



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**FÁRMACOS MULTIDIANA PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD
DE ALZHEIMER**

Autor: Lucas Martín Pardo

Fecha: Julio 2020

Tutor: Giorgio Giorgi

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | 3 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 4 |
| 3. OBJETIVOS | 6 |
| 4. METODOLOGÍA | 6 |
| 5. RESULTADOS | 6 |
| 5.1 Factores de desarrollo y dianas terapéuticas en la Enfermedad de Alzheimer . | 6 |
| 5.1.1 Hipótesis colinérgica | 7 |
| 5.1.2 Hipótesis amiloide | 9 |
| 5.1.3 Estrés oxidativo | 9 |
| 5.1.4 Hiperfosforilación de la proteína Tau | 10 |
| 5.1.5 β -secretasa 1 (BACE-1) | 11 |
| 5.1.6 Monoamino oxidasa (MAO)..... | 12 |
| 5.1.7 Pérdida de la homeostasis de los biometales endógenos..... | 12 |
| 5.1.8 Otros factores importantes en la EA | 13 |
| 5.2 Fármacos multidiana en la Enfermedad de Alzheimer y sus perspectivas de futuro | 13 |
| 5.2.1 Antioxidantes mitocondrotrópicos | 14 |
| 5.2.2 Análogos Donepezilo-Benzimidazol..... | 15 |
| 5.2.3 Derivados de Tacrina | 16 |
| 5.2.4 Derivados de propargilamina: ASS234, Ladostigil y análogos..... | 18 |
| 6. CONCLUSIONES | 20 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA | 21 |

1. RESUMEN

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa caracterizada por la disminución de función y muerte de las neuronas del hipocampo y la corteza, lo que se traduce en pérdida de memoria y deterioro cognitivo. Los pacientes con EA sufren un descenso de la actividad colinérgica en el SNC. El tratamiento actual está basado en la combinación de un inhibidor de acetilcolinesterasa (AChE), como el Donepezilo (DNP) junto con Memantina (antagonista NMDA), pero únicamente tiene efectos paliativos de manera temporal.

Existen varias teorías que tratan de explicar la causa desencadenante de la enfermedad, pero todas ellas coinciden en que son dos las alteraciones principales: el depósito extracelular de péptido β -amiloide ($A\beta$) en forma de placas y la aparición de ovillos neurofibrilares intracelulares (NFT) formados por proteína Tau hiperfosforilada. Ambas son dianas terapéuticas sobre las que basar nuevos tratamientos. Otras dianas son la AChE, tanto en el sitio activo catalítico (CAS) como en el sitio activo periférico (PAS); la Butirilcolinesterasa (BuChE), la β -secretasa-1 (BACE-1), las monoamino oxidasa (MAO_A y MAO_B), el estrés oxidativo, manifestado por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), y los biometales endógenos (Fe, Cu, Zn).

La naturaleza multifactorial de la EA explica la necesidad de desarrollar compuestos multidiana capaces de interactuar con varios de estos factores de manera simultánea, lo que mejoraría la eficacia y seguridad del tratamiento. Estos fármacos se han sintetizado mediante la hibridación y combinación de restos activos, obteniendo diferentes series de compuestos, como los antioxidantes mitocondrotrópicos, los análogos de DNP y Tacrina y los derivados de propargilamina (como ASS234 y Ladostigil). Algunos de ellos arrojaron resultados satisfactorios y buenas perspectivas de futuro para el tratamiento de la EA.

PALABRAS CLAVE: fármacos multidiana, Enfermedad de Alzheimer, acetilcolina, péptido β -amiloide, Ladostigil, antioxidantes mitocondrotrópicos, ASS234.

Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative condition characterized by decreased function and death of neurons in the hippocampus and cortex, which results in memory loss and cognitive impairment. Patients with AD experience decreased cholinergic activity in the CNS. The current treatment is based on the combination of an acetylcholinesterase inhibitor (AChE), such as Donepezil (DNP), with Memantine (NMDA antagonist), but it only has temporary palliative effects.

There are several theories that try to explain the triggering cause of the disease, but all of them agree that there are two main alterations: the extracellular deposit of β -amyloid peptide ($A\beta$) in the form of plaques and the appearance of intracellular neurofibrillary tangles (NFT) formed by hyperphosphorylated Tau protein. Both are therapeutic targets to base new treatments on. Other targets are AChE, both at the catalytic active site (CAS) and at the peripheral active site (PAS), Butyrylcholinesterase (BuChE), β -secretase-1 (BACE-1), monoamine oxidase (MAO_A and MAO_B), oxidative stress, manifested by the production of reactive oxygen species (ROS) and endogenous biometals (Fe, Cu, Zn).

The multifactorial nature of AD explains the need to develop multi-target compounds capable of interacting with several of these factors simultaneously, which would improve the efficacy and safety of the treatment. These drugs have been synthesized by hybridization and combination of active residues, obtaining different series of compounds, such as the mitochondriotropic antioxidants, the analogues of DNP and Tacrine and the derivatives of propargylamine (such as ASS234 and Ladostigil). Some of them gave satisfactory results and good future prospects for the treatment of AD.

KEY WORDS: multi-target drugs, Alzheimer's Disease, acetylcholine, β -amyloid peptide, Ladostigil, mitochondriotropic antioxidants, ASS234

2. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las enfermedades neurodegenerativas más comunes que existen, y supone alrededor de un 80% del total de los casos de demencia en población anciana. Se estima que hay alrededor de 47 millones de personas en el mundo que la padecen actualmente, y se calcula que ese número crecerá hasta los 130 millones para el año 2050, debido, entre otras cosas, a la modificación de la pirámide de población derivada del aumento de la esperanza de vida.¹ Este aumento de mortalidad situaría a la EA como la segunda causa de morbilidad en los países desarrollados después del cáncer.² La EA prevalece característicamente en personas mayores de 65 años, pero cada vez hay mayor evidencia de su progresión en adultos jóvenes.³

Las enfermedades neurodegenerativas como la EA se han convertido en un problema de salud pública, especialmente en los países desarrollados (los costes derivados de la patología se estiman en alrededor de un billón de dólares al año). Sus manifestaciones y desarrollo afectan dramáticamente la calidad de vida de los enfermos y sus familias.^{3, 4}

Las alteraciones fisiológicas de esta demencia son, principalmente, la pérdida de función y gradual muerte de neuronas sinápticas en el hipocampo y la corteza tempo-parietal.¹ Esto hace que la EA sea considerada como un trastorno cerebral progresivo e irreversible, genéticamente complejo, caracterizado por una pérdida de memoria y un deterioro cognitivo general, en el que se manifiesta de manera acusada un descenso de la capacidad de comunicación mediante el lenguaje verbal, así como cambios en el comportamiento y la personalidad.^{3,5} Su etiología aún ni se conoce ni se comprende en su totalidad, pero la comunidad científica es bastante firme al describirla como una enfermedad multifactorial, siendo uno de los principales factores el descenso de la actividad colinérgica a nivel del sistema nervioso central.¹ La acetilcolina (ACh) es un neurotransmisor ampliamente distribuido en el SNC, particularmente implicado en los circuitos de la memoria y la recompensa.

Esta naturaleza multifactorial choca de lleno con la farmacología tradicional. Históricamente, se han diseñado fármacos análogos o similares estructuralmente a moléculas endógenas para actuar de manera selectiva en un único receptor del organismo. Es decir, siempre se han buscado compuestos con elevada selectividad, por dos razones principales: por un lado, lograr la máxima actividad fruto de la interacción con el receptor específico deseado, y, por el otro, reducir todo lo posible los efectos adversos derivados de interacciones con otras dianas endógenas. Esta corriente farmacológica denominada "one target-one drug" ha sido la dominante durante las últimas décadas, siendo la base del tratamiento de todo tipo de patologías. Sin embargo, en enfermedades como el Parkinson o el Alzheimer, donde coexisten multitud de factores patológicos, los fármacos que actúan sobre una sola diana no son suficientes para satisfacer el efecto terapéutico necesario.⁶

Hasta ahora, solo cinco medicamentos han sido aprobados por la FDA y la EMA para su uso en la EA (Figura 1). Todos ellos actúan para compensar el descenso de la actividad colinérgica en el SNC.⁷ El desarrollo de inhibidores selectivos y potentes de Acetilcolinesterasa (AChE) que puedan restaurar los niveles normales de ACh y mejorar las funciones cognitivas y de memoria sigue siendo un área activa en el descubrimiento de fármacos.⁸ Sin embargo, todos ellos tienen la limitación de únicamente disponer de efectos paliativos de la enfermedad con alivio sintomático temporal.⁷

- El primero en ser desarrollado fue la Tacrina (Fig. 1, Comp. 1), que fue aprobada para uso clínico por la FDA de los Estados Unidos en 1993. Se trata del inhibidor de AChE más potente y clínicamente efectivo comercializado, pero pronto exhibió hepatotoxicidad a través de la elevación

de los niveles séricos de alanina aminotransferasa, lo que resultó en una aplicación clínica limitada y, en consecuencia, se retiró del mercado poco después de su aprobación.⁹ Sin embargo, debido a su potencia y bajo peso molecular se ha utilizado ampliamente en el diseño y desarrollo de compuestos híbridos o fármacos multidiana.³

- Le siguieron otros como la Rivastigmina (Fig. 1, Comp. 3), que actúa como inhibidor de AChE y Butirilcolinesterasa (BuChE) pseudoreversible, pero con baja biodisponibilidad cerebral; y Galantamina (Fig. 1, Comp. 2), que posee un doble mecanismo de acción: por un lado es un inhibidor competitivo, reversible y selectivo de AChE y por otro estimula la acción intrínseca de la Ach sobre los receptores nicotínicos. Este doble mecanismo en pacientes con EA puede mejorar la cognición, la memoria y el aprendizaje, pero solo de manera temporal.^{1, 10}
- El Donepezilo (DNP) (Fig. 1, Comp. 4), que funciona como inhibidor no competitivo, reversible y selectivo de AChE, es actualmente el medicamento más recetado para el tratamiento de esta enfermedad, debido a su eficacia y seguridad para mejorar el deterioro cognitivo y funcional. Además, se han observado efectos beneficiosos a dosis bajas (5mg/día), lo cual es muy valioso para minimizar las reacciones adversas.¹ Sin embargo, los síntomas asociados a la EA mejoran únicamente de manera temporal. Este inconveniente, junto con sus efectos adversos (rabdomiólisis, síndrome neuroléptico maligno, etc.), plantean la necesidad de una alternativa terapéutica más fiable.¹¹
- La Memantina (Fig. 1, Comp. 5) es un agente glutamatérgico, aprobado en 2003, y que actúa como antagonista de receptores de NMDA. Ha demostrado beneficios en la cognición, la función y el estado global de los pacientes con EA, y parece ser bien tolerado y con buen perfil de seguridad. Además, también se ha informado que exhibe actividades neuroprotectoras contra la toxicidad de Aβ, la fosforilación de tau, neuroinflamación y el estrés oxidativo.¹

De manera paralela se utilizan otros medicamentos para aliviar los síntomas conductuales y psicológicos de la demencia: antipsicóticos, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), antidepresivos, inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO), agentes anti-insomnio, ansiolíticos y anticonvulsivos.¹²

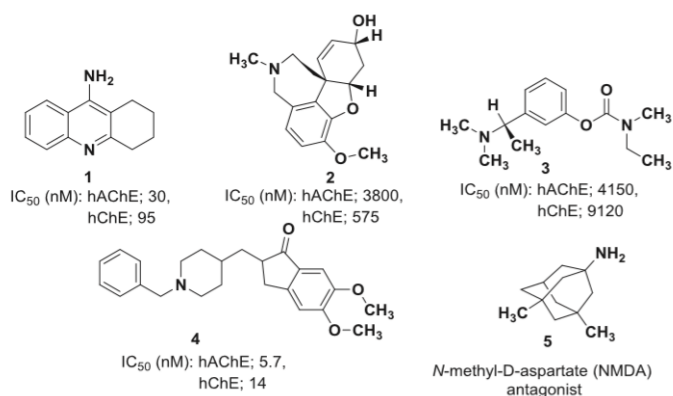


Figura 1: fármacos aprobados para el tratamiento de la EA.³

El tratamiento de elección actual de la EA es la combinación de un inhibidor de la AChE (DNP) con Memantina. Aunque es una combinación potente, muestra desventajas notables, como un aumento de la toxicidad de los medicamentos o el elevado coste del tratamiento.⁶ Además, ninguna de las terapias actuales ha demostrado ser efectiva para detener los efectos nocivos de la EA, sino que únicamente se ha conseguido paliar temporalmente la sintomatología.⁸ La ausencia de fármacos modificadores de la enfermedad, junto con el origen multifactorial reconocido de la EA, han estimulado un incremento de la investigación centrada en el desarrollo de fármacos o ligandos de múltiples objetivos, también llamados, fármacos multidiana, para abordar los múltiples factores involucrados en el inicio y/o progresión de esta enfermedad, mejorando así la eficacia terapéutica.⁷

3. OBJETIVOS

Los objetivos que se desean alcanzar en este trabajo son:

- Realizar una revisión bibliográfica de los fármacos multidiana que han sido estudiados o están actualmente en estudio para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer, y que presentan buenas perspectivas de futuro para combatir esta patología.
- Describir y detallar los múltiples factores que desencadenan la enfermedad y participan en su desarrollo
- Identificar dianas farmacológicas que permitan abordar mejor el tratamiento terapéutico.

4. METODOLOGÍA

Para cumplir con los objetivos mencionados, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica y estudio sobre fármacos multidiana y Enfermedad de Alzheimer, utilizando las siguientes bases de datos científicas: Pubmed, Science Direct, Google, AEMPS (Agencia Española del medicamento y Productos Sanitarios) y CIMA (Centro de Información de Medicamentos). Las palabras clave utilizadas fueron: "Enfermedad de Alzheimer" (empleando las comillas para realizar una búsqueda de nombre completo), "Alzheimer's Disease", "fármacos multidiana", "multi-target drugs", estrés oxidativo, oxidative stress , MTDL, Tau, acetilcolina, acetylcholine.

La búsqueda se realizó con 2 criterios de inclusión:

- Actualidad: solo artículos con fecha de publicación posterior al año 2010.
- Inclusión en el apartado "título" de los términos de búsqueda introducidos: criterio utilizado solamente para agilizar la búsqueda.

A los resultados obtenidos se les aplicaron 3 criterios de exclusión, que fueron:

- Idioma: se descartaron artículos que no estuvieran en castellano o en inglés.
- Irrelevancia: se descartaron artículos con información no relacionada con el tema del trabajo.
- Disponibilidad: se descartaron artículos con acceso exclusivo a usuarios de pago.

5. RESULTADOS

5.1 Factores de desarrollo y dianas terapéuticas en la Enfermedad de Alzheimer

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 4 artículos científicos referentes a los factores de desarrollo y dianas terapéuticas en la EA.

La EA es una enfermedad neurodegenerativa, progresiva, y multifactorial, en la que se produce una irreversible pérdida de función y muerte de neuronas sinápticas en el hipocampo y la corteza temporo-parietal, y que se traduce en pérdida de memoria y descenso de la capacidad de comunicación mediante el lenguaje verbal.^{1,3} En función de la edad de inicio de afectación del paciente existen dos subtipos de enfermedad: la que se manifiesta entre los 30 y 60/65 años (EA con inicio temprano), y la que se manifiesta en personas de más de 60/65 años (EA con inicio tardío). Aproximadamente en el 60% de los casos de EA de inicio temprano que se diagnostican se encontró un vínculo hereditario o historia familiar que afecta a al menos 3 generaciones futuras.¹³

Su etiología aún ni se conoce ni se comprende en su totalidad, pero la comunidad científica es bastante firme al describirla como una enfermedad multifactorial causada por varios elementos, siendo uno de los principales factores el descenso de la actividad colinérgica a nivel del sistema nervioso central.^{1,3} Existen varias teorías que tratan de explicar la causa desencadenante de la EA:

- Teoría química: postula que la causalidad de la EA tiene un origen químico, en el que intervienen varios factores:
 - Defectos en la función mitocondrial que pueden causar ADNmt mutante en el hipocampo, responsable de disminuir el nivel de varios neurotransmisores.
 - Exceso de productos químicos tóxicos: pesticidas (DDT y DDE), iones metálicos (aluminio, plomo) y aditivos alimentarios (generan nitrosaminas). Todos ellos aumentan el desarrollo de proteínas amiloides responsables de enfermedades neurológicas.
 - Contaminación del aire: existen indicios de desarrollo de placas A β en el cerebro de los ratones cuando se exponen a nanopartículas de níquel en aerosol. Además se ha asociado la demencia severa a altos niveles de humo en fumadores pasivos.
- Teoría genética: existe una mutación de los cromosomas 1, 14 y 21 en los pacientes enfermos de EA. Concretamente, la mutación del cromosoma 14 se asocia a EA de inicio temprano, mientras que cuando la alteración se encuentra en el cromosoma 12 se vincula a la patología de inicio tardío. Diversos genes, como la proteína precursora amiloide (APP), PS1, PS2 y APOE se han identificado como genes mutantes en esta enfermedad.
- Teoría autoinmune: defiende que la EA está causada por una sobreexpresión de anticuerpos que atacan a células propias, lo que puede provocar un aumento en la producción de A β en el cerebro.
- Teoría del virus lento: el virus del herpes es el agente causal de la EA debido a que produce placas A β y proteínas Tau mal plegadas en el cerebro, lo que bloquea la comunicación entre neuronas. Este virus también daña el sistema límbico debido a la mutación de APOE-e4.¹²

Independientemente de la teoría, se sabe que la patología de la EA se caracteriza principalmente por dos alteraciones neuropatológicas distintivas: el depósito extracelular de péptido β -amiloide (A β) en forma de placas, y la aparición de NFT, compuestos principalmente por la proteína Tau hiperfosforilada.¹² Estos dos factores dan lugar a arteriosclerosis en las células nerviosas responsables de la pérdida de memoria.¹³ El cerebro de los pacientes con EA experimenta una pérdida dramática de neuronas y sinapsis en muchas áreas del sistema nervioso central (SNC), particularmente en el cerebro anterior basal y el hipocampo. Las neuronas se destruyen y el deterioro progresa hacia la corteza temporal y otras áreas cerebrales asociadas. La inflamación y el estrés oxidativo son factores aceleradores que aumentan la degeneración de las NFT.¹² En la etapa progresiva de la enfermedad, las fibras amiloides se agrupan alrededor de los vasos sanguíneos. Como resultado, el suero sanguíneo se escapa al espacio cerebral causando hemorragias, accidente cerebrovascular y muerte.¹³

Aunque la etiología de la EA no se conoce con exactitud, existen diferentes hipótesis que explican el desarrollo:

5.1.1 Hipótesis colinérgica

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 6 artículos científicos referentes a la hipótesis colinérgica en la Enfermedad de Alzheimer.

Las primeras evidencias fisiológicas de la participación del sistema colinérgico en la patología de la EA fueron la reducción de la Ach a nivel presináptico y la expresión reducida de la colina acetiltransferasa (ChAT), la enzima responsable de la síntesis de Ach. Si tenemos en cuenta que el sistema colinérgico es el responsable del almacenamiento y la recuperación de elementos en la memoria (afectada en la patología de la EA) y que además se reducen los receptores muscarínicos y nicotínicos de Ach, encontramos una conexión directa que sienta las bases de la Hipótesis Colinérgica.¹ De hecho, hoy en día la terapia de la EA se basa principalmente en inhibidores de AChE, capaces de aumentar los niveles de Ach en las sinapsis colinérgicas. Desafortunadamente, en lugar de curar o prevenir la neurodegeneración, los inhibidores de AChE solo permiten un tratamiento paliativo, y su efectividad clínica aún está en debate.⁹

Las colinesterasas (ChEs) son las enzimas que catalizan la reacción de hidrólisis de Ach en Colina y ácido acético. Este proceso es esencial en la neurotransmisión. Existen dos enzimas diferentes: AChE y BuChE. Ambas son hidrolasas en forma de dímeros α/β que contienen un dominio catalítico.¹

- La AChE se expresa en neuronas colinérgicas y neuromusculares. Su sitio activo se localiza al fondo de una larga cavidad, y posee una triada catalítica o sitio activo catalítico (CAS) compuesta por los residuos aminoácidos Ser200, His440 y Glu327. Esta triada cataliza la hidrólisis del enlace éster de la Ach. Se ha descrito por otro lado un sitio activo periférico (PAS), ubicado en la entrada de la cavidad, que juega un papel importante en la EA, ya que la interacción del péptido A β con el PAS contribuye a la formación de placas amiloides al acelerar el proceso de agregación.^{1,14} Varios estudios sugieren que el PAS de la AChE puede ser una diana terapéutica prometedora en la EA, ya que se ha encontrado un posible efecto modificador de la enfermedad, aliviándose así el déficit cognitivo.³
- La BuChE se expresa (a niveles bajos) en el hipocampo y la corteza temporal, y se asocia con células de la glía, lo que sugiere que estas enzimas pueden tener funciones complementarias. Aunque tiene el mismo mecanismo de acción, presenta un comportamiento cinético diferente, ya que tiene menor afinidad por su ligando (valor de K_M alto). Además de su función en la hidrólisis de la Ach, también se han atribuido funciones no enzimáticas a BuChE: mientras que la AChE puede acelerar la agregación amiloide en el cerebro, la BuChE puede asociarse con la proteína A β , posiblemente retrasando el inicio y la tasa de formación de fibras neurotóxicas. Dado que la BuChE se encuentra en las células gliales, que son reclutadas y activadas alrededor de las placas de péptido β -amiloide, la inhibición de esta enzima podría proporcionar beneficios adicionales para reducir la neuroinflamación, constituyendo una importante diana terapéutica.¹

Los cambios en la expresión de estas dos enzimas ocurren de manera gradual a lo largo de la evolución de la EA.¹ En el cerebro sano, la AChE es más específica para la hidrólisis de la Ach. Sin embargo, su actividad disminuye progresivamente, mientras que la de la BuChE no cambia o incluso aumenta. Por ello, la BuChE desempeña un papel clave en el mantenimiento de la regulación de la neurotransmisión colinérgica en la EA, compensando el déficit de AChE y, por lo tanto, influyendo en la modulación del control motor, la cognición y el comportamiento. Es por ello por lo que esta enzima se considera un objetivo prometedor para el tratamiento del deterioro cognitivo en la EA de fase avanzada.⁸

De manera paralela al descenso de los niveles de Ach se produce un aumento de la actividad glutamatérgica a nivel del SNC. El glutamato (glu) es un aminoácido abundante en el sistema nervioso y actúa como neurotransmisor en más del 90% de la transmisión sináptica en el cerebro humano. Actúa a través de receptores AMPA (implicados en la excitación rápida en sinapsis) y NMDA (participan en la activación de Ca^{2+} y ayudan en el proceso de aprendizaje y la memoria).¹³ La concentración extracelular excesiva de glu conlleva la despolarización continua e incontrolada de las neuronas y desencadena el proceso de excitotoxicidad.⁸ Además, el glu puede inducir la acumulación intracelular de ROS a través del bloqueo del antiportador de cistina/glutamato, lo que conduce al agotamiento del glutatión, desencadenando daño y muerte neuronal.¹³

En la EA se produce una acumulación de glu, alcanzando concentraciones más altas en la sangre que en el cerebro. Como resultado, se produce un bombeo del NT desde el torrente sanguíneo hacia las neuronas, aumentando la activación de los receptores NMDA y acumulándose Ca^{2+} . El calcio aumenta directamente el estrés en las mitocondrias, desencadenando una excesiva fosforilación oxidativa y produciendo ROS en gran medida, lo que conducirá a la muerte celular.¹³ Por lo tanto, inhibir la excitotoxicidad inducida por glu es un enfoque válido en la estrategia de los fármacos multidiana en la EA.³

5.1.2 Hipótesis amiloide

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 4 artículos científicos referentes a la hipótesis amiloide en la Enfermedad de Alzheimer.

La hipótesis de la cascada amiloide postula que la acumulación anormal de placas de péptido β -amiloide ($A\beta$) en varias áreas del cerebro es el mecanismo responsable de la disfunción neuronal y muerte celular que se producen en la EA. Estas placas seniles están compuestas por residuos de entre 39 y 43 aminoácidos, formados por la acción enzimática secuencial de las β y γ -secretasas sobre la APP.¹ En condiciones normales, el gen de la APP, presente en el cromosoma 21, se escinde mediante las secretasas α y γ para producir dos péptidos solubles: P3 y la proteína precursora amiloide secretada- α (sAPP α), que protege las neuronas contra la excitotoxicidad. Sin embargo, en condiciones patológicas, la APP será escindida secuencialmente por las secretasas β y γ , generando sAPP β y $A\beta$ insoluble, que afectará el parénquima cerebral causando demencia. Existen dos formas principales de $A\beta$ en el cerebro enfermo: $A\beta_{1-40}$ (minoritaria) y $A\beta_{1-42}$ (mayoritaria), y tienen mecanismos de daño diferentes: mientras que $A\beta_{1-42}$ exhibe una neurotoxicidad más alta y es capaz de formar hexámeros, heptámeros u octámeros, $A\beta_{1-40}$ alcanza el equilibrio en agregados más pequeños (de monómeros a tetrameros).^{1,13} Debido a que es de naturaleza hidrofóbica, $A\beta_{1-42}$ se pliega y agrega de manera errónea para formar una estructura en forma de láminas β . Se produce una sobreproducción de estos péptidos mal plegados y formación de NFT, y son tóxicos para las células nerviosas.¹³

Hasta hace poco, se suponía que los depósitos fibrosos de $A\beta$ eran directamente responsables de las lesiones neuronales y el consecuente proceso neurodegenerativo de la EA.¹ Sin embargo, el calcio, que es un segundo mensajero con mayor concentración extracelular que intracelular, es el que explica la toxicidad del $A\beta$. La generación de placas en el cerebro produce la interrupción o desequilibrio de los canales de Ca^{2+} en la membrana celular, y como resultado, habrá un aumento en el flujo de este ion, que conduce a la toxicidad del péptido $A\beta$ en la EA. Además, se produce un círculo vicioso, ya que un aumento de la $[Ca^{2+}]$ intracelular paralizará la capacidad de las mitocondrias para reciclar el Ca^{2+} , lo que resulta en aún mayor toxicidad y muerte celular, mediante peroxidación lipídica y generación de radicales libres, ya que se generarán placas neurotóxicas seniles.¹³ Otras vías por las cuales el péptido $A\beta$ produce daño celular son la producción de ROS, alteración de vías de señalización, e interacción con biometales por quelación: los metales bivalentes endógenos como Cu^{2+} y Zn^{2+} promueven la agregación del péptido $A\beta$ y el estrés oxidativo al inducir la producción excesiva de ROS.^{1,3,14}

Sobre la base de esta hipótesis, la búsqueda actual de nuevos agentes terapéuticos destinados a atacar diferentes sitios de $A\beta$, mediante la reducción de su producción, facilitando su eliminación o evitando la agregación, supone una estrategia de enorme interés en el tratamiento de la EA.¹³

5.1.3 Estrés oxidativo

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 4 artículos científicos referentes a la asociación entre estrés oxidativo y Enfermedad de Alzheimer.

Múltiples mecanismos de daño coexisten en la patología de la EA, y se afectan entre sí a diversos niveles. En este sentido, el estrés oxidativo, que es secundario a otras anomalías fisiopatológicas, parece ser central, tanto en el inicio como en la progresión de la patogénesis de la EA.¹ El estrés oxidativo es una condición en la que se forman especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) sin que el organismo pueda eliminarlas de ninguna manera, y ha sido ampliamente vinculado a enfermedades neurodegenerativas como la EA.^{3,13}

En el cerebro de pacientes enfermos se han detectado niveles aumentados de daño oxidativo a las biomoléculas endógenas.¹ Entre los daños más comunes se encuentran la lipoperoxidación y la oxidación de proteínas y bases nitrogenadas, siendo la 8-oxo-2'-desoxiguanosina y la 8-hidroxiguanosina los principales marcadores de daño oxidativo en el ADN y el ARN, respectivamente.¹⁵ Por otro lado, se descubrió que los niveles de diversas enzimas antioxidantes, como los complejos enzimáticos citocromo oxidasa, piruvato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa, estaban disminuidos como resultado del daño oxidativo, en regiones cerebrales específicas de la EA.¹ Además, se sabe que el cerebro es particularmente vulnerable al daño por estrés oxidativo, debido a su alto consumo de oxígeno, a los elevados niveles de ácidos grasos poliinsaturados (presentes, entre otros lugares, en la vaina de mielina de las neuronas), a los niveles bajos de antioxidantes y a la presencia de una concentración relativamente alta de iones metálicos de transición (Fe, Al y Hg, inducidos por la presencia de A β). Es importante destacar que todos estos indicadores son observables con antelación a la aparición de las placas amiloides y de los efectos cognitivos de la EA, permitiendo así un diagnóstico temprano de la enfermedad.¹⁵

A nivel mitocondrial se produce un círculo vicioso de retroalimentación positiva. Las anomalías en las enzimas mitocondriales, causadas por alteraciones oxidativas, dan como resultado una capacidad metabólica deteriorada, lo que evita la transferencia efectiva de electrones a lo largo de la cadena respiratoria durante la fosforilación oxidativa, generando ROS excesivos como consecuencia. Éstos se acumulan gradualmente en la célula, iniciándose inevitablemente un estado estacionario compensatorio. Este estado hiperdefensivo, destinado a prolongar la vida celular, aumenta la vulnerabilidad a otros factores de daño como las placas A β . Así, el estrés oxidativo desempeña un papel directo en la promoción de la inflamación aguda y la apoptosis neuronal. La presencia de marcadores de oxidación en las primeras etapas de la EA indica que el estrés oxidativo precede a la aparición de otras características distintivas. Por ello, se sabe que este mecanismo inicia, al menos, tres mecanismos fisiopatológicos: la agregación A β , la hiperfosforilación de la proteína Tau y la formación de NFT.¹

Aunque el estrés oxidativo es un proceso celular generalizado que actualmente carece de un objetivo de tratamiento específico, como un receptor o una vía metabólica principal, se ha demostrado que fármacos con mecanismo antioxidante reducen el estrés oxidativo en la patogénesis de la EA. Esto ha motivado la teoría de que el estrés oxidativo pueda considerarse como una diana terapéutica potencial prometedora para el tratamiento de la neurodegeneración asociada a la enfermedad.^{1,3}

5.1.4 Hiperfosforilación de la proteína Tau

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 5 artículos científicos referentes a la asociación entre la hiperfosforilación de la proteína Tau y el desarrollo de la EA.

Tau es una proteína asociada a microtúbulos codificada por el gen MAPT (proteína asociada a los microtúbulos Tau) del cromosoma 17, y desempeña un papel crucial en la regulación de la polimerización, la estabilidad y el ensamblaje de los microtúbulos axonales.^{5,13} Tau se expresa principalmente en las neuronas y está presente en gran medida en los axones que controlan el desarrollo neuronal y promueven el transporte vesicular y axonal.¹² En el cerebro humano, existen seis isoformas de Tau propensas a la fosforilación. Este proceso se produce de forma natural a medida que el individuo envejece, debido a la activación de enzimas fosfatasa.¹³ Los cambios patológicos en la proteína se producen de diversas formas, incluido el plegamiento incorrecto, localización errónea y la hiperfosforilación. La presencia de Tau hiperfosforilada se muestra como una característica patológica de la EA, ya que provoca la aparición de NFT y placas seniles que resultan en el desarrollo de la enfermedad.^{5,13}

Los NFT son inclusiones intraneuronales compuestos de filamentos helicoidales rectos y pareados. La investigación demuestra una correlación entre la gravedad de la demencia y el grado de deposición de NFT en los pacientes con EA. La mayoría de las NFT encontradas en cerebros de pacientes con esta enfermedad son formas aberrantes hiperfosforiladas de Tau.⁵ Los NFT y las neuritas distróficas, las lesiones citopatológicas clave de neuronas en la EA, contienen filamentos anormales de proteínas Tau hiperfosforiladas. Numerosos estudios sugieren que la proteína tau es un mediador de la degeneración neuronal, cuya expresión es inducida por concentraciones suprafisiológicas de fibras A β .¹⁶

Existen dos enzimas que regulan los mecanismos de fosforilación y desfosforilación de la proteína Tau en el cerebro. Son la glucógeno sintasa quinasa-3 β (GSK3 β) y la proteína fosfatasa 2A (PP2A), y contribuyen al 70% de la actividad fosfatasa de Tau. Por ello, podrían desempeñar papeles considerables en el mecanismo patológico. Investigaciones recientes han demostrado que la inhibición de GSK3 β o la activación de PP2A atenúan la hiperfosforilación de Tau, consiguiendo mejorar el deterioro cognitivo.⁵

La fosforilación y agregación de Tau también puede ser inducida por metales de transición como el cobre. Se demostró que ciertos fragmentos en el dominio de unión a microtúbulos de la proteína Tau se agregan en presencia de Cu *in vitro*. De esta forma, la unión del Cu a la Tau induce la producción de ROS como el peróxido de hidrógeno dentro de la neurona. El Zn también puede estar involucrado en la patología Tau, induciendo tanto su agregación como su fibrilación, ya que está aumentado en neuronas que contienen NFT. El Zn modula la hiperfosforilación de Tau al afectar las actividades de enzimas que actúan en cascadas fosforilativas como GSK3 β , proteína quinasa B, ERK1 y ERK2. El hierro en forma de catión Fe³⁺ se une a la proteína Tau, induciendo su agregación y provocando su hiperfosforilación, que puede revertirse reduciendo de Fe³⁺ a Fe²⁺ o mediante el uso de quelantes de hierro. En el cerebro de pacientes con EA, los NFT se unen al Fe³⁺, generando ROS dentro de las neuronas.¹

La patología de Tau es tan importante como la del A β . Por lo tanto, es esencial considerarlo como otro candidato potencial para intervenciones farmacéuticas para la EA, donde se debe realizar más investigación patológica.⁵

5.1.5 β -secretasa 1 (BACE-1)

Al aplicar la metodología se obtuvieron 3 artículos sobre el papel de la β -secretasa 1 en la EA.

La β -secretasa 1 (BACE-1) es la enzima que escinde la APP generando sAPP β y A β insoluble, que afectará el parénquima cerebral causando demencia.^{1,13} Es una proteasa transmembrana de la familia de la pepsina que fue descubierta en 1999. Se expresa ampliamente en el cerebro, particularmente en neuronas, oligodendrocitos y astrocitos. A nivel subcelular, se localiza en la membrana plasmática y se detectó en neuritas distróficas que rodean las placas de A β . La BACE-1 es homóloga con otra proteasa unida a la membrana de la familia de las pepsinas, BACE-2. Ambas se expresan en los mismos tipos de células en el cerebro, solo que BACE-2 es mucho menos abundante. Sin embargo, se cree que BACE-2 es más activa en los tejidos periféricos, con funciones importantes en los melanocitos y las células β -pancreáticas. Se encontró una alta actividad enzimática de BACE-1 en cerebros de pacientes con EA.¹⁷

A pesar de que existen grandes evidencias de la participación de BACE-1 en la fisiopatología de la EA, todos los ensayos clínicos realizados con inhibidores de BACE-1 han sido descartados en la fase 3, debido a que mostraron deterioro cognitivo o fueron rechazados debido a razones de seguridad. Para optimizar los ensayos clínicos de inhibidores de BACE1 de próxima generación, es esencial comprender todos los factores biológicos y farmacológicos que podrían explicar las altas tasas de deserción de los ensayos anteriores. Para este propósito, se deben considerar 2 puntos:

- La selectividad por BACE-1/BACE-2 mediante ajuste de dosis, así como la relación beneficio/riesgo de la utilización de estos compuestos: los compuestos actuales probados en la clínica tenían cantidades variables de selectividad para BACE-1, pero todos inhibieron la actividad de BACE-2, provocando un bloqueo del procesamiento de otros sustratos, que se traduce en un impacto negativo potencial, cambiando la relación beneficio/riesgo.
- El momento de la intervención con los inhibidores de BACE-1 en el transcurso de la EA: la evidencia sólida indica que la acumulación cerebral de A β es una de las primeras alteraciones mecanicistas de toda la dinámica fisiopatológica de la EA, por lo que estos fármacos deberían ser empleados en estados iniciales de la enfermedad.¹⁷

5.1.6 Monoamino oxidasa (MAO)

Al aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 3 artículos sobre las MAO en la EA.

Las enzimas MAO son flavoproteínas presentes en la membrana mitocondrial de las neuronas. Las dos isoenzimas existentes en humanos se pueden diferenciar por sus especificidades de sustrato e inhibidor: MAO_A metaboliza principalmente adrenalina, NA y 5-HT, mientras que MAO_B muestra una mayor afinidad por las aminas no hidroxiladas, como bencilamina y β -feniletilamina.¹² En la EA, los niveles de Dopamina (DA), NA y 5-HT disminuyen en la corteza y el hipocampo, produciendo algunos síntomas de comportamiento distintivos que incluyen trastorno depresivo, psicosis o deterioro de la memoria.¹ Las enzimas MAO juegan un papel importante en la cognición, asociada anatómicamente con las áreas del cerebro que regulan la memoria y el aprendizaje. Por lo tanto, su disfunción contribuye a la aparición de síntomas y patología característicos de EA. Tanto MAO_A como MAO_B inducen estrés oxidativo a través de la producción de H₂O₂, y participan en la neurodegeneración a través de la neuroinflamación, el desencadenamiento de la apoptosis y la falla del aclaramiento de proteínas agregadas. La MAO aumentó la expresión de las secretasas β y γ , mejorando así la generación de A β a partir de la APP. También se asoció con la formación de NFT.¹² Recientemente, se ha prestado cada vez más atención al potencial terapéutico de los inhibidores de MAO (IMAO) para el tratamiento de la EA, y se ha determinado que la doble inhibición de MAO_A y MAO_B podría ser de valor terapéutico para prevenir los procesos neurodegenerativos subyacentes a la EA.⁶

La enzima MAO_A, además de estar involucrada en el mecanismo apoptótico mitocondrial, también juegan un papel importante en los trastornos neuropsiquiátricos y de comportamiento. La depresión puede promover el deterioro cognitivo y puede ser un factor de riesgo potencial para la EA de inicio tardío. Por ello, los inhibidores reversibles de MAO_A (IMAO_A) han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la depresión y los trastornos cognitivos asociados a EA.^{1,12}

5.1.7 Pérdida de la homeostasis de los biometales endógenos

Al aplicar la metodología se obtuvo 1 artículo sobre la pérdida de homeostasis de biometales.

Los metales juegan papeles importantes en el cuerpo humano, manteniendo la estructura celular y regulando la expresión génica, la neurotransmisión y la respuesta antioxidante. Sin embargo, la acumulación excesiva de metales en el sistema nervioso puede ser tóxica, induciendo estrés oxidativo, alterando la función mitocondrial y perjudicando la actividad de numerosas enzimas, llegando a provocar lesiones permanentes. Los metales de transición (como el Fe o el Zn) son esenciales para la síntesis de gran cantidad de enzimas, transporte de oxígeno y reacciones redox. Sin embargo, por su capacidad para someterse a reacciones redox, también son potencialmente peligrosos para su poder catalítico en la generación de ROS. Se sabe que seis biometales (Fe, Cu, Zn, Mn, Mg y Ca) se depositan en los cerebros de pacientes con EA, como resultado de la mayor expresión de APP, la agregación de placas A β y la hiperfosforilación de Tau.¹²

5.1.8 Otros factores importantes en la EA

Al aplicar la metodología se obtuvieron 2 artículos sobre otros factores de desarrollo de la EA.

En los últimos años se han estudiado otras posibles dianas terapéuticas como los receptores cannabinoides CB1 o los receptores dopaminérgicos:

- El sistema endocannabinoide está afectado en pacientes enfermos de Alzheimer: se han descrito alteraciones en la expresión y funcionalidad del receptor CB1, que varían a lo largo de la progresión de la EA. En las primeras etapas de la enfermedad, se produce un aumento en la actividad y expresión de CB1, tal vez como una respuesta neuroprotectora, mientras que, en la etapa tardía la expresión de CB1 se ve disminuida en numerosas regiones del cerebro, incluido el hipocampo. El sistema endocannabinoide es, por lo tanto, un objetivo atractivo en la EA, particularmente en las primeras etapas.²
- Los pacientes con EA exhiben una expresión reducida de los receptores de DA, en diferentes regiones del cerebro. El papel del sistema dopaminérgico en la EA fue confirmado por estudios que muestran que L-DOPA, selegilina y el agonista D₂ Rotigotina tienen efectos beneficiosos sobre las funciones cognitivas. La acumulación de A β parece estar relacionada con la disfunción dopaminérgica, contribuyendo a los déficits extrapiramidales de DA y al rápido deterioro cognitivo en pacientes con EA.¹²

5.2 Fármacos multidiana en la Enfermedad de Alzheimer y sus perspectivas de futuro

La necesidad de desarrollar fármacos multidiana radica en que, en muchas ocasiones, los agentes terapéuticos dirigidos a un único objetivo muestran eficacia reducida en patologías multifactoriales como la EA, que involucra múltiples trastornos genéticos y/o ambientales. Los fármacos multidiana se refieren a compuestos que modulan la actividad de 2 o más objetivos (dianas o receptores) de manera simultánea y a concentraciones clínicamente relevantes. Suelen ser farmacológicamente complejos y se caracterizan por una mayor eficacia y seguridad, y por ello han atraído la atención de la comunidad científica en las últimas décadas como una estrategia terapéutica potencial para enfermedades con etiología compleja como la EA.⁶

La naturaleza multifactorial de la EA implica que existen múltiples objetivos terapéuticos potenciales. El primer desafío para descubrir fármacos multidiana para el tratamiento de esta enfermedad es identificar la mejor combinación de objetivos biológicos que aseguren el éxito terapéutico. Una vez seleccionados, el siguiente paso se centra en descubrir los grupos farmacóforos correspondientes capaces de modular los objetivos seleccionados y lograr unirlos en una sola molécula química.⁶ Estos grupos farmacóforos, unidos entre sí mediante técnicas de hibridación molecular, están concebidos para interactuar débilmente con su diana terapéutica.^{1,6} Esto podría suponer un problema, pero no lo es, ya que una de las ventajas de los fármacos multidiana es que, aunque las interacciones de sus restos con los receptores o dianas endógenas sean débiles, el hecho de poseer varios mecanismos de acción compensa esta pérdida de actividad y supone un aumento de la eficacia terapéutica.⁶

Otras de las principales ventajas de los fármacos multidiana radican en el hecho de poseer una farmacocinética más predictiva (debido a que se evita el desafío de administrar de manera simultánea varios fármacos con diferente biodisponibilidad, farmacocinética y metabolismo), con lo que disminuyen las interacciones y efectos adversos y se mejoran tanto la eficacia del tratamiento como el cumplimiento del paciente, al reducir y simplificar la posología.^{1,6}

Para que un fármaco multidiana sea considerado como prometedor, se deben satisfacer dos premisas: además de demostrar que el cabeza de serie identificado tiene la actividad biológica deseada contra los objetivos marcados, es necesario un perfil farmacéutico racional. El compuesto cabeza de serie

debe optimizarse aún más hasta llegar a un candidato clínico que asegure seguridad y eficacia a dosis terapéuticas.⁶

Desde 2005, se han conseguido resultados prometedores al aplicar este enfoque innovador al diseño de medicamentos. Varios fármacos aprobados como inhibidores de acetilcolinesterasa, como DNP o Tacrina, así como productos naturales bioactivos como la curcumina, berberina, o la 8-hidroxiquinolina, se han utilizado como bases estructurales para el desarrollo y la búsqueda de nuevas entidades químicas para el tratamiento de la EA.^{1,14} En este trabajo se ha realizado una revisión del panorama actual de los fármacos multidiana que se han estudiado y que posean buenas perspectivas de futuro para el tratamiento de la EA.

5.2.1 Antioxidantes mitocondrotrópicos

Al aplicar la metodología se obtuvieron 2 artículos sobre los antioxidantes mitocondrotrópicos.

Los antioxidantes mitocondrotrópicos (Figura 2) son fármacos multidiana sintetizados a partir del ácido hidroxicinámico con doble mecanismo de acción, tanto neuroprotector contra el daño inducido por el estrés oxidativo, como inhibidor de ChEs a nivel cerebral. Dicha capacidad inhibitoria fue testada para las enzimas eeAChE (obtenida por electroforesis) y eqBuChE (obtenida mediante suero equino). En general, los compuestos en estudio mostraron mayor afinidad para la inhibición de eqBuChE que el fármaco cabeza de serie de este grupo, el DNP, aunque que la potencia de inhibición es menor para la eeAChE.⁸ Esto no debería suponer un problema, puesto que una de las ventajas de los fármacos multidiana es que compensan una menor potencia de interacción con un receptor con el hecho de poseer varios mecanismos de acción simultáneamente.⁶ Además, las simulaciones de acoplamiento molecular hacia la BuChE mostraron que llevan a cabo una inhibición de tipo mixto: el catión trifenilfosfonio ocupa el CAS, mientras el anillo catecol/pirogalol hace lo propio en el PAS de la enzima.⁸

Los antioxidantes mitocondrotrópicos también poseen capacidad neuroprotectora frente al daño neuronal producido el estrés oxidativo, provocado principalmente por la acumulación de glutamato, Fe³⁺ y péptido Aβ en las neuronas, todos ellos relacionados con el desarrollo y progresión de la patología de la EA. El glutamato induce la acumulación celular de ROS. El anillo catecol/pirogalol presente en las estructuras de los antioxidantes mitocondrotrópicos es clave para captar dichas especies, ya que los grupos hidroxilo son capaces de estabilizar el radical.

Debido a que poseen diversos y prometedores mecanismos de acción, los antioxidantes mitocondrotrópicos, en especial los compuestos 7 y 11 de la serie (por su mayor potencia inhibitoria de ChEs y capacidad antioxidante), pueden ser considerados como posibles cabezas de serie que, después de un proceso de optimización, permitan encontrar nuevos candidatos a fármacos multidiana que sean capaces de modificar la enfermedad.⁸

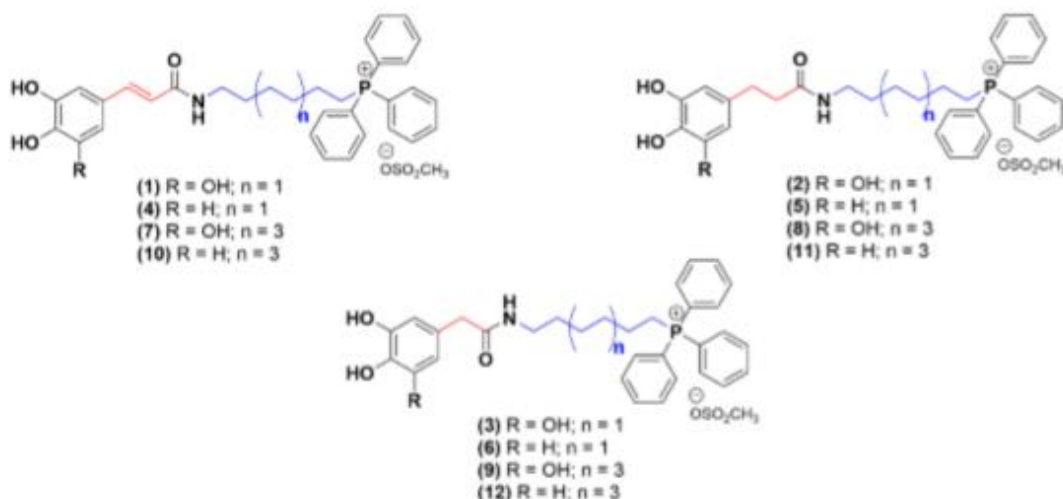


Figura 2: antioxidantes mitocondrotrópicos.⁸

5.2.2 Análogos Donepezilo-Benzimidazol

Al aplicar la metodología se obtuvieron 2 artículos sobre los análogos DNP-BIM.

Varios medicamentos actualmente empleados para el tratamiento de la EA, como el DNP, se han investigado para comprobar la posibilidad de añadir nuevos mecanismos de acción a la molécula mediante la incorporación en su estructura de restos capaces de interactuar con otros objetivos terapéuticos de la enfermedad. De esta forma es posible obtener nuevos fármacos multidiana que sean capaces de mejorar la patología de la EA. Los restos funcionales más utilizados fueron aquellos con capacidad quelante de metales. La adición de grupos cisteína, hidroxibenzofurano e hidroxifenilbencimidazol (BIM) a la molécula de DNP arrojó buenos datos de inhibición de la agregación del péptido Aβ. Concretamente, es el resto BIM el que posee los resultados más satisfactorios en este sentido. Las interesantes propiedades reveladas por los nuevos híbridos DNP-BIM llevaron al desarrollo de fármacos multidiana análogos, mediante la unión de un grupo BIM a

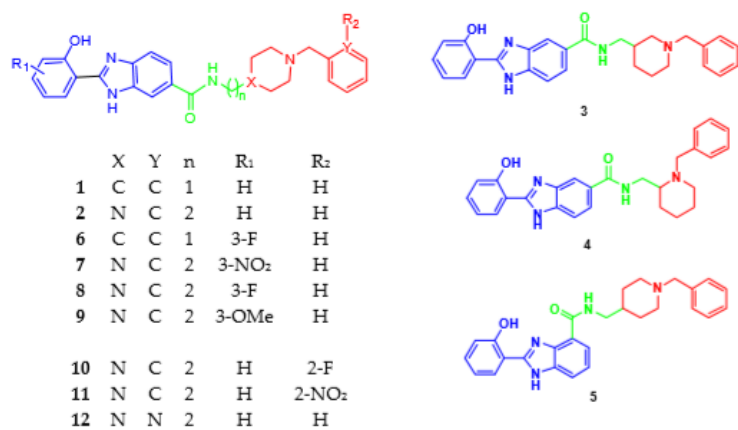


Figura 3: Análogos DNP-BIM.¹⁴

ligandos miméticos activos de DNP, como bencil-piperidina o bencil-piperazina.

Estos compuestos (Figura 3) presentaron buena capacidad inhibitoria de AChE, inhibición de la agregación del péptido Aβ y modulación de la dishomeostasis metálica que genera estrés oxidativo.^{7,14}

Los compuestos sintetizados son buenos inhibidores del CAS de la AChE, aunque más débiles que el DNP, pero esto no debilita el diseño del fármaco propuesto,

ya que las ventajas de usar un fármaco multidiana en enfermedades multifactoriales pueden superar el inconveniente de perder potencia inhibitoria en alguna propiedad específica.^{7,14} Algunas sustituciones como la introducción de un átomo de flúor o un grupo metoxi en el anillo de bencilo, evidenciaron una mayor actividad anticolinérgica.¹⁴ Las simulaciones de acoplamiento muestran que los grupos bencilpiperidina y bencilpiperazina podrían tener una acomodación similar a la del DNP en

el CAS de la AChE, mientras que los restos de benzimidazol (BIM) o benzofurano participan en las interacciones con PAS, aunque de forma más leve que el DNP.⁷ Además, estos compuestos fluorados también poseen una capacidad moderada de inhibición de la agregación A β , tanto en presencia de Cu (inductor de inhibición) como en ausencia de éste.^{7,14} En este sentido, los híbridos con el resto BIM poseen mayor actividad que los que presentan benzofurano en su estructura. Algunos compuestos de la serie fueron sometidos a estudios de microscopía electrónica de transmisión (TEM) para visualizar las diferencias en la agregación A β en presencia y en ausencia de inhibidor. Aunque los agregados del péptido todavía son evidentes, en presencia del inhibidor disminuyeron notablemente. Con respecto a su morfología, se observan algunas ramas singulares alargadas (posiblemente debidas a la intercalación del ligando entre láminas β de fibrillas A β), mientras que en su ausencia los agregados son densos y amorfos.⁷ Todos los compuestos de la serie de híbridos DNP-BIM son capaces de quelar iones metálicos de Cu y Zn.

Por otro lado, los estudios de los perfiles farmacocinéticos indican que casi todos los compuestos tienen un buen potencial de biodisponibilidad oral. Presentan un carácter lipofílico/hidrófilo bien equilibrado y una permeabilidad moderada de la barrera hematoencefálica. La desventaja de este grupo de fármacos es que no todos de compuestos probados presentan capacidad neuroprotectora significativa. Únicamente los híbridos 14 y 15 mostraron una actividad moderada, probablemente debida al grupo fenólico, que se sabe que tiene un papel importante en la eliminación de ROS.

Con toda esta información, se puede afirmar que la mayoría de los análogos estudiados, derivados de la asociación DNP-BIM mostraron resultados satisfactorios y prometedores en materia de modificación de la patogenia de la EA. Especialmente, los compuestos 6, 8, 9, 13 y 14 pueden verse como posibles candidatos a fármacos para el tratamiento de esta enfermedad.^{7,14}

5.2.3 Derivados de Tacrina

Al aplicar la metodología se obtuvieron 2 artículos sobre los derivados de Tacrina.

La Tacrina fue el primer inhibidor de la AChE de acción central aprobado por la FDA para el tratamiento de la EA, aunque fue retirado poco después debido a que causa hepatotoxicidad.^{3,9} Se ha utilizado ampliamente en estudios recientes para diseñar compuestos híbridos o de múltiples objetivos con el objetivo de combinar su potente inhibición de AChE con otras propiedades farmacológicas.⁹ A continuación se detallan algunos de los compuestos híbridos derivados de Tacrina con múltiples mecanismos de acción que se han ensayado a lo largo de los últimos años y que hayan obtenido resultados satisfactorios desde el punto de vista de la eficacia y seguridad:

- **Híbridos Tacrina-ácido cinámico:** los compuestos demostraron resultados positivos en materia de inhibición de AChE y de la agregación de la proteína amiloide, efectos citoprotectores contra ROS y actividad antiproliferativa en células PC-12. Los derivados del compuesto 7 (Figura 4) fueron seleccionados para ensayos in vivo.³

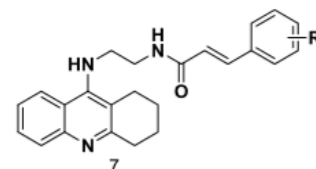


Figura 4: híbrido Tacrina-ácido cinámico.³

- **Híbridos Tacrina-ácido lipoico:** El ácido lipoico es un derivado organosulfurado del ácido octanoico y ha exhibido acción protectora contra la citotoxicidad inducida por A β , así como la estabilización de las funciones cognitivas en pacientes con EA. El compuesto 21a (Figura 5) demostró buenas capacidades de inhibición de la actividad catalítica de AChE, agregación de A β inducida por AChE y protección contra ROS en células neuronales.³

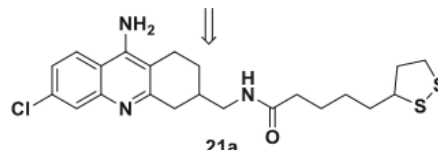


Figura 5: híbrido Tacrina-ácido lipoico.³

- **Híbridos Tacrina-Melatonina:** la melatonina es una hormona pineal que actúa como eliminador natural de radicales libres. Además, también ha exhibido la protección de las células de la microglía contra la apoptosis inducida por A β y la mejora en el aprendizaje y la memoria. El compuesto cabeza de serie 25a (Figura 6) demostró una notable selectividad para la inhibición de AChE, siendo capaz de unirse tanto al CAS como al PAS de la enzima, además de una disminución significativa en la muerte celular inducida por el péptido A β , así como una notable mejora en las funciones cognitivas en un modelo in vivo.^{3,9} Las funciones neuroprotectoras de este compuesto probablemente sean debidas a la modulación de la expresión de caspasa-3 y caspasa-9 por melatonina y regulación de canales de Ca²⁺ tipo L por el resto de Tacrina.³ Los compuestos de la serie exhibieron baja toxicidad y pudieron atravesar la barrera hematoencefálica (BHE). Los híbridos de Tacrina-Melatonina pueden considerarse nuevos fármacos multidiana de aplicación potencial en la EA.⁹

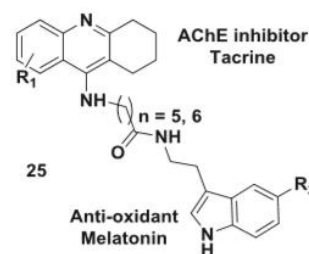


Figura 6: híbrido Tacrina-Melatonina.⁹

- **Híbridos Tacrina-Ácido ferúlico:** el ácido ferúlico es un antioxidante con capacidad de inducir resistencia a la toxicidad mediada por A β .³ El compuesto 30 (Figura 7) previene los cambios patológicos inducidos por A β , incluida una reducción significativa de su agregación, además de protección contra la muerte neuronal a través de la captación de ROS. Además, se produce una mejora cognitiva, al inhibir de reversiblemente la AChE mediante un mecanismo mixto (ocupa CAS y PAS).^{3,9} Por otro lado, se ha demostrado que el compuesto 31a (Figura 8) es un inhibidor potente y selectivo de BuChE, con capacidad de inhibir la agregación de A β y que tiene fuertes propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, sin producir hepatotoxicidad.³

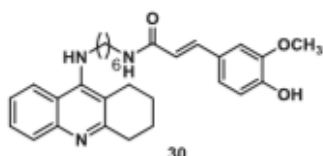
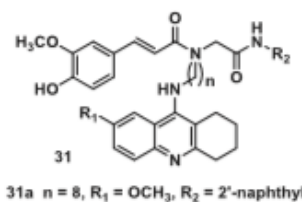


Figura 7: híbrido Tacrina-ácido ferúlico.³



31a n = 8, R₁ = OCH₃, R₂ = 2'-naphthyl

Figura 8: híbrido Tacrina-ácido ferúlico.³

- **Híbridos Tacrina-ácido cafeico:** el ácido cafeico es un antioxidante natural más potente que su análogo, el ácido ferúlico. Los compuestos de la serie, especialmente el 32 (Figura 9), demostraron actividad inhibitoria de AChE, antioxidante, inhibición de la agregación de A β , neuroprotección contra muerte celular inducida por ROS y quelación de metales.³

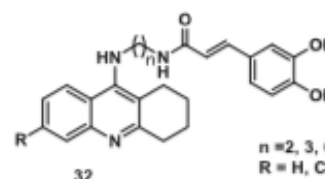


Figura 9: híbrido Tacrina-ácido cafeico.³

- **Dímero de Tacrina-Cistamina:** el compuesto 43 (Figura 10) exhibió una potencia de inhibición de AChE mayor que la del monómero, debido a una interacción mixta en CAS y PAS de AChE, con mejor perfil de seguridad y toxicidad. Además, inhibe la BuChE y la agregación de Ab inducida por AChE y presenta efectos neuroprotectores en las células del neuroblastoma, relacionados con la interacción con la enzima β -secretasa, los receptores NMDA y GABA y ROS.⁹

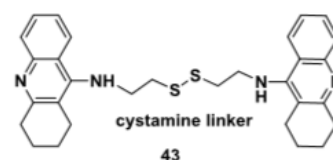


Figura 10: híbrido Tacrina-Cistamina.⁹

5.2.4 Derivados de propargilamina: ASS234, Ladostigil y análogos

Al aplicar la metodología se obtuvieron 4 artículos sobre los derivados de propargilamina.

Todos los compuestos que se recogen en este apartado poseen en su estructura un resto de N-propargilamina. Varios estudios han sugerido que este grupo posee propiedades neuroprotectoras, ya que favorece la viabilidad mitocondrial y regula la señalización de PKC y las proteínas de la familia Bcl-2 e impide la apoptosis. El grupo propargilamina es característico de los IMAO como Rasagilina o Selegilina. Los fármacos multidiana derivados de propargilamina actúan sobre diferentes vías. Además de actuar como inhibidores tanto de ChEs como de MAO, sus principales mecanismos neuroprotectores evidencian una mejora del deterioro cognitivo.¹² Existen varias series de compuestos que poseen este residuo y han sido estudiados como posibles terapias para la EA:

- **Ladostigil:** Siguiendo el enfoque de diseño de los fármacos multidiana, se diseñó y sintetizó el Ladostigil (Figura 11), incorporando el resto carbamato de la Rivastigmina (inhibidor de ChEs) en la posición 6 de la Rasagilina (IMAO).¹² El compuesto resultante es un inhibidor dual AChE-BuChE e inhibidor irreversible de MAO_A y MAO_B selectivo del cerebro, con pocos o ningún efecto sobre las enzimas MAO periféricas. Ladostigil también demostró una actividad neuroprotectora y antioxidante a través de la eliminación de los radicales libres producidos en las células neuronales al estimular la expresión y la actividad de las enzimas antioxidantes celulares, como la catalasa y la glutatión reductasa. Además, Ladostigil regula el procesamiento de APP por la vía de la α -secretasa no amieloidogénica.^{12,13} El compuesto llegó a los ensayos clínicos de Fase II para la EA. Sin embargo, en 2013 se retiró de esta línea. La molécula fue después promovida a la fase III para indicación en deterioro cognitivo leve (MCI) usando una formulación diferente.³

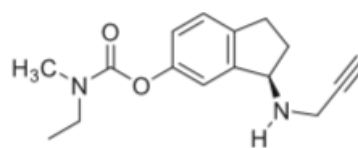
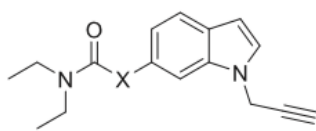


Figura 11: Ladostigil.¹⁷



49 X = 5-NH
50 X = 6-NH

Figura 12: Derivados de Ladostigil.¹²

Uno de los problemas que presentaba el Ladostigil era su rápida hidrólisis debido a la presencia del grupo carbamato en su estructura, por lo que más adelante se diseñaron otros compuestos (49 y 50) metabólicamente más estables. Se sustituyó el grupo carbamato por un grupo urea más estable, obteniendo derivados (Figura 12) con menor velocidad de degradación. Además, se comprobó que la inclusión del heterociclo indol aporta propiedades antioxidantes, favorece la eliminación de radicales libres y ayuda en la inhibición de la agregación de A β inducida por AChE. El compuesto 50 se identificó como un potente fármaco multidiana inhibidor de MAO_A y MAO_B y de AChE y BuChE. Exhibe una potencia inhibitoria de AChE y MAO_B 9 y 14 veces más altas que Ladostigil, respectivamente. Además, ejerce una neuroprotección relativamente alta hacia 1 metil-4-fenilpiridinio (MPP⁺) en las células neurales SH-SY5Y.¹²

- **ASS234:** Todos los compuestos de esta serie están constituidos por 2 restos fundamentales: un grupo N-bencilpiperidina (presente en el DNP) y un resto de N-propargilamina, obtenido del fármaco PF9601N (un inhibidor de MAO_B potente y selectivo). Ambas estructuras están unidas por diferentes sistemas de anillos heterocíclicos (piridina, indol u 8-hidroxiquinolina) lo que facilita la síntesis de estas moléculas que han sido consideradas como fármacos prometedores para ser utilizados en el futuro en la terapia contra la EA.

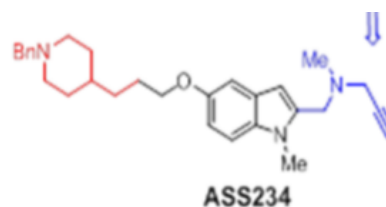


Figura 13: Compuesto ASS234.¹

El perfil farmacológico de esta serie de fármacos multidiana demostró que, además de inhibir las enzimas AChE y MAO B, presentan otros interesantes mecanismos de acción (Figura 13): los fármacos de la serie ASS234 revelaron una potente capacidad inhibitoria, tanto de MAO_A y MAO_B, como de AChE y BuChE. También han demostrado poseer capacidad de inhibición de la agregación del péptido A β , así como de reducir la presencia de formas oligoméricas de péptido β -amiloidé (la especie más tóxica en EA). Además, estos fármacos fueron capaces de inhibir la agregación de A β catalizada por AChE, al unirse al PAS de la enzima. Los compuestos ASS234 poseen efectos neuroprotectores de la citotoxicidad que el péptido A β induce en células de neuroblastoma humano al evitar la activación de la vía mitocondrial intrínseca de apoptosis. Además, la serie ASS234 mostró propiedades antioxidantes significativas, derivadas del aumento en la expresión de catalasa y superóxido dismutasa (SOD) en células de neuroblastoma humano y de la capacidad de capturar ROS. Los perfiles de 3D-QSAR confirmaron un perfil farmacocinético y propiedades ADME adecuadas de estos nuevos fármacos multidiana.

Existen 4 derivados fundamentales de la serie ASS234 (Figura 14). El compuesto ASS234-MTDL-1 se identificó como un potente inhibidor dual de AChE y BuChE, mientras que el ASS234-MTDL-2

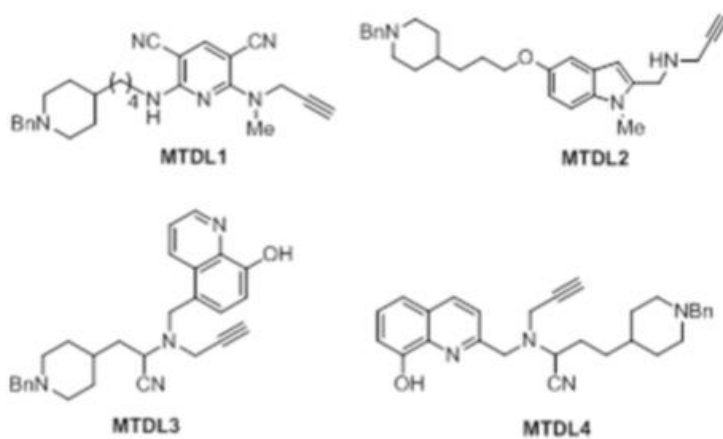


Figura 14: Derivados del Compuesto ASS234.¹

exhibió uno de los perfiles más interesantes al demostrar una potente capacidad inhibitoria de MAO A y moderada de MAO B, además de inhibir AChE de tipo mixto (abarcando tanto el PAS como el CAS) y BuChE. Los compuestos ASS234-MTDL-3 y ASS234-MTDL-4, además de poseer las mismas propiedades inhibitorias que el fármaco 2 de la serie, también mostraron una gran capacidad quelante de metales (Cu, Zn y Fe).¹

- **M30:** el compuesto M30 (Figura 15) fue diseñado introduciendo el resto de N-propargilamina de la Rasagilina (Inhibidor de MAO) en la 8-hidroxiquinolina, que es un compuesto heterocíclico con propiedades antioxidantes y quelante de hierro y otros metales. Los estudios in vitro demostraron que, además de la inhibición de las enzimas MAO por el resto de propargilamina, el M30 favorece una la reducción de la generación de A β mediante un descenso de la expresión del APP. Además, se descubrió que M30 activaba la vía no amieloidogénica del procesamiento de APP. Este compuesto atenúa las deficiencias cognitivas de la EA favoreciendo la retención de memoria y habilidades de aprendizaje. Dado que M30 se dirige a los sitios farmacológicos involucrados en la EA, podría servir como un fármaco neuroprotector potencial para el tratamiento de la enfermedad.¹² Sin embargo, la desventaja de este compuesto es que no inhibe AChE, por lo que debería usarse en combinación con un inhibidor de AChE.

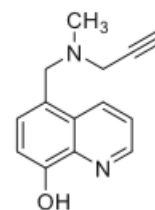


Figura 15: Compuesto M30.¹²

Estos hallazgos nos permiten concluir que los fármacos derivados de propargilamina como Ladostigil (Figura 11) y sus análogos, la serie de ASS234 (Figuras 13 y 14) y el compuesto M30 (Figura 15) pueden interactuar con múltiples objetivos clave de la enfermedad e indican que son moléculas con buenas perspectivas de futuro para el tratamiento de la EA.¹

6. CONCLUSIONES.

Tras realizar esta revisión bibliográfica se ha comprobado que la Enfermedad de Alzheimer es una patología multifactorial, que cursa con un evidente descenso de la actividad colinérgica en el SNC que se traduce en la disminución de la capacidad cognitiva del paciente. Aunque su causa desencadenante todavía no se conoce con exactitud, se sabe que la patología se caracteriza principalmente por el depósito extracelular de péptido β -amiloide en forma de placas y la aparición de ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos principalmente por la proteína Tau hiperfosforilada. Además, existen otros factores patológicos, como el estrés oxidativo y daño celular, la dishomeostasis metálica y la excitotoxicidad mediada por glutamato, que contribuyen al desarrollo y progreso de la enfermedad.

Las enzimas endógenas AChE y BuChE, así como las isoenzimas MAO_A y MAO_B y la β -secretasa (BACE1), junto con el péptido A β y la APP, son las dianas farmacológicas actualmente en estudio para desarrollar futuros fármacos multidiana para el tratamiento de la EA.

El panorama actual de los fármacos multidiana contra la EA está basado en la hibridación de fármacos aprobados como inhibidores de colinesterasas (Tacrina, Donepezilo, Rivastigmina) con restos activos con otros mecanismos de acción. Existen varias series de fármacos, como los antioxidantes mitocondrotrópicos y los derivados de propargilamina, con buenas perspectivas de futuro para el tratamiento de la enfermedad, y que ya han sido testados en modelos in vivo e in vitro en ratones transgénicos, que merecen ser considerados como cabezas de serie para continuar con estudios posteriores en humanos. De todos ellos, el Ladostigil es el que ha proporcionado hasta ahora los resultados más satisfactorios, aunque se descartó en fase II debido a su elevada degradación. Se han diseñado derivados de esta molécula, mejorando sus propiedades y arrojando resultados esperanzadores.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Mercedes Unzeta, Gerard Esteban, Irene Bolea, Wieslawa A. Fogel, Rona R. Ramsay, Moussa B. H. Youdim. Multi-Target Directed Donepezil-Like Ligands for Alzheimer Disease. *Frontiers in Neuroscience* [Internet]. 2016 [citado el 21 de junio de 2020]. 10 (205). Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00205>
2. Karen J. Thompson, Andrew B. Tobin. Crosstalk between the M1 muscarinic acetylcholine receptor and the endocannabinoid system: A relevance for Alzheimer's disease?. *Cellular Signalling* [Internet]. 2020 [citado el 20 de abril de 2020]. 70. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109545>
3. Pankaj Mishra, Amit Kumar, GautamPanda. Anti-cholinesterase hybrids as multi-target directed ligands against Alzheimer's disease. *Elsevier* [Internet]. 2019 [citado el 21 de junio de 2020]. 27 (895-930). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.01.025>
4. Chun-Li Xia, Gui-Hua Tang, Yan-Qiong Guo, You-Kai Xu, Zhi-Shu Huang, Sheng Yin. Mulberry Diels-Alder-type adducts from *Morus alba* as multi-targeted agents for Alzheimer's disease. *Elsevier* [Internet]. 2018 [citado el 21 de junio de 2020]. 157 (82-91). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.10.028>
5. Ying Chen, Yuling Chen, Yubin Liang, Hongda Chen, Xiaoying Ji, Min Huang. Berberine mitigates cognitive decline in an Alzheimer's Disease Mouse Model by targeting both tau hyperphosphorylation and autophagic clearance. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [Internet]. 2019 [citado el 8 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109670>
6. Tao Wang, Xiao-huan Liu, Jing Guan, Shun Ge, Mian-Bin Wu, Jian-ping Lin. Advancement of multi-target drug discoveries and promising applications in the field of Alzheimer Disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. 2019 [citado el 21 de junio de 2020]. 169 (200-223). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.076>
7. Luca Piemontese, Daniel Tomás, Asha Hiremathad, Vito Capriati, Emanuel Candeias, Sandra M. Cardoso, Sílvia Chaves. Donepezil structurebased hybrids as potential multifunctional anti-Alzheimer's drug candidates. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. [Internet]. 2018 [citado el 21 de junio de 2020]. 33:1 (1212-1224). Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1491564>
8. Sofia Benfeito, Carlos Fernandes, Santiago Vilar, Fernando Remião, Eugenio Uriarte and Fernanda Borges. Exploring the Multi-Target Performance of Mitochondriotropic Antioxidants against the Pivotal Alzheimer's Disease Pathophysiological Hallmarks. *Molecules*. *Molecules* [Internet]. 2020 [citado el 21 de junio de 2020]. 25 (2), 276. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25020276>
9. Ficha técnica Galantamina Cinfa 16 mg capsulas duras de liberación prolongada EFG. Centro de Información de medicamentos (CIMA). Agencia Española de Medicamentos. Consultado en: Abril 2020. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
10. Ficha técnica Aricept 5 mg comprimidos recubiertos con película. Centro de Información de medicamentos (CIMA). Agencia Española de Medicamentos. Consultado en: Abril 2020. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
11. Mariado Carmo Carreiras, Lhassane Ismaili, José Marco-Contelles. Propargylamine-derived multi-target directed ligands for Alzheimer's disease therapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. 2019 [citado el 9 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.126880>
12. Atish Kumar Sahoo, Jagnehswar Dandapat, Umesh Chandra Dash, Satish Kanhar. Features and outcomes of drugs for combination therapy as multi-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *Elsevier* [Internet]. 2018 [citado el 21 de junio de 2020]. 215 (42-73). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.015>
13. Alejandro Romero, Ramón Cacabelos, María J. Oset-Gasque, Abdelouahid Samadi, José Marco-Contelles. Novel tacrine-related drugs as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* [Internet]. 2013 [citado el 18 de abril de 2020]. 23 (7). 1916-1922. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.02.017>
14. Sílvia Chaves, Simonetta Resta, Federica Rinaldo, Marina Costa, Romane Josselin, Karolina Gwizdala. Design, Synthesis, and In Vitro Evaluation of Hydroxybenzimidazole-Donepezil Analogues as Multitarget-Directed Ligands for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Molecules* [Internet]. 2020 [citado el 21 de junio de 2020]. 25 (4), 985. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25040985>
15. P.C. Bello-Medina, D.A. González-Franco, I. Vargas-Rodríguez y S. Díaz-Cintra. Estrés oxidativo, respuesta inmune, plasticidad sináptica y cognición en modelos transgénicos de la enfermedad de Alzheimer. *SEN* [Internet]. 2019 [citado el 8 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2019.06.002>
16. Ming Jin, Nina Shepardson, Ting Yang, Gang Chen, Dominic Walsh, and Dennis J. Selkoe. Soluble amyloid β -protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly induce Tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *PNAS* [Internet]. 2011 [citado el 21 de junio de 2020]. 108, 14 (5819-5824). Disponible en: <https://doi.org/10.1073/pnas.1017033108>
17. Harald Hampel, Robert Vassar, Bart De Strooper, John Hardy, Michael Willem, Neeraj Singh, et al. The b-Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry* [Internet]. 2020 [citado el 8 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.02.001>