donde algunos llevaron a rendimientos muy bajos, por lo que finalmente se optó por emplear un agente acoplante, la dicitclohexilcarbodiimida (DCC), en DMF a temperatura ambiente, que tras 24h de reacción posibilitó aislar los híbridos tacrina-ferúlico **31-33** con rendimientos moderados (36 – 53%) (18,42).



**Figura 21.** Síntesis de los híbridos tacrina-ferúlico **31-33**. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

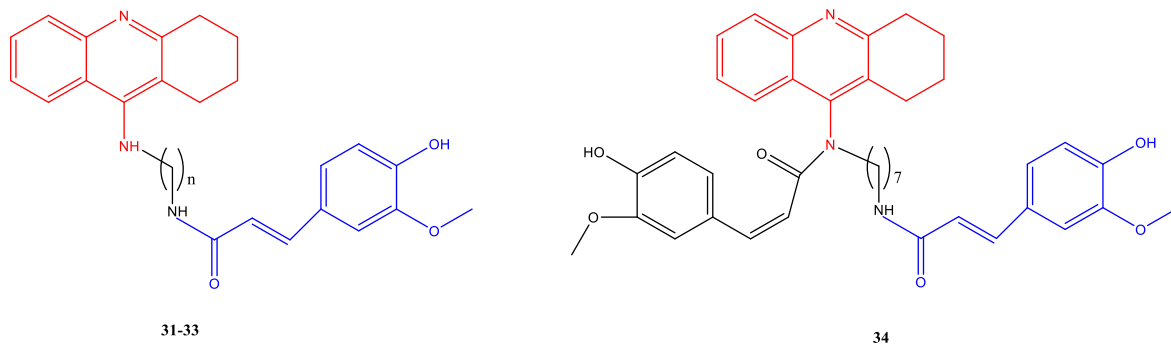
En todos los casos, por HPLC se determinó que los híbridos tacrina – ferúlico presentaban una pureza final en torno al 80%. Además del producto deseado se obtenía otro

de mayor peso molecular. Durante la síntesis del híbrido **32** se logró purificar dicho producto y esclarecer su estructura, tratándose del producto resultante de un segundo acoplamiento entre el ácido ferúlico y la amina secundaria, para obtener el híbrido **34**, compuesto por un fragmento de tacrina y dos de ferúlico (18,42)



**Figura 22.** Obtención del híbrido **34**. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

Con la intención de demostrar la acción de los híbridos tacrina–ferúlico **31-34** (**fig. 23**) como inhibidores de AChE y BuChE, en comparación a la tacrina como referencia interna, se utilizaron enzimas de mamífero (bov- AChE y eq-BuChE) (42), esto debido a su bajo coste y su alto grado de similitud en relación a las enzimas humanas. Los resultados se encuentran en la tabla 3. (18)



**Figura 23.** Síntesis de híbridos tacrina-ferúlico. Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

Compuesto	n	IC <sub>50</sub> ± SEM (nM)			Selectividad eq-BuChE vs	
		bov-AChE	eq-BuChE	h-AChE	bov-AChE	h-AChE
<b>33</b>	8	240 ± 20	3.7 ± 0.2	43 ± 5	64.9	11.6
<b>34</b>	7	350 ± 30	5.3 ± 0.3	40 ± 4	66	7.5
Tacrina		40 ± 2	10 ± 0.4	350 ± 10	4	35

**Tabla 3.** Inhibición de AChE y BuChE de los híbridos tacrina-ferúlico (IC<sub>50</sub>, nM). Tomado de Iglesias BL, 2018 (18)

Se obtuvo que todos los híbridos **31-34** presentaron IC<sub>50</sub> más potentes en AChE humana (40-87 nM) que en la enzima de mamífero (240-400 nM). Comparando con el referente, los híbridos tacrina – ferúlico son también un orden de magnitud más potentes en h-AChE que el fármaco tacrina. (18).

#### 9.1.4 Híbridos de Tacrina-ibuprofeno

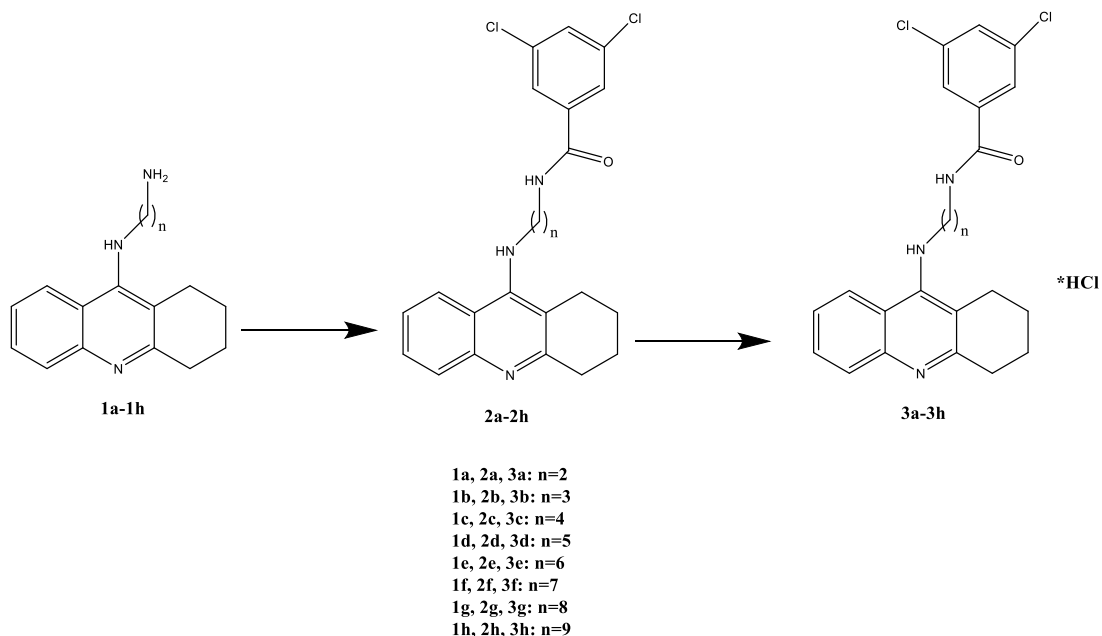
Hace poco Liu y colaboradores informaron una serie de profármacos sensibles a ROS, basándose en las características clínicas patológicas de la EA, como es el caso de la sobreproducción de ROS, la inflamación y la disminución de los transmisores de colina en el cerebro. Estos son obtenidos a partir de la hibridación de tacrina e ibuprofeno a través de un enlazador de boronato de fenilo con un enfoque de ligandos múltiples objetivos (MTDL) mostrando inhibición de acetilcolinesterasa (AChE), además de tener cualidades protectoras para las neuronas y efectos antiinflamatorios. (43)

En relación a la serie de híbridos formados, el número 22 evidenció poseer una serie de características que lo hicieron más efectivo frente al resto de compuestos sintetizados, ya que este fue capaz de penetrar la barrera hematoencefálica (BHE) mostrando poca hepatotoxicidad en comparación con la tacrina, ya que induce una menor cantidad de ROS intracelular, lo que demuestra que este compuesto presenta una mejor biocompatibilidad. También goza de la capacidad de ser un fuerte neuroprotector en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, debido a que influye en la regulación de factores proinflamatorios al inhibir las citoquinas IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  y en la regulación de proteínas relacionadas con la apoptosis (Bax, Bcl-2 y caspasa-3 escindida). Sin embargo la principal cualidad de los híbridos sintetizados (**19 - 22**) tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mostraron una actividad inhibitora de AChE con valores IC<sub>50</sub> de 39.16 a 608.1 nM. Finalmente es necesario mencionar que el compuesto **22** pudo exhibir un efecto terapéutico considerable en la mejora del déficit cognitivo, en especial en la capacidad de aprendizaje y la memoria, y en la memoria espacial en modelos murinos con EA inducida por A $\beta$  (43)

#### 9.2 Híbridos de tetrahydroacridina con ácido diclorobenzoico

Los derivados de tetrahydroacridina para ser sintetizados, en primer lugar se obtienen los compuestos **1a-1h** mediante la condensación de 9-clorotetrahydroacridina con diaminas en presencia de fenol y NaI a 180 °C durante dos horas. Luego los derivados de diamina de la tetrahydroacridina (**1a-1h**) se unieron al ácido 3,5-diclorobenzoico en presencia de

tetrahidrofurano (THF), 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina ( CDMT) y *N*-metilmorfolina. (fig. 24) (42,44)



**Figura 24.** Síntesis de Híbridos de tetrahidroacridina con ácido diclorobenzoico, **2a–2h** y **3a–3h**. Reactivos: (a) ácido 3,5-diclorobenzoico, CDMT, *N*-metilmorfolina, THF; (b) HCl/éter. Tomado de Czarnecka K, 2020 (44)

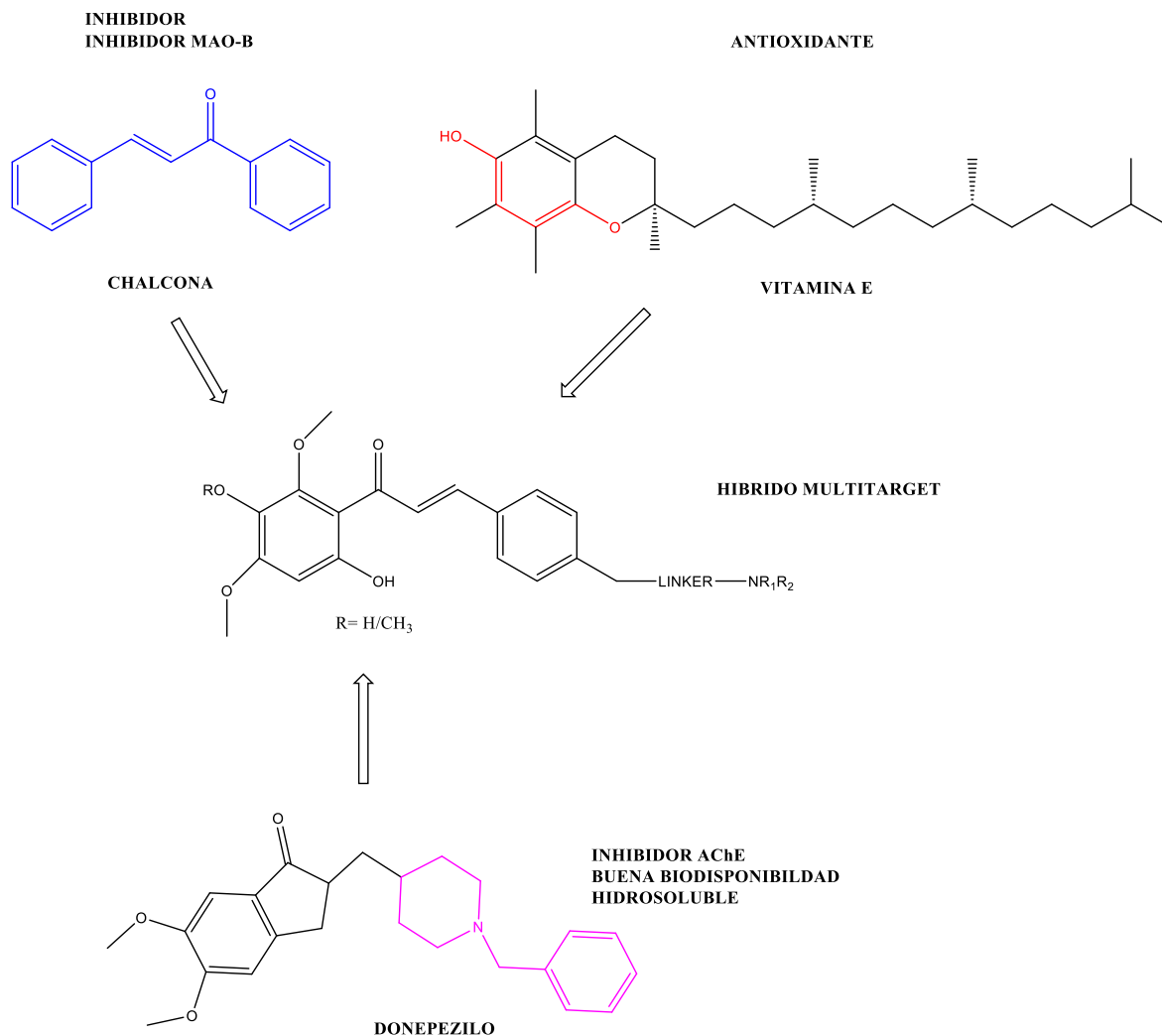
Los compuestos presentaron una actividad inhibitoria variable en las pruebas de porcentaje de inhibición. Basándose en los valores  $IC_{50}$  obtenidos (tabla 4) se aprecia que la mayoría de los nuevos derivados (**3a–3c** y **3f–3h**) tienen actividad inhibitoria de AChE y BuChE. Los híbridos fueron más activos como inhibidores de BuChE (**3a**, **3b**, **3f** y **3g**) que como inhibidores de AChE (**3c** y **3h**). Entre los inhibidores de AChE, el que tiene mejor desempeño fue **3c**, con  $IC_{50} = 25$  nM. Asimismo, **3c** exhibió un potencial más bajo para inhibir BuChE, con  $IC_{50} = 123$  nM. Los compuestos **3a** y **3b**, los que tienen las cadenas de carbono más cortas, resultaron ser los inhibidores más activos para BuChE ( $IC_{50} = 140$  y  $24$  nM, respectivamente) (44).

Compuesto	EeAChE IC <sub>50</sub> ± SD (μM)	EqBuChE IC <sub>50</sub> ± SD (μM)	Selectividad por AChE	Selectividad por BuChE
<b>3a</b>	0.690 ± 0.108	0.140 ± 0.012	0.203	4.935
<b>3b</b>	0.139 ± 0.005	0.024 ± 0.001	0.174	5.756
<b>3c</b>	0.025 ± 0.003	0.123 ± 0.011	4.864	0.206
Tacrina	0.078 ± 0.008	0.015 ± 0.001	0.192	5.204

**Tabla 4.** Actividades inhibitoras de la colinesterasa de los compuestos sintetizados **3a–3h**. Tomado de Czarnecka K, 2020 (44).

### 9.3 Híbridos de chalcona, vitamina E y donepezilo

Recientemente Zangh y colaboradores durante 2022 reportaron el diseño, síntesis y evaluación biológica *in vitro e in silico* de una alentadora serie de híbrido, conformados por núcleos químicos de chalcona, vitamina E y donepezilo, evidenciando serias alteraciones positivas en la EA en el metabolismo de MAO y AChE, específicamente en la actividad inhibitoria de estos, además de presentar buen potencial antioxidante. El enfoque utilizado para el diseño de estos nuevos híbridos se encuentra resumido en la figura 25 (45,46)

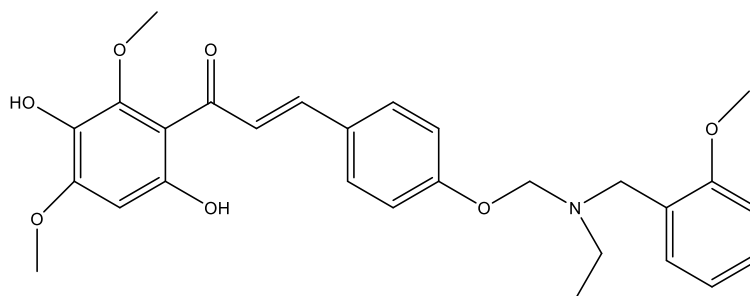


**Figura 25.** Estrategia sintética para la obtención de híbridos multitarget: Chalcona:vitaminaE:donepezilo. Tomado de Sang Z, et al. 2022 (47)

De la serie de híbridos sintetizados, el que se observa en la figura 27 (**17f**) resultó ser el más activo, ya que mostró una buena actividad antioxidante, actividad quelante de metales y una elevada selectividad por MAO B. Además de una destacada inhibición de la agregación de A $\beta$  autoinducida e inducida por Cu<sup>+2</sup> con un porcentaje de 78 y 93.5% a 25  $\mu$ M, respectivamente, al igual que un buen efecto sobre el desensamblado autoinducido e inducido por Cu<sup>+2</sup> de la agregación de las fibrillas A $\beta$ , con una tasa de desagregación de 72.3 y 84.5%, respectivamente. El compuesto **17f** exhibió un gran efecto neuroprotector en relación a la lesión de células PC12 inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y mostró buena permeabilidad de la barrera

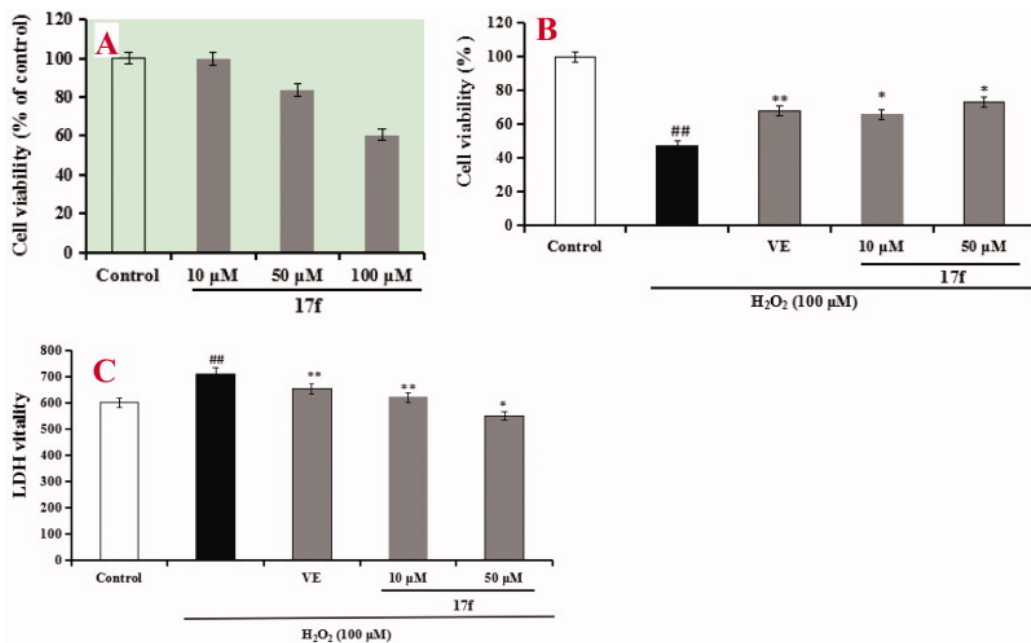


hematoencefálica *in vitro*, con valores que son comparables con las referencias utilizadas, esto lo destaca dentro de la serie sintetizada, clasificándolo como un híbrido con alto potencial multitarget. (47)



**Figura 26.** Híbrido multitarget más activo de la serie chalcona-vitamina E-donepezilo. Tomado de Sang Z, et al, 2022 (47)

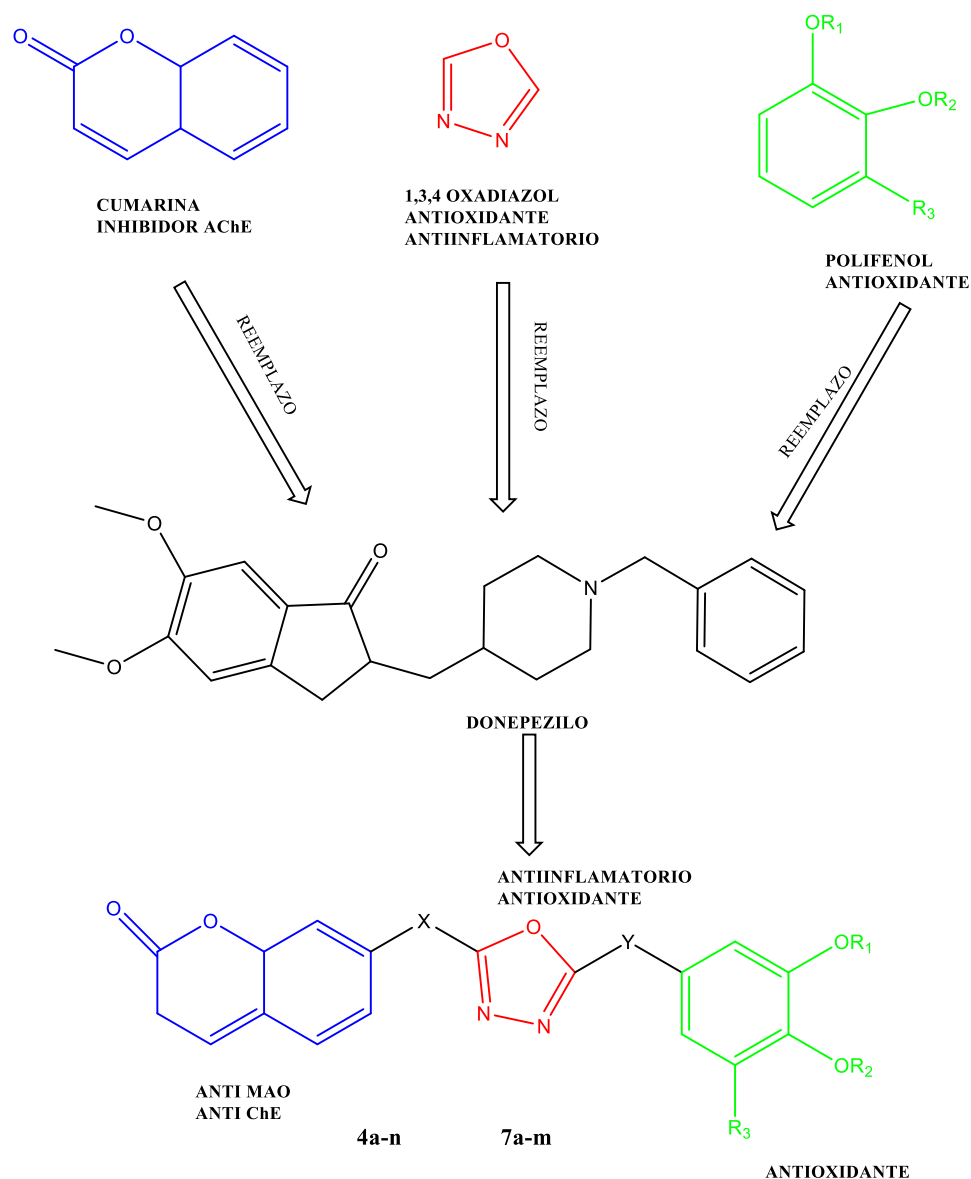
También se probó la citotoxicidad del compuesto **17f** mediante un ensayo MTT. Como se muestra en la Figura 28 (A), este no mostró una citotoxicidad evidente hasta que la concentración alcanzó los 50 $\mu$ M, presentando un amplio rango de seguridad. Posteriormente, los efectos neuroprotectores de **17f** contra la lesión celular PC12 inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que se mencionó anteriormente se investigó a través del ensayo MTT y el ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH), donde la vitamina E (VE) actuó como el fármaco positivo. (46,47)



**Figura 27.**(A) Citotoxicidad de **17f** en células PC12. (B) La atenuación de la lesión de células PC12 inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por el compuesto **17f** se probó utilizando el ensayo MTT. (C) La actividad LDH del compuesto **17f** sobre la lesión celular PC12 inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se evaluó mediante el ensayo LDH. VE: vitamina E. Tomado de Sang Z, et al, 2022 (47)

#### 9.4 Híbridos de Cumarina

Otro híbrido de relevancia nace de la unión entre ácido fenólico, 1.3.4-oxadiazol y cumarina, donde este último es un andamio versátil que presenta una amplia gama de propiedades biológicas, entre las que destaca la actividad inhibitoria de la colinesterasa. Lo que lo convierte en un componente importante para desarrollar fármacos contra la EA. Cabe mencionar que este híbrido es un ligando dirigido a múltiples dianas (MTDL). En el reciente estudio realizado por Namy George y colaboradores, se sintetizaron dos series de ligandos de bajo peso molecular (27 compuestos) con la finalidad de investigar sus actividades inhibitorias de acetilcolinesterasa (AChE), la butirilcolinesterasa (BuChE), la actividad antioxidante y la actividad inhibidora de la ciclooxigenasa (COX) *in vitro e in silico*. (48)

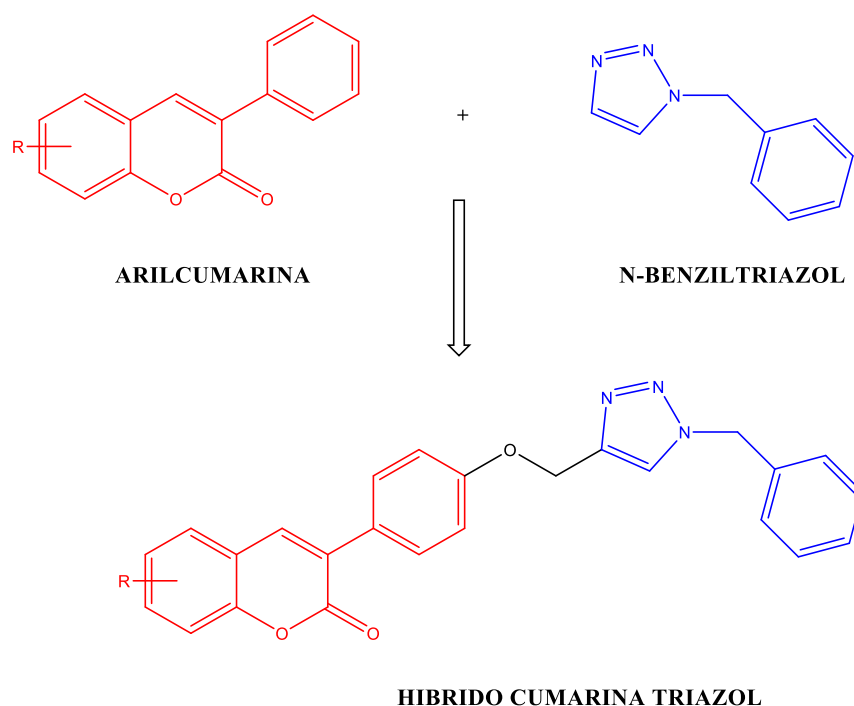


**Figura 28.** Protocolo de diseño de híbridos de ácido fenólico y 1,3,4-oxadiazol portadores de cumarina como agentes anti-Alzheimer. Tomado de Pourabdi L, et al 2022 (48)

Dichos ensayos *in vitro* confeccionados para los ligandos diseñados evidenciaron que muchos de los compuestos son potentes inhibidores de AChE y BuChE en comparación con el compuesto estándar (galantamina), siendo los compuestos **4e** y **4g** los que demostraron la actividad inhibidora más potente contra AChE con un valor  $IC_{50}$  de 29.56 y 28.68  $\mu M$ , además de tener un buen acoplamiento molecular y exhibir un índice de selectividad de 1.552 y 1.652, respectivamente, los cuales son mayores en comparación con la galantamina

estándar (SI = 1.132). También es necesario mencionar el compuesto 4m, el cual obtuvo la mayor actividad contra BuChE con un IC<sub>50</sub> de 23.97 μM. Dichos híbridos en general mostraron actividad antioxidantes y antiinflamatorias *in vitro* de buenas a excelentes. Todo lo mencionado anteriormente respalda lo prometedor que son estos posibles fármacos contra la EA. (48)

Mientras que en otro estudio sobre una nueva serie de híbridos de tipo 3-arylumarinas con fracción de *N*-benziltriazol (fig. 29) han sido sintetizados y evaluados biológicamente teniendo una actividad leve contra una o varias dianas en lugar de una diana con alta afinidad, siendo estos potenciales inhibidores duales de lipoxigenasa y butirilcolinesterasa con propiedades neuroprotectoras y de agregación antiamiloides contra la EA. (49)



**Figura 29.** Híbridos coumarina-triazol como agentes anti alzheimer. Tomado de Pourabdi, et al. 2022 (49)

La gran mayoría de los compuestos que fueron sintetizados mostraron una actividad de débil a moderada contra las enzimas colinesterasas. Entre los inhibidores de BuChE, se evidencio que el sustituyente en el anillo de coumarina tiene directa relación con esta, siendo 8-metoxi y 6-nitro los que tuvieron mejores resultados, mientras que en relación a 15-LOX,

el tipo y la posición en la que se encuentra el sustituyente en el resto de *N*-benciltriazol tiene la cualidad de controlar la actividad de inhibición en él. Entre los híbridos más activos, al menos dos de ellos exhibieron un excelente efecto neuroprotector, superior a quercetina (fármaco estándar utilizado), sobre un modelo celular dañado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y agregación significativamente reducida de amiloide Aβ<sub>1-42</sub>, con unos potencias 1,44 y 1,79 veces superiores a donepezilo. Al menos un compuesto de la serie también mostró alta actividad antioxidante en comparación con BHT usado como antioxidante de referencia. Por todo lo mencionado, se demostró que los conjugados triazol-cumarina tienen una actividad de inhibición de LOX aceptable, buena potencia anti-BuChE, valiosa neuroprotección, notable agregación anti-Aβ y actividad antioxidante significativa como posibles MTDL contra la EA. Todos los datos experimentales obtenidos fueron corroborados con estudios *in silico* estableciendo posible sitio de interacción con las enzimas evaluadas. (49)

## CONCLUSIÓN

La EA es una afección de gran relevancia a nivel mundial y es un gran problema de salud pública, ya que a la fecha la cantidad de casos se ha incrementado y no existe un tratamiento o cura efectiva para dicha afección considerando que los pronósticos y estadísticas de esta enfermedad no son alentadores, es por esto que se hacen necesarios nuevos esfuerzos a nivel de investigación y desarrollo de nuevos fármacos que permitan lograr nuevos avances en las terapias actuales considerando el carácter multifactorial de dicha enfermedad.

El desarrollo de híbridos moleculares como diseño sintético para la obtención de nuevas moléculas como potenciales fármacos capaces de actuar sobre dos o más dianas farmacológicas o capaces de potenciar el efecto que ha mostrado cada uno de estos componentes de manera aislada es una estrategia usada en los últimos años con resultados prometedores en la búsqueda de sustancias capaces de actuar en la prevención, tratamiento o cura de trastornos neurodegenerativos, incluidos la EA. Por lo que es posible resaltar la gran importancia de estos, ya que al utilizar este innovador enfoque se logra diseñar y sintetizar compuestos capaces de interactuar en varias áreas del cerebro humano al mismo tiempo, logrando así involucrarse en las secuelas de la patogenia de la EA, lo que consigue la disminución de la agregación de A $\beta$ , la hiperfosforilación de la proteína Tau, desbalances de neurotransmisores, excitotoxicidad, entre otros, mediante la mediación de la actividad de enzimas claves en estos procesos, los que a su vez se espera que tengan mejores resultados que los fármacos aprobados hoy en día por la FDA para el tratamiento de la EA y con menores efectos secundarios, sin embargo, estos siguen siendo paliativos y no curativos, ya que no logran curar la enfermedad como tal. Los Resultados y antecedentes en esta área marcan precedentes importantes en la búsqueda de nuevos potenciales fármacos aplicables a enfermedades neurodegenerativas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. J. GO. Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Rev Neurol. 2018.
2. Ríos MA. Prevención y epidemiología de la enfermedad de Alzheimer, una deuda pendiente. Revista Alzheimer y otros Trastornos Cognitivos. 2019;27
3. Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prima M. World Alzheimer Report 2015 The global impact of dementia an analysis of prevalence, incidence, cost and trends. [Online]; 2015. Disponible en: [HYPERLINK "https://www.alzint.org/what-we-do/research/world-alzheimer-report/"](https://www.alzint.org/what-we-do/research/world-alzheimer-report/)
4. Abusleme Lama MT, Ángela Arenas Massa, Marilú Budinich Villouta, Jean Gajardo Jauregui, María José Gálvez Pérez, Alberto Larrain Salas, Andrea Slachevsky Chonchol. Plan Nacional de Demencia. 2017;60
5. Niu H, ÁlvarezÁlvarez I, GuillénGrima F, AguinagaOntoso I. Prevalencia e incidencia de la enfermedad de Alzheimer en Europa: metaanálisis. Neurología 2017; 32: 52332.
6. Fiest KM, Roberts JI, Maxwell CJ, Hogan DB, Smith EE, Frolkis A, et al. The prevalence and incidence of dementia due to Alzheimer's disease: a systematic review and metaanalysis. Can J Neurol Sci 2016; 43 (Suppl 1): S51-82.

7. Silva EJJ, Islas MJ. Neurodegeneración y enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol Neurocir Psiquiat*. 2004;37(1):25-28.
8. Fiest KM, Jetté N, Roberts JI, Maxwell CJ, Smith EE, Black SE, et al. The prevalence and incidence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Can J Neurol Sci* 2016; 43 (Suppl 1): S350.
9. Las 10 principales causas de defunción [Online]. World Health Organization. [cited 2021 Jul 15]. Available from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
10. La población mundial sigue en aumento, aunque sea cada vez más vieja [Internet]. [www.un.org](http://www.un.org). 2019 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://www.un.org/development/desa/es/news/population/world-population-prospects-2019.html>
11. Merino EN, Sendin MAC, Osorio JAV. Enfermedad de Alzheimer. *Medicine* 2015;11(72):4306-15.
12. Terrado QSP, Serrano DC, Galano GZG, et al. Enfermedad de Alzheimer, algunos factores de riesgo modificables. *RIC*. 2018;97(5):1031-1042.
13. Tellechea P, Pujol N, Esteve-Belloch P, Echeveste B, García-Eulate MR, Arbizu J, et al. Enfermedad de Alzheimer de inicio precoz y de inicio tardío: ¿son la misma entidad? *Neurología*. 2018;33(4):244–53.
14. Penke B,BF,FL.  $\beta$ -amyloid and the pathomechanisms of Alzheimer's Disease: A comprehensive View. *Molecules*. 2017; 22,1692.
15. Bórnez MM. Análisis de la organización celular en el entorno de placas amiloides en modelos de enfermedad de Alzheimer. [Instituto de Biomedicina de Sevilla]: Universidad de Sevilla; 2020



16. del Cisne LDG. Evaluación de los elementos clínicos y fisiopatológicos que apoyan el tratamiento farmacológico en la enfermedad de Alzheimer. [Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud]: Universidad Técnica de Machala; 2017.
17. Álvarez Castillo A, Rodríguez Alfaro JM, Salas Boza A. Influencia de la enfermedad de Alzheimer en los sistemas de neurotransmisión sináptica. *Rev.méd.sinerg.* [Internet]. 1 de abril de 2020 [citado 16 de julio de 2021];5(4):e442. Disponible en: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/442>
18. Iglesias BL. Desarrollo de métodos in vitro para la determinación de la penetración en el sistema nervioso central y nuevos híbridos anti-Alzheimer derivados de tacrina o de dibencilmetilamina. [Instituto de Química Médica]: Universidad de Valladolid; 2018.
19. Altuna-Azkargorta M, Mendioroz-Iriarte M. Biomarcadores sanguíneos en la enfermedad de Alzheimer. *Neurología.* 2018; <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2018.03.006>
20. Carvajal Carvajal Carlos. Biología molecular de la enfermedad de Alzheimer. *Med. leg. Costa Rica* [Internet]. 2016 Dec [cited 2022 Apr 20]; 33( 2 ): 104-122. Available from: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152016000200104&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152016000200104&lng=en).
21. Barragán Martínez D, García Soldevilla MA, Parra Santiago A, Tejeiro Martínez J. Enfermedad de Alzheimer. *Medicine* [Internet]. 2019;12(74):4338–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.med.2019.03.012>
22. Serrano AV. GALANTAMINA Y ENFERMEDAD DEL ALZHEIMER. [Facultad de Farmacia]: Universidad de Sevilla; 2017.

23. H Ferreira-Vieira T, M Guimaraes I, R Silva F, M Ribeiro F. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current neuropharmacology*. 2016;14(1):101-115. <https://doi.org/10.2174/1570159X13666150716165726>.
24. Ramírez y Eric Murillo Rodríguez RJMAPAAS. ¿Qué es la enfermedad de Alzheimer? *Ciencia - Academia Mexicana de Ciencias*. 2016;27
25. Catalán MA. Estudio del diseño y la síntesis de derivados de Tacrina en la enfermedad de Alzheimer. [Facultad de Farmacia]: UNIVERSIDAD COMPLUTENSE; 2018.
26. Ardiles Álvaro O., Arancibia Marcelo, Lutz Mañane, Riquelme Julio, Gigoux Juan Pablo, Muñoz Pablo. Aducanumab: falta de consistencia entre la evidencia preclínica y clínica. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2021 Jun [citado 2022 Abr 20]; 149(6): 950-951.
27. Volpe DA, Hamed SS, Zhang LK. Use of different parameters and equations for calculation of IC<sub>50</sub> values in efflux assays: potential sources of variability in IC<sub>50</sub> determination. *AAPS J* [Internet]. 2014;16(1):172–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1208/s12248-013-9554-7>
28. Bayer Hispania SL. FICHA TECNICA CAFIASPIRINA COMPRIMIDOS [Internet]. 2021 Jan. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/8701/FT\\_8701.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/8701/FT_8701.pdf)
29. Berrouet C, Dorilas N, Rejniak KA, Tuncer N. Comparison of drug inhibitory effects (IC<sub>50</sub>) in monolayer and spheroid cultures [Internet]. *bioRxiv*. 2020. Available from: <http://dx.doi.org/10.1101/2020.05.05.079285>.
30. Kalliokoski T, Kramer C, Vulpetti A, Geddeck P (2013) Comparability of Mixed IC<sub>50</sub> Data – A Statistical Analysis. *PLoS ONE* 8(4): e61007. doi:10.1371/journal.pone.0061007

31. Mishra P, Kumar A, Panda G. Anti-cholinesterase hybrids as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease (1998-2018). *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2019;27(6):895–930. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2019.01.025>
32. Wang, Y., Wang, H., Chen, H.Z., AChE Inhibition-based Multi-target-directed Ligands, a Novel Pharmacological Approach for the Symptomatic and Disease-modifying Therapy of Alzheimer's Disease, *Current Neuropharmacology*, 2016, 14, 364-375.
33. Guzior, N., Więckowska, A., Panek, D., Malawska, B., Recent Development of Multifunctional Agents as Potential Drug Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease, *Current Medicinal Chemistry*, 2015, 22, 373-404.
34. Yang B, Chen Y, Shi J. Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine. *Chem Rev* [Internet]. 2019;119(8):4881–985. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00626>
35. Agis-Torres, A., Söllhuber, M., Fernandez, M., Sanchez-Montero, J.M., Multi-Target- Directed Ligands and other Therapeutic Strategies in the Search of a Real Solution for Alzheimer's Disease, *Current Neuropharmacology*, 2014, 12, 2-36.
36. Marotta G, Basagni F, Rosini M, Minarini A. Memantine derivatives as multitarget agents in Alzheimer's disease. *Molecules* [Internet]. 2020;25(17):4005. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25174005>
37. Gancar, M.; Ho, K.; Mohid, S.A.; Thai, N.Q.; Bednarikova, Z.; Nguyen, H.L.; Bhunia, A.; Nepovimova, E.; Li, M.S.; Gazova, Z. 7-Methoxytacrine and 2-Aminobenzothiazole Heterodimers: Structure-Mechanism Relationship of Amyloid Inhibitors Based on Rational Design. *ACS Chem. Neurosci.* 2020, 11, 715–729.

38. Misik, J.; Nepovimova, E.; Pejchal, J.; Kassa, J.; Korabecny, J.; Soukup, O. Cholinesterase Inhibitor 6-Chlorotacrine—In Vivo Toxicological Profile and Behavioural Effects. *Curr. Alzheimer Res.* 2018, *15*, 552–560.
39. Gazova, Z.; Soukup, O.; Sepsova, V.; Siposova, K.; Drtinova, L.; Jost, P.; Spilovska, K.; Korabecny, J.; Nepovimova, E.; Fedunova, D.; et al. Multi-target-directed therapeutic potential of 7-methoxytacrine-adamantylamine heterodimers in the Alzheimer's disease treatment. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2017, *1863*, 607–619.
40. Vyklicky, V.; Smejkalova, T.; Krausova, B.; Balik, A.; Korinek, M.; Borovska, J.; Horak, M.; Chvojkova, M.; Kleteckova, L.; Vales, K.; et al. Preferential Inhibition of Tonically over Phasically Activated NMDA Receptors by Pregnane Derivatives. *J. Neurosci.* 2016, *36*, 2161–2175.
41. Spilovska, K., Korabecny, J., Kral, J., Horova, A., Musilek, K., Soukup, O., Drtinova, L., Gazova, Z., Siposova, K., Kuca, K., 7-Methoxytacrine-Adamantylamine Heterodimers as Cholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease Treatment — Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Modeling Studies, *Molecules*, 2013, *18*, 2397-2418
42. Romero, A.; Egea, J.; Gonzalez-Munoz, G.C.; de Saavedra, M.D.M.; del Barrio, L.; Rodriguez-Franco, M.I.; Conde, S.; Lopez, M.G.; Villarroya, M.; de los Rios, C. ITH12410/SC058: A New Neuroprotective Compound with Potential in the Treatment of Alzheimer's Disease. *ACS Chem. Neurosci.* 2014, *5*, 770–775.
43. Liu Z, Zhang B, Xia S, Fang L, Gou S. ROS-responsive and multifunctional anti-Alzheimer prodrugs: Tacrine-ibuprofen hybrids via a phenyl boronate linker. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2021;212(112997):112997. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112997>
44. Czarnecka K, Girek M, Wójtowicz P, Kręcisz P, Skibiński R, Jończyk J, et al. New tetrahydroacridine hybrids with dichlorobenzoic acid moiety demonstrating

- multifunctional potential for the treatment of Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020;21(11):3765. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21113765>.
45. Zhang X, He X, Chen Q, Lu J, Rapposelli S, Pi R. A review on the hybrids of hydroxycinnamic acid as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2018;26(3):543–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2017.12.042>
46. Sang Z, Wang K, Shi J, et al. The development of advanced structural framework as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2020;192: 112180.
47. Sang Z, Song Q, Cao Z, Deng Y, Zhang L. Design, synthesis, and evaluation of chalcone-Vitamin E-donepezil hybrids as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *J Enzyme Inhib Med Chem* [Internet]. 2022;37(1):69–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14756366.2021.1993845>
48. George N, Sabahi BA, AbuKhader M, Balushi KA, Akhtar MJ, Khan SA. Design, synthesis and in vitro biological activities of coumarin linked 1,3,4-oxadiazole hybrids as potential multi-target directed anti-Alzheimer agents. *J King Saud Univ Sci* [Internet]. 2022;34(4):101977. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101977>
49. Pourabdi L, Küçükılınç TT, Khoshtale F, Ayazgök B, Nadri H, Farokhi Alashti F, et al. Synthesis of new 3-aryl coumarins bearing N-benzyl triazole moiety: Dual lipooxygenase and butyrylcholinesterase inhibitors with anti-amyloid aggregation and neuroprotective properties against Alzheimer's disease. *Front Chem* [Internet]. 2021;9:810233. Available from: <http://dx.doi.org/10.3389/fchem.2021.810233>