



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
FÁRMACOS MULTIDIANA EN EL
TRATAMIENTO DEL ALZHEIMER

Autor: Marina Díaz Cortizo

Tutor: Giorgio Giorgi

Convocatoria: Junio 2018

INDICE

Resumen.....	3
Introducción y antecedentes:	
1. La enfermedad de Alzheimer.....	4
2. Terapia actual en el Alzheimer.....	6
3. Los fármacos multidiaria.....	7
Objetivos.....	8
Metodología.....	8
Resultados y discusión:	
1. Método de cribado o <i>screening</i>	9
2. Método de diseño racional.....	10
3. Optimización del cabeza de serie.....	12
4. Principales fármacos multidiaria que se encuentran actualmente en desarrollo.....	13
Conclusión.....	19
Bibliografía.....	20

RESUMEN

Los fármacos multidiana, también conocidos como “fármacos multipotentes”, son moléculas capaces de interactuar con más de una diana al mismo tiempo y que empiezan a generar un enorme interés en la comunidad científica en el tratamiento de enfermedades muy complejas, como el Alzheimer, el VIH o el cáncer. Estos nuevos fármacos dejan atrás el paradigma utilizado hasta ahora en el diseño de fármacos, basado en la estrategia “un fármaco, una diana”, que se ha mostrado incapaz de dar resultados satisfactorios hasta la fecha en lo que a tratamiento para el Alzheimer se refiere.

La enfermedad de Alzheimer es ya la tercera causa de mortalidad en los países de mayores ingresos y tiene una alta repercusión a nivel social debido a su tasa de morbilidad. Se trata de un trastorno neurodegenerativo en el sistema nervioso central que ocurre frecuentemente en personas de edad avanzada y que se caracteriza por un progresivo e irreversible deterioro en las funciones cognitivas. Al no conocerse una clara relación entre el desarrollo de la enfermedad y las causas que la provocan, existen muchas dianas susceptibles de ser origen y solución de la misma.

En la terapia del Alzheimer se busca que los fármacos actúen principalmente a cuatro niveles:

- Evitar la formación de placas amiloides extraneuronales
- Inhibir la formación de ovillos intraneuronales formados por microfilamentos de proteína tau hiperfosforilada
- Inhibir la enzima MAO-B y la acetilcolinesterasa
- Protección neuronal frente al daño oxidativo y la hiperestimulación de receptores de glutamato.

Actualmente la búsqueda de nuevos fármacos multidiana se realiza mediante dos estrategias: el método de cribado o *screening* y el método de diseño racional basado en la combinación de dos o más estructuras que ya se usaban por separado. Una vez obtenido el compuesto “cabeza de serie” se lleva a cabo su optimización con el objetivo de ajustar la actividad del compuesto sobre las dianas de interés y a su vez, en la medida de lo posible, eliminar la actividad sobre las dianas responsables de los efectos secundarios.

En este trabajo procederemos a analizar cuales son los principales descubrimientos de los últimos años en lo que a fármacos multidiana se refiere, los métodos seguidos para su desarrollo y optimización, y su repercusión en un nuevo horizonte terapéutico frente a una enfermedad que afecta a millones de personas en todo el mundo.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. La enfermedad de Alzheimer (EA)

La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia (entre 50 y 70%) y afecta a alrededor de 44 millones de personas en todo el mundo, con una tendencia ascendente. Se prevé que pueda llegar a afectar a 135 millones de personas en 2050, convirtiéndose en la enfermedad más importante del siglo XXI. (1)

Identificada por primera vez en 1901 por el neuropsiquiatra alemán Alois Alzheimer, se trata de una patología neurodegenerativa del sistema nervioso central que aparece en personas de edad avanzada, normalmente a partir de los 65 años. Clínicamente, esta enfermedad se caracteriza por un progresivo deterioro cognitivo, pérdida de memoria, desorientación y alteraciones del lenguaje, acompañado de un comportamiento anormal y cambio de personalidad. Se desconoce cual es el factor etiológico desencadenante de la enfermedad, pero se cree que existen factores de riesgo, tanto genéticos como ambientales, que facilitan su aparición. Los principales son:

- ❖ Influencia genética: existen varios genes implicados, sobre todo en el tipo de inicio precoz
- ❖ Edad: el riesgo se duplica cada 5 años, pasando de un 10% de probabilidad a los 65 años a un 50% a los 85.
- ❖ Escolarización y nivel educativo: la ejercitación cognitiva y el aprendizaje estimulan la comunicación neuronal. Un bajo nivel educativo o la falta de actividad cerebral (leer, hacer actividades que requieran el uso de la lógica, memorizar...) están relacionados con un aumento del riesgo de desarrollar la enfermedad.
- ❖ Hipertensión arterial de larga evolución.
- ❖ Nutrición: una dieta desequilibrada de alto contenido calórico y niveles altos de ácidos grasos saturados aumentan el riesgo.
- ❖ Antecedentes de procesos depresivos o Síndrome de Down
- ❖ Otros: tabaco, estilo de vida sedentaria, diabetes, obesidad

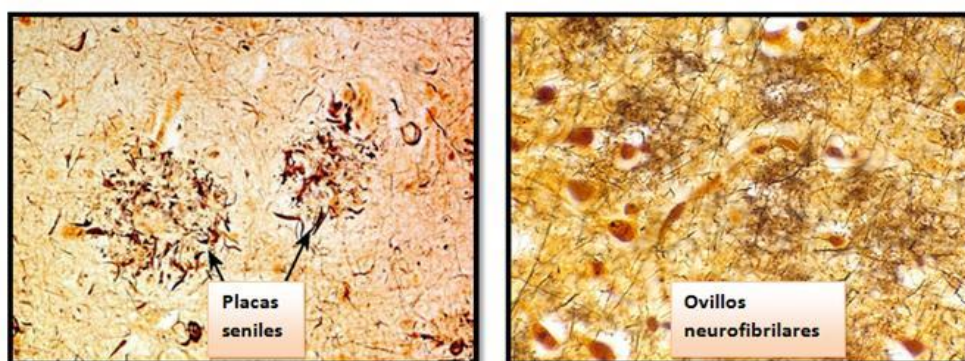
A nivel fisiopatológico, el Alzheimer se caracteriza por la aparición de diversas lesiones moleculares en forma de depósitos proteínicos consistentes en placas neuríticas, compuestas por acumulaciones extracelulares de péptido β -amiloide ($A\beta$), y por ovillos neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada. También están involucrados factores como baja neurotransmisión colinérgica, estrés oxidativo o neuroinflamación.

Las placas corticales son densos núcleos proteicos rodeados por neuronas dañadas y/o destruidas, compuestas principalmente del péptido A β , que es un derivado del proceso proteolítico continuo de la proteína precursora β -amiloide (APP) llevado a cabo por las enzimas β y α secretasa. La presencia del péptido β -amiloide incrementa la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), lo que aumenta la hidrólisis de la acetilcolina (ACh) generando su déficit. Además, la acetilcolinesterasa puede formar complejos con el péptido A β modificando su conformación y promoviendo su agregación para formar las placas β -amiloides.

Los ovillos neurofibrilares hiperfosforilados (NFTs) están compuestos por filamentos de la proteína tau y se encuentran normalmente en los axones neuronales. Esta proteína actúa promoviendo el ensamblaje de tubulina en los microtúbulos y su estabilización. Al tratarse de una fosfoproteína, tras ser sintetizada es fosforilada por determinadas quinasas celulares. En estados patológicos, la enzima glucogeno sintasa quinasa-3 β (GSK-3 β) es responsable de la hiperfosforilación de la proteína tau, provocando su separación de los microtúbulos y su precipitación dando lugar a los NFTs.

De esta forma ambas alteraciones (placas β -amiloides y NFTs) son las responsables de la degeneración neuronal de la EA, ya que causan una pérdida progresiva de las neuronas colinérgicas en el cerebro que da como resultado alteraciones de la memoria y disfunción cognitiva.

Además, para explicar la etiología de la EA, se incluye la “hipótesis del estrés oxidativo” basada en la idea de que las especies reactivas de oxígeno causan un daño oxidativo en las neuronas del SNC. Por ello en multitud de pacientes se utilizan fármacos con capacidad antioxidante como herramienta terapéutica beneficiosa.(2)



2. Terapia actual en el Alzheimer

A día de hoy el tratamiento del Alzheimer es paliativo, ya que aún no se han hallado fármacos que consigan prevenir y retrasar el proceso de degeneración neuronal. Durante el tratamiento se siguen diferentes estrategias terapéuticas en función de lo avanzada que esté la enfermedad.

Una de las funciones biológicas afectadas es la neurotransmisión colinérgica, responsable de la mayor parte de las alteraciones cognitivas como consecuencia del déficit de acetilcolina. Por esta razón la estrategia terapéutica más efectiva es la administración de fármacos que aumenten la concentración de acetilcolina e inhiban su degradación (colinérgicos indirectos), como terapia sintomática en estadios de grado leve a moderado. Presentan beneficios leves durante un tiempo determinado ya que no frenan el avance de la enfermedad. Los más utilizados son:

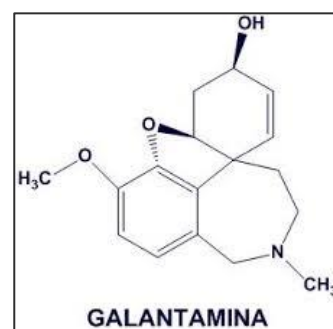
- ❖ Donepezilo (Aricept®, Eranz®, Valpex®): Inhibidor específico y reversible, de tipo piperidínico, de la acetilcolinesterasa. Induce mejoría muy ligera de algunas de las manifestaciones.



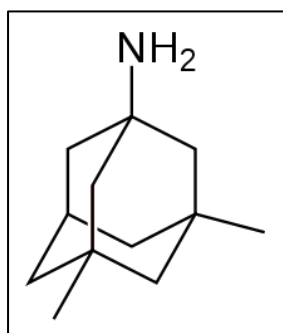
- ❖ Rivastigmina (Prometax®, Exelon®): Inhibidor de la acetil- y butirilcolinesterasa de tipo carbamato, facilita la neurotransmisión colinérgica al reducir la velocidad de degradación de la Ach liberada por neuronas funcionalmente intactas. Interactúa con sus enzimas diana formando un enlace covalente, dando lugar a un complejo que inactiva las enzimas temporalmente. Induce mejoría muy ligera sobre el déficit cognitivo.



- ❖ Galantamina (Reminyl®, Numencial®, Razadyne ®): Alcaloide terciario que actúa como inhibidor selectivo, competitivo y reversible de la acetilcolinesterasa. Mejora la acción intrínseca de la Ach sobre los receptores nicotínicos, probablemente mediante la unión a un punto alostérico del receptor. Por lo tanto es capaz de inducir mejoría muy ligera gracias a una mayor actividad del sistema colinérgico.



- ❖ En los estadios de grado moderado a grave se utiliza la Memantina (Mantinx®), que actúa como antagonista no competitivo de los receptores de N-Metil-D-Aspartato (NMDA) de afinidad moderada y voltaje dependiente. Modula los efectos de los niveles de glutamato aumentados patológicamente bloqueando los canales de magnesio, que son



MEMANTINA

imprescindibles ya que el receptor se activa por la diferencia de potencial en presencia de iones Mg²⁺. Al bloquear los canales de Mg se dificulta la sobreactivación del receptor y la hiperexcitación neuronal. Puede asociarse al donepezilo en una misma forma farmacéutica (Namzaric®). (3, 4, 5)

Los pacientes con EA sufren además síntomas relacionados con depresión, ansiedad y psicosis, por lo que también se utilizan fármacos antidepresivos tipo inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (fluoxetina, paroxetina), fármacos neuroprotectores inhibidores de monoamino oxidas-B (IMAO-B) como la rasagilina, ansiolíticos y antipsicóticos.

En la actualidad, diferentes empresas farmacéuticas están involucradas en el desarrollo en fase clínica de nuevos fármacos. Entre los nuevos compuestos en fases II y III podemos encontrar anticuerpos monoclonales, inmunoglobulina intravenosa, inhibidores de la hiperfosforilación de la proteína tau (Davenutide, cloruro de metiltionilo), un inhibidor de GSK-3 β (Tideglusib) y varios compuestos inhibidores de la formación del péptido A β . Pero a pesar del esfuerzo de la comunidad científica internacional en la búsqueda de tratamientos efectivos, los resultados han sido escasos y no se ha aprobado ningún nuevo fármaco desde 2003, año en que se aprobó el uso de la memantina. (6)

3. Los fármacos multidiana

Se considera fármaco multidiana a una sola molécula que es capaz de interactuar con dos o más dianas terapéuticas al mismo tiempo. La obtención de estos nuevos compuestos desafía el paradigma predominante hasta el momento de “un fármaco, una diana” y supone un nuevo reto en el campo de la química médica. El uso de fármacos tan selectivos como los usados hasta la fecha presenta una serie de limitaciones en enfermedades complejas, como el cáncer o las enfermedades del SNC. Por ello, la aplicación de estos nuevos fármacos multidiana debe empezar a considerarse como una nueva estrategia terapéutica con el objetivo de hacer frente a la enfermedad de una manera más eficaz.

El descubrimiento de nuevas moléculas es un procedimiento tedioso, costoso y a largo plazo. Además, en el caso de las moléculas multidiana nos encontramos nuevos retos, como el garantizar una buena unión a todos los ligandos, la aparición de múltiples efectos secundarios o la correcta difusión a través de BHE. Sin embargo, los modernos métodos computacionales para el diseño de nuevas moléculas juegan un importante papel en la optimización del proceso

de descubrimiento de nuevos fármacos multidiana, lo que ha permitido diferentes avances en los últimos años a partir de diferentes familias de principios activos.

La terapia con fármacos multirespuesta ofrece una serie de ventajas con respecto a las terapias clásicas usadas hasta el momento: facilita la posología, reduce la dificultad de formulación y las interacciones farmacológicas, puede usarse en casos donde no sea posible la co-administración o co-formulación de diferentes fármacos y supone menor coste para el sistema sanitario. Por todos estos motivos, la terapia multidiana constituye una opción terapéutica válida, novedosa y económica que debería continuar desarrollándose. (7)

OBJETIVOS

Este trabajo plantea los siguientes objetivos:

- Analizar los aspectos relacionados con la enfermedad de Alzheimer, los tratamientos actuales y el posible papel de los fármacos multidiana en la terapia del Alzheimer.
- Exponer cuales son las principales estrategias en el campo de la investigación para el descubrimiento, desarrollo y optimización de nuevas moléculas que demuestren un efecto *in vivo* que sea terapéuticamente relevante y un perfil farmacológico seguro para poder llegar a la fase de ensayos clínicos.
- Repasar cuales han sido los avances conseguidos hasta el momento, en qué fase de desarrollo se encuentran las nuevas moléculas y por qué son interesantes desde el punto de vista terapéutico.

METODOLOGÍA

Este trabajo es una revisión bibliográfica. Para su elaboración la principal herramienta de búsqueda de información ha sido a través de internet, usando el navegador Google. Las palabras clave en la búsqueda de información han sido “enfermedad de Alzheimer” (Alzheimer’s disease), “fármacos multidiana” (multitarget drugs), “búsqueda de nuevos fármacos” (searching of new drugs), “screening”, “diseño racional de fármacos” (rational design of drugs), “optimización de cabezas de serie” (LEADs optimization). Otra de las fuentes ha sido la tesis doctoral Una nueva estrategia basada en el diseño de fármacos multidiana para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, realizada por Pedro J. González Naranjo, realizada en el Departamento de química orgánica y farmacéutica de la

Facultad de farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Para la información referente a los tratamientos actuales he realizado la búsqueda en la base de datos online de Vademecum y el CIMA (página de la AEMPS), y también he consultado el Medline de uso hospitalario, edición de 2016.

Para la información sobre cada una de las moléculas que se exponen en el apartado de “Resultados y discusión” he realizado una búsqueda de cada una de ellas seleccionando los datos más relevantes encontrados en las diferentes publicaciones. En concreto para la molécula ASS234 la información se encuentra en la página de la Universidad Autónoma de Barcelona.

El criterio para la selección de las moléculas que se exponen en el apartado de “Resultados y discusión” ha sido la observación durante su estudio de efectos terapéuticos *in vivo* y de un perfil farmacológico seguro que permita llevar a las moléculas a las fases II y III de investigación. Las moléculas multirespuesta que según estudios realizados no cumplen estos dos requisitos no han sido incluidas en esta revisión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cómo resultado en la búsqueda de información sobre el descubrimiento y diseño de nuevas moléculas, podemos constatar que los principales métodos para la búsqueda de nuevos fármacos considerados “cabeza de serie” (*lead compounds*) son: el método de cribado o *screening* y el método de diseño racional basado en la combinación de estructuras ya conocidas, siendo este último el más común. La etapa siguiente, tanto si se utiliza un método u otro, es la de optimización del compuesto cabeza de serie, totalmente necesario para ajustar a un nivel adecuado la actividad del compuesto sobre las dianas de interés así como reducir los efectos secundarios. A continuación haremos un análisis más detallado sobre en qué consiste cada una de las etapas:

1. Método de cribado o *screening*:

Con el cribado o *screening* de compuestos químicos se buscan moléculas que presenten, como mínimo, actividad sobre cada una de las dianas de interés, y se conocen con el nombre de “*Hits*”.

A día de hoy no se dispone de información sobre ejemplos de cabezas de serie (DMLs) que hayan sido obtenidos mediante *screening* de bibliotecas de compuestos diversos o de alto

rendimiento (High Throughput Screening, HTS), lo que puede deberse a las complicaciones logísticas que presenta el método en sí, ya que existe una probabilidad baja de detectar un compuesto con un perfil de actividad múltiple sobre las dianas de interés terapéutico partiendo del screening de compuestos al azar. Debido al gran número de compuestos que normalmente están implicados en el método HTS, generalmente se hace primero un cribado de los mismos sobre una de las dianas de interés, y aquellos activos sobre ésta pasan a un segundo cribado sobre otra de las dianas terapéuticas.

En comparación con el método HTS, existen muchos más ejemplos de *screening* de bibliotecas focalizadas de compuestos, seleccionados en proyectos anteriores en los que demostraron actividad sobre una única diana; o utilizando conocimientos previos sobre las dianas de interés. En este tipo de *screening*, las clases de compuestos que se conoce que presentan actividad sobre una de las dianas se prueba sobre otra. Esto aumenta la posibilidad de detectar un perfil de actividad múltiple sobre las dianas terapéuticas, ya que se parte de compuestos que ya presentan una de las actividades de interés.

En cualquier caso, los métodos de *screening* proporcionan moléculas *hit* que no sólo presentan las actividades deseadas, sino también efectos secundarios derivados de su actividad sobre otras dianas. Para minimizar estos efectos secundarios será necesario modificar la estructura de estos compuestos durante la etapa de optimización, reduciendo en la medida de lo posible la actividad sobre las dianas sin interés terapéutico. También será necesario durante esta etapa el ajuste para un balance de actividades óptimo sobre las distintas dianas.

2. Método de diseño racional:

La otra estrategia más común para la generación de cabezas de serie es el método de diseño racional, conocido como *framework combination* o combinación de estructuras. Comienza partiendo de dos compuestos, cada uno de los cuales se une de forma selectiva a una de las dianas de interés. El objetivo principal es incorporar en una misma molécula *lead* las dos actividades mediante la combinación de las estructuras de cada una de las moléculas con actividad selectiva. Además una de las ventajas es que los conocimientos previos sobre las relaciones estructura-actividad (SAR) pueden emplearse como guía en el proceso de optimización.

Los compuestos “cabeza de serie” generados mediante combinación de estructuras pueden denominarse de tres formas diferentes en función del grado en el que se hayan integrado dichas estructuras para su obtención:

- a) Conjugados (“*Linked*”): las estructuras moleculares no se integran entre sí, sino que se unen mediante un *linker* o estructura conectora que no está presente en ninguno de los ligandos selectivos cuando van por separado. Este *linker* normalmente se diseña de forma que sea metabólicamente estable, y la molécula multidiana será capaz de interaccionar con ambas dianas a través de ambas finales. Algunos DMLs conjugados contienen un *linker* de escisión, diseñado para ser metabolizado y de esta manera liberar los dos ligandos, que de manera independiente interaccionan con cada una de las dianas. Este último caso se encuentra a medio camino entre un verdadero fármaco multidiana y una combinación de dos fármacos en una sola forma farmacéutica (FDC), algo que ya se utiliza frecuentemente.
- b) Fusionados (“*Fused*”): las estructuras moleculares se encuentran en contacto, de forma que no se encuentran unidas por ningún linker, pero tampoco existe solapamiento entre las mismas. Se pueden identificar fácilmente las estructuras originales de las que hemos partido.
- c) Combinados (“*Merged*”): las estructuras moleculares se encuentran combinadas entre sí, de forma que prácticamente lo que tenemos son fragmentos de las estructuras originales unidos con otros fragmentos, siendo siempre las zonas de la molécula original con actividad sobre receptores. En este caso es más difícil identificar cuáles han sido los compuestos de partida previos a la combinación.

Durante la síntesis de fármacos se tiende siempre a maximizar el grado de solapamiento con el fin de producir moléculas más pequeñas y simples. Los métodos de *screening* y *framework combination* para la generación de cabezas de serie presentan una serie de ventajas y desventajas que inducen a emplear ambas estrategias, en la medida de lo posible, para así aumentar la probabilidad de éxito.

En lo referente al método de *screening*, una gran ventaja es que los compuestos de partida presentan múltiples actividades incorporadas, aunque éstas sean bastante débiles. Por tanto, este método puede tener un valor añadido cuando no existen ligandos selectivos para las dianas de interés o cuando no se dispone de suficiente información sobre la relación estructura-actividad necesaria para llevar a cabo el método de *framework combination*. Además, un *screening* puede proporcionar en ocasiones *hits* para combinaciones de dianas

inusuales que abarcan familias de receptores no relacionadas. De hecho, debido a que la estrategia de *framework combination* produce ligandos duales de forma sistemática, para descubrir ligandos que son capaces de unirse a más de dos dianas es necesario recurrir a la estrategia de *screening*. Los *hits* obtenidos por *screening* se optimizan con la adición de pequeños grupos o modificando los grupos funcionales ya presentes en la estructura, lo que tiene un efecto mucho menor en el tamaño global y las propiedades fisicoquímicas de la molécula final en comparación con el efecto que supone sobre éstos la combinación de dos estructuras moleculares.

En contrapartida, en el método de *framework combination* la incorporación de una segunda actividad en un compuesto no activo frente a una diana, manteniendo a la vez la afinidad por la diana original, es una tarea compleja. Sin embargo, muchos ejemplos presentes en la literatura constituyen la prueba de que esto puede lograrse aprovechando eficazmente los conocimientos disponibles sobre la relación estructura-actividad de los ligandos selectivos. En comparación con el *screening*, este método puede proporcionar de forma rápida moléculas conjugadas que pueden usarse como fármacos de administración intravenosa o como herramientas bioquímicas, incluso para dianas que son muy diferentes en relación al grupo farmacóforo que interacciona con ellas. Sin embargo, la probabilidad de éxito con un *screening* aleatorio se reduce cuando las dianas a combinar son muy diferentes.

3. Optimización del cabeza de serie:

Independientemente del método de obtención del compuesto cabeza de serie, dicho compuesto normalmente no muestra el balance óptimo de actividades sobre las diferentes dianas. Así, durante la etapa de optimización se ajusta a un nivel adecuado la actividad del compuesto sobre las diferentes dianas de interés, y en paralelo, si es necesario, se elimina la actividad sobre las dianas responsables de los efectos secundarios.

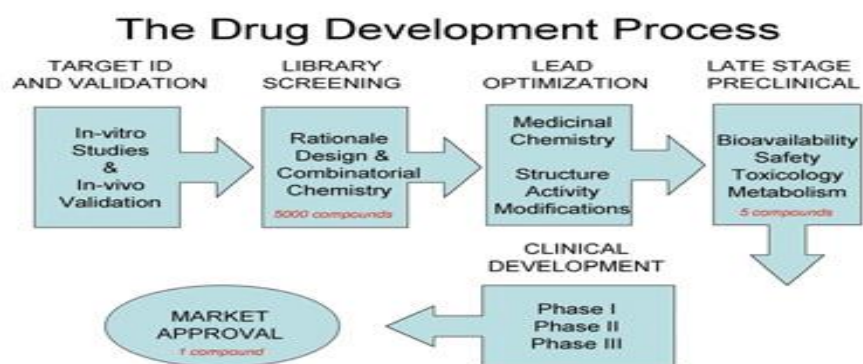
Esta tarea presenta una serie de dificultades:

1. Es necesario establecer el nivel de actividad adecuado para cada diana con el objetivo de conseguir una eficacia y seguridad óptimas.
2. Debemos tener en cuenta la relación entre la modulación de la diana in vivo y en un ensayo in vitro, ya que algunos factores como la distribución del compuesto, la localización tisular de las dianas, la densidad del receptor o la enzima sobre la que actúa el compuesto influenciarán el balance óptimo de las actividades in vitro.

3. Cuando el número de dianas a ajustar aumenta, la complejidad del complejo de optimización puede incrementarse exponencialmente. La gran mayoría de los DMLs publicados son duales, aunque para algunas dianas concretas se conocen bloqueantes triples.
4. Optimizar la selectividad del fármaco frente a un extenso grupo de dianas. Para ello, los modelos animales y los estudios clínicos pueden proporcionar información esencial sobre el nivel de reactividad cruzada que puede ser tolerada. Sin embargo, en los casos en los que la diana es un receptor o una enzima para la que existen múltiples subtipos o isoformas y el compuesto presenta más de una actividad no deseada, esta tarea se ve especialmente dificultada.

Una vez se optimiza el compuesto cabeza de serie, éste puede modificarse para la obtención de prototipos, que a continuación se prueban en ensayos preclínicos. En estos estudios uno de los grandes desafíos es diseñar DMLs con propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas que permitan la administración por vía oral. Las propiedades fisicoquímicas tienen una gran influencia en el comportamiento farmacocinético de los compuestos que se administran por vía oral, por ejemplo, el tamaño molecular o la lipofilia. Optimizar el comportamiento farmacocinético, además de alcanzar un perfil de actividades ajustado, es el aspecto más desafiante en el desarrollo de DMLs.

En caso de que alguno de estos prototipos tenga éxito en las pruebas preclínicas, el compuesto candidato se prueba en ensayos clínicos. (8)



4. Principales fármacos multidiana que se encuentran actualmente en desarrollo:

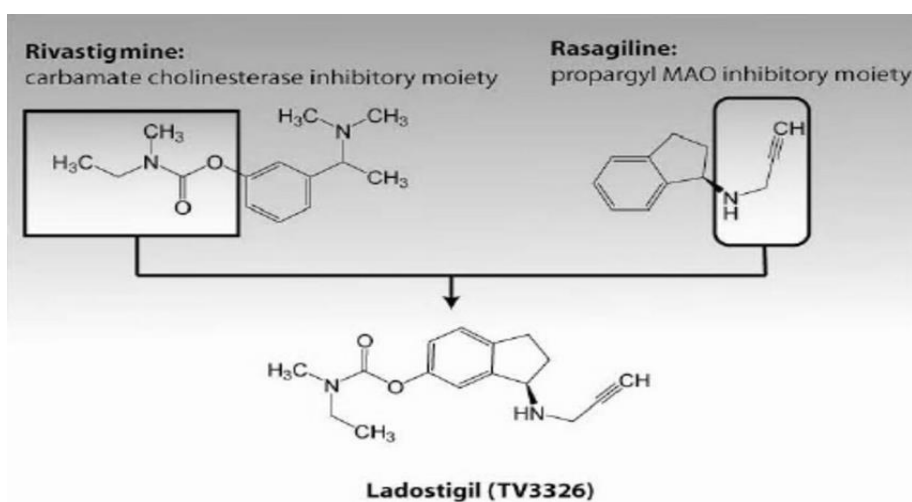
A continuación expondremos cuáles han sido los principales resultados fruto de la investigación del tema que nos ocupa y desarrollados en diferentes ámbitos, y cual es el

horizonte que ofrecen estas nuevas moléculas en cuanto a su posible desarrollo y comercialización.

❖ Ladostigil:

Siguiendo la estrategia de diseño de fármacos multipotentes consistente en la yuxtaposición de diferentes grupos farmacóforos (normalmente dos), se diseñó el Ladostigil como resultado de la combinación del grupo carbamato de la Rivastigmina con el grupo propargilamina de la Rasagilina.

El Ladostigil es capaz de inhibir tanto AChE como BuChE por más tiempo que la Rivastigmina, y además es un inhibidor irreversible y selectivo de MAO B. Actúa como un agente neuroprotector, anti-apoptótico, reductor del estrés oxidativo e inhibidor de citocinas proinflamatorias. Avraham Pharma desarrollo inicialmente este compuesto como tratamiento del Alzheimer, pero tras la fase 2 de estudio modificó su indicación catalogándolo como fármaco capaz de retrasar el deterioro cognitivo leve y prevenir la EA. (9, 10)

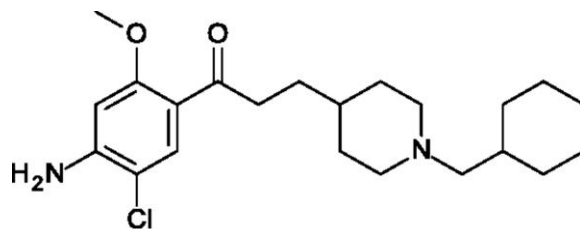


❖ Donecopride:

Compuesto cuya actividad dual se basa en la inhibición de la AchE (Donepezilo) y la actividad agonista parcial frente al receptor de serotonina tipo 4 (5-HT4R) que presenta el sustrato RS67333. Por lo tanto, actúa como un restaurador de la neurotransmisión colinérgica a la vez que estimula el procesamiento no amiloidogénico de la APP (Proteína Precursora del Amiloide), característica de esta patología.

El mecanismo de inhibición mixto de este compuesto y su capacidad para unirse al sitio aniónico periférico de AChE hacen que además tenga un efecto inhibitorio sobre la agregación de β - amiloide.

Su evaluación *in vivo* en estudios posteriores demostró efectos precognitivos con mejora de las capacidades de la memoria, en base a los cuales el Donecopride parece ser un nuevo compuesto muy prometedor como futuro tratamiento para el Alzheimer. (11, 14)



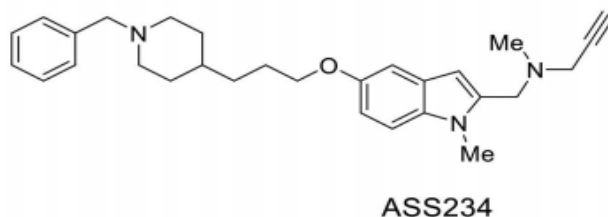
Donecopride (MR31147)

❖ La ASS234:

En 2012 un grupo de investigadores de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y la Universidad de Barcelona (UB) anunciaron el diseño y desarrollo de una molécula multidiana, la ASS234, que en pruebas *in vitro* inhibía la agregación de la proteína β -amiloide a la vez que estimulaba la transmisión colinérgica y monoaminérgica, ambas fundamentales en la función cognitiva. La ASS234 resultó ser una molécula permeable a la barrera hematoencefálica con un elevado perfil multipotente, diseñada a partir del Donepecilo, uno de los fármacos utilizados como tratamiento paliativo y sintomático de la enfermedad (ya mencionado anteriormente).

La ASS234 se desarrolló como un híbrido de dos moléculas conocidas: el donepecilo por un lado y el compuesto PF9601N, un inhibidor de la enzima monoaminoxidasa B (MAO B) patentado y desarrollado por los mismos investigadores de la UAB y del CSIC, con demostrado efecto neuroprotector en diferentes modelos experimentales de la enfermedad de Parkinson. Los investigadores pasaron años trabajando en el diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevas moléculas multipotentes capaces de estimular la transmisión neuronal y que tuviesen a la vez un efecto neuroprotector, y finalmente la ASS234 demostró actuar sobre ambos procesos. Dicha molécula podría ser bastante más eficaz que otros compuestos de referencia por estimular la transmisión neuronal y actuar simultáneamente sobre diferentes dianas cerebrales. Las pruebas *in vitro* realizadas en la UAB demostraron que, además de ser capaz de inhibir las monoaminoxidasas A y B, la ASS234 actuaba también sobre las enzimas acetilcolinesterasa y butirilcolinestera, lo que permite aumentar los niveles de acetilcolina, el neurotransmisor deficitario en el Alzheimer. Los últimos resultados obtenidos además indicaron que la ASS234 también reducía la agregación de la proteína β -amiloide que da lugar a la aparición de las placas seniles características de la enfermedad.

Otros estudios recientes llevados a cabo por investigadores del Instituto Cajal del CSIC y de la Universidad de Lodz (Polonia) han demostrado en ratas que la ASS234 mejora la memoria y atraviesa la barrera hematoencefálica.



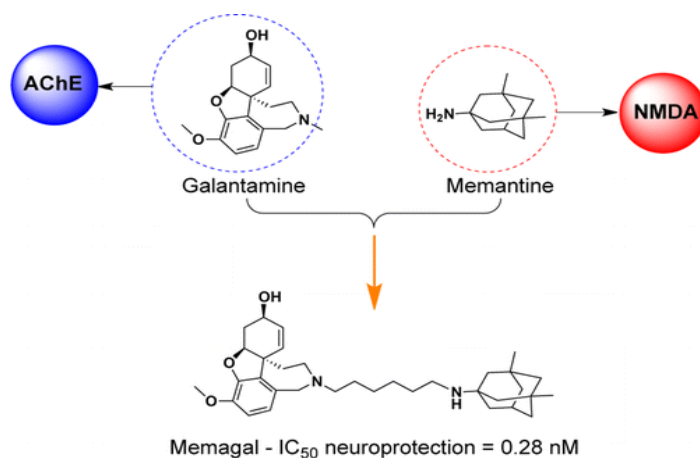
Todas las investigaciones realizadas hasta la fecha ponen de manifiesto que la ASS234 es una molécula multidiana prometedora para su posible uso terapéutico en la enfermedad de Alzheimer. Tal como afirmaron los doctores Unzeta y Marco Contelles, la ASS234 “se revela a priori como un derivado de donepecilo, con sus virtudes, pero además con un potencial farmacológico multipotente y diverso, que podrían hacer de él un fármaco más eficaz para el tratamiento de esta patología”.

La investigación sobre la ASS234 y los resultados obtenidos fueron publicados poco después del anuncio de su descubrimiento en el Journal of Medicinal Chemistry. Actualmente la molécula ya ha sido patentada en Estados Unidos a través de la empresa española Inurrieta Consultoría Integral, y está siendo probada en ratones transgénicos con bastante éxito. (12)

❖ Memagal:

Tras numerosos ensayos con una serie de compuestos multidiana se observó que al combinar un inhibidor de la AchE junto con la Memantina (antagonista del receptor NMDA no competitivo) se potenciaban sus efectos. Los compuestos fueron diseñados aprovechando la estructura cristalina de la acetilcolinesterasa formando complejos con derivados de la galantamina. En total se sintetizaron dieciséis derivados que utilizaban espaciadores de diferentes longitudes y composición química, y que fueron testados como inhibidores de acetilcolinesterasa y agonistas del receptor NMDA. Para todos ellos se comprobó la selectividad hacia el receptor NMDA con la subunidad 2B (NR2B), consiguiendo que algunos demostrasen afinidad micromolar por este subtipo de receptor. Los compuestos seleccionados se analizaron usando un ensayo en células para medir su actividad neuroprotectora y, finalmente, tres de ellos mostraron un notable perfil neuroprotector a concentraciones subnanomolares, inhibiendo la neurotoxicidad inducida por glutamato.

A partir de estos resultados se aisló el Memagal, el cual mostró elevada actividad inhibitoria de AchE además de numerosos efectos neuroprotectores in vitro, y prevención de la muerte neuronal y neurotoxicidad producida por la sobreestimulación de glutamato. (13, 14)



❖ Donepezilo con PF9601N:

Para potenciar la efectividad del Donepezilo (inhibidor de la AchE) se unió a la molécula PF9601N, derivada de propargilamina que actúa como IMAO selectivo para MAO-A. Los resultados bioquímicos confirmaron una fuerte y selectiva actividad como inhibidores de AchE y una moderada, pero selectiva, actividad en cuando a la acción de IMAO-A.

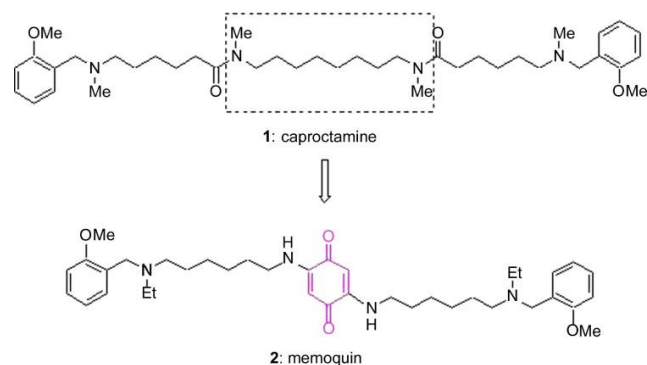
Tras una serie de estudios, se concluyó que lo que potencia la actividad inhibitoria de AchE es la longitud del espaciador que, a su vez, controlará la doble interacción entre estas moléculas (cuando los dos sitios de unión están espacialmente orientados al mismo tiempo se mejora su actividad inhibitoria).

Las alteraciones en otros sistemas de neurotransmisión (serotoninérgicos y dopaminérgicos especialmente) pueden ser los responsables de las alteraciones en la conducta de los pacientes que presentan EA. Por este hecho, los IMAO son un blanco de estudio en la investigación de nuevos híbridos ya que podrían intervenir de forma positiva en el tratamiento de la enfermedad. (14)

❖ Memoquin y sus derivados:

Híbrido formado por un inhibidor de la AchE (Caproctamina) y un antagonista de los receptores muscarinicos M2. Esta idea surgió por la actividad que tenían ambos sobre la Ach. Además de las propiedades colinérgicas, tenía como objetivo añadir a la Caproctamina la capacidad de neutralizar ROS (especies reactivas de oxígeno). Esto sucede al combinarlo con

Idebenona (derivado sintético de la CoQ 10), un potente antioxidante mitocondrial y reconocido protector de las neuronas del hipocampo contra las placas β -amiloides inducidas por neurotoxicidad (se comercializa en Italia para trastornos cognitivos). Para comprobar los múltiples mecanismos de acción de la molécula se llevaron a cabo varios ensayos clínicos *in vitro* e *in vivo* que demostraron la efectividad en cuanto a:

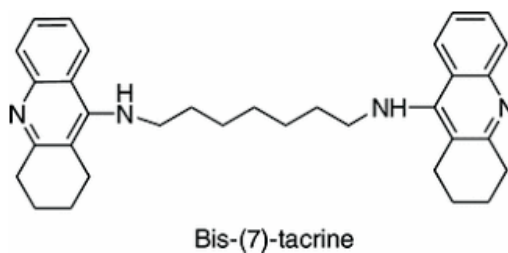


- Actividad antiagregante: en concentraciones de 1 a 50M Memoquin presentó una fuerte inhibición frente a la auto-agregación de los fragmentos amiloideos característicos de la enfermedad de Alzheimer mientras que, en las mismas condiciones experimentales, la galantamina y tacrina (ambos inhibidores de AchE) no mostraron ninguna actividad.
- Actividad inhibidora de β -secretasa: enzima que interviene en la escisión de la proteína APP
- Reducción de la acumulación de β -amiloide: su administración oral produce la disminución de las placas β -amiloideas características de la enfermedad de Alzheimer.
- Reducción de la hiperfosforilación de las proteínas tau

La curcumina es el constituyente principal de la *curcuma longa*, especie vegetal usada en la medicina tradicional india por sus propiedades inhibitorias de la agregación de β -amiloide. La combinación con Memoquin se usó como modelo estructural para generar nuevos análogos que mejoren las propiedades neuroprotectoras de los inhibidores de AchE. Estos compuestos mostraron un buen perfil en cuanto a la actividad inhibitoria de AchE y un efecto modulador en la inhibición de la formación de neurofibrillas. (14, 15)

❖ Dímeros de tacrina:

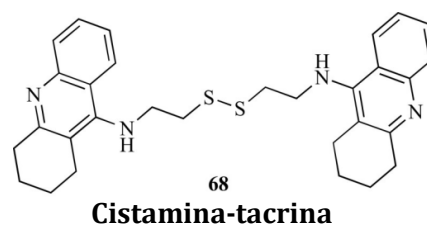
La Bis-tacrina fue el primer homodímero investigado con el objetivo de aumentar la inhibición a AchE presentando en este caso una capacidad inhibitoria 1000 veces mayor que en el caso de la tacrina, retirada del mercado por su elevada hepatotoxicidad y por ser posiblemente carcinogénica. Este hecho se debe a la interacción doble y simultánea con los sitios activos y periféricos de AchE.



Numerosos estudios demostraron que además presentaba otras propiedades beneficiosas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, como la capacidad de inhibir la agregación de β -amiloides, propiedades neuroprotectoras adicionales y efectos sobre los canales de calcio voltaje dependientes.

A algunos derivados del dímero de tacrina se les incorporó una subunidad espaciadora que presenta propiedades como quelante de metales (lo cual está relacionado con la mejora de la patología). Se seleccionaron estructuras con capacidad inhibitoria frente a la AchE y características estructurales (carbonilo y oxalamida) que podrían conducir a la quelación de metales deseada. Los estudios mostraron la capacidad quelante de estos compuestos para el Cu^{2+} y el Fe^{3+}

También se investigó la posibilidad de insertar una fracción de cistamina entre las subunidades de tacrina, y tras su estudio se reveló que presentaba capacidad inhibitoria de AchE y efecto neuroprotector adicional en la línea celular SH-SY5Y contra la lesión oxidativa inducida por ROS. ⁽¹⁴⁾



CONCLUSIÓN

Tras esta revisión bibliográfica podemos extraer las siguientes conclusiones:

- La cura para la enfermedad de Alzheimer está en continua investigación y se dirige inevitablemente hacia la búsqueda y mejora de nuevos fármacos multidiana debido a la particular etiología de esta enfermedad y a que, hasta ahora, la terapia con fármacos monodiana convencionales no ha permitido obtener los resultados deseados.
 - De las dos estrategias actuales para la generación de estructuras “cabeza de serie”, el método de diseño racional es el más efectivo y el que ha permitido hasta la fecha obtener los mayores avances.
 - El número de moléculas con un perfil farmacológico adecuado no para de aumentar y de abrir puertas en el campo de la investigación de nuevos fármacos multidiana. Se espera que en los próximos años puedan comercializarse como terapias innovadoras, lo que supondrá una revolución en la medicina y la industria farmacéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. OMS: <http://apps.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index1.html>
2. Martínez-Gil, A. Medicinal Chemistry of Alzheimer's Disease. 2008
3. www.vademecum.es (búsqueda de Donepezilo, Rivastigmina, Galantamina y Memantina)
4. <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/home.html> (fichas técnicas de Donepezilo, Galantamina, Rivastigmina y Memantina)
5. Medimecum 2016: Guía de terapia farmacológica
6. Galimberti, D.; Scarpini, E. Progress in Alzheimer's disease. J. Neurol. 2012, 259, 201-211.
7. Bajda, M.; Guzior, N.; Ignasik, M.; Malawska, B. Multi-Target-Directed Ligands in Alzheimer's Disease Treatment. Curr. Med. Chem. 2011.
8. Toda N, Kaneko T, Kogen H. Development of an Efficient Therapeutic Agent for Alzheimer's Disease: Design and Synthesis of Dual Inhibitors of Acetylcholinesterase and Serotonin Transporter. Chem. Pharm. Bull [Internet]. 2010
9. <https://www.alzforum.org/therapeutics/ladostigil>
10. Michela Rosini, Elena Simoni, Roberta Caporaso & Anna Minarini . Multitarget strategies in Alzheimer's disease: benefits and challenges on the road to therapeutics. Future Med. Chem. (2016) 8(6), 697–711
11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25157130>
12. <http://www.uab.cat/web/noticias/detalle-de-una-noticia/nuevos-avances-en-farmacos-para-el-tratamiento-del-alzheimer-1099409749848.html?noticiaid=1338791314533>
13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23033965> (Drug Discovery and Development, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, Italy)
14. Tranches Dias KS, Claudio Viegas JR. Multi-Target Directed Drugs: A Modern Approach for Design of New Drugs for the treatment of Alzheimer's Disease. Curr Neuropharmacol; 12 (3):239 - 255.
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4879129/>)
15. Maria Laura Bolognesi, Andrea Cavalli and Carlo Melchiorre. Memoquin: A Multi-Target-Directed Ligand as an Innovative Therapeutic Opportunity for Alzheimer's Disease. Vol. 6, 152–162, January 2009. The American Society for Experimental NeuroTherapeutics, Inc