TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en Farmacia

Caracterización bioinformática de la farmacoterapia de la Enfermedad de Alzheimer

Autor: **Yahia Karioun**

Villaviciosa de Odón, junio 2021

- **AGRADECIMIENTOS.**

A mis profesores,
Por su contribución en mi formación y por haberme transmitido sus conocimientos a lo largo de mi grado en farmacia.

A mi tutor de estancias tuteladas, Miguel,
Por su apoyo, su compromiso personal conmigo y el saber que me ha trasmitido durante mis estancias tuteladas en el Hospital Ruber Juan Bravo.

A mi tutora de TFG, Mayte,
Por su dedicación y ayuda inestimable que me ha proporcionado a lo largo de la elaboración de este TFG

A mis amigos,
Naufel y Safouane, por su ayuda y consejos durante mi carrera; Omar, por el apoyo que me ha dado su amistad a lo largo de mis estudios; Ayoub, por haber defendido mis horas de sueño cuando había demasiado ruido en casa; Mounia, por haber estado a mi lado cuando vivía mis peores momentos; y a todos los demás, que han formado parte de mi vida.

A mi familia,
Mi abuela, Mama Zhor, mis primos, primas, tíos y tías; por haberme animado a ser una mejor versión de mi mismo y crecer como persona.

A mis padres, Amal y Chadia, y mi hermano, Youssef,
Por haber siempre creído en mí, por su amor incondicional, por las lágrimas que me limpiaron y por todo lo que han hecho por mí con el único deseo de verme triunfar en mi vida.

Gracias a todos vosotros por haber estado a mi lado y haberme permitido convertirme en lo que soy.

A mi abuelo, Ahmed Karioun,
Que ha vuelto a reunirse el 5 de febrero de 2021 con la mujer de su vida, mi abuela, Fanida Alioua

Por el amor que nos dieron, les dedico este trabajo.

¿Cuán feliz es la suerte de la inocente vestal? Al mundo olvida y el mundo le olvidó. El eterno resplandor de una mente inmaculada acepta todas las plegarias y renuncia a todos los deseos.

(Alexander Pope)

ÍNDICE

- **RESUMEN.** **4**
- **ABSTRACT.** **4**
- **TABLA DE ABREVIATURAS.** **5**
- **INTRODUCCIÓN.** **6**
  - **A) LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.** 6
  - **B) EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.** 6
  - **C) NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS.** 7
- **OBJETIVOS.** **7**
- **HIPÓTESIS.** **7**
- **METODOLOGÍA.** **8**
- **RESULTADOS Y DISCUSIÓN.** **8**
  - **1. FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.** 8
    - ***1.1. La hipótesis colinérgica.*** *8*
    - ***1.2. La hipótesis amiloide.*** *9*
    - ***1.3. La proteína tau.*** *10*
  - **2. TRATAMIENTOS SINTOMÁTICOS Y MECANISMOS DE ACCIÓN.** 11
    - ***2.1. Inhibidores de la AchE.*** *11*
      - *2.1.1. Donepezilo.* *12*
      - *2.1.2. Galantamina.* *15*
    - ***2.2. Bloqueadores de los receptores NMDA*** *17*
      - *2.2.1 Memantina.* *17*
    - ***2.3. Análisis QSAR de los fármacos sintomáticos.*** *20*
  - **3. TRATAMIENTOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD.** 21
    - ***3.1. Inmunización activa.*** *21*
    - ***3.2. Inmunización pasiva.*** *23*
      - *3.2.1. Aducanumab.* *23*
    - ***3.3. Inhibidores BACE1.*** *25*
      - *3.3.1 Verubecestat.* *25*
- **CONCLUSIONES.** **27**
- **BIBLIOGRAFÍA.** **27**
- **ANEXOS.** **31**

- **RESUMEN.**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia asociada a la edad y se predice un crecimiento exponencial de pacientes afectados en los próximos años debido al envejecimiento global. Debido a su fisiopatología compleja y parcialmente entendida, los tratamientos actualmente disponibles tienen una dimensión esencialmente paliativa y se considera que la EA es una patología crónica e irreversible. El desarrollo de nuevas herramientas bioinformáticas a lo largo del siglo XXI nos permite analizar y predecir los mecanismos biológicos que conducen a la EA, y el planteamiento de nuevas estrategias farmacoterapéuticas. El manejo y entendimiento de estas nuevas tecnologías se han convertido en unas habilidades inestimables para progresar en las esperanzas de encontrar un tratamiento eficaz contra la enfermedad. Este trabajo propone presentar algunas de estas herramientas y sus aplicaciones dentro de lo que supone la investigación sobre la EA.

Palabras clave: Enfermedad de Alzheimer, Bioinformática, docking, Acetilcolinesterasa, NMDA, BACE1, inmunoterapia, βA, proteína tau, PPA, farmacoterapia, ensayos clínicos.

- **ABSTRACT.**

Alzheimer's disease (AD) is the major cause of age-related dementia and the number of affected patients is predicted to grow exponentially in the next years because of the global aging of world's population. Due to its complex and partially understood physiopathology, the actually available treatments have essentially palliative effects, and AD is still considered as a chronic and irreversible affection. The development of new bioinformatic tools through the XXIst century allows us to analyze and predict the biological mechanisms leading to AD, and to plan new pharmacotherapeutical strategies. The understanding and mastering of these new technologies have become priceless skills to progress in the hopes to find a treatment for the disease. This work pretends to present some of these tools and their applications in the AD field.

Keywords: Alzheimer's disease, Bioinformatics, docking, Acetylcholinesterase, NMDA, BACE1, immunotherapy, Aβ, protein tau, APP, pharmacotherapy, clinical trials.

- **TABLA DE ABREVIATURAS.**

EA/AD: Enfermedad de Alzheimer
PPA: Proteina Precursora Amiloide
βA: Beta amiloide
AchE: Acetilcolinesterasa
ONF: Ovillos Neurofibrilares
FHE: Filamentos Helicoidales Emparejados
BACE1: Beta-Secretasa 1
PP2B: Fosfatasa calcineurina dependiente de calcio
NMDA: N-Metil-D-Aspartato
BHE: Barrera Hemato-Encefálica
ADMET: Absorbcion/Distribucion/Metabolizacion/Eliminación/Toxicidad
CL50: Concentración Letal 50
DL50: Dosis Letal 50
EMA: Agencia Europea del Medicamento
FDA: Food and Drug Administration
PDB: Protein Data Bank
QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationship

- **INTRODUCCIÓN.**

A) La enfermedad de Alzheimer.

La enfermedad de Alzheimer (*EA*) es una enfermedad neurodegenerativa crónica y progresiva responsable de una serie de alteraciones de las funciones cerebrales que afectan la memoria, la capacidad de lenguaje, de pensamiento y, en las fases más avanzadas, la capacidad de realizar tareas diarias de manera autónoma (1).

La EA fue descrita por primera vez por el psiquiatra alemán Alois Alzheimer cuando observó en una paciente de 51 años, Auguste Deter, síntomas de paranoia, trastornos de la memoria e irritabilidad emocional. Tras la muerte de su paciente, la disección del cerebro le permitió observar cambios estructurales en forma de atrofia y daños corticales (2).

Alzheimer también puso en evidencia la presencia de alteraciones neurofibrilares y depósitos de placas seniles en las afueras de las neuronas de la Sra. Deter. Con estos descubrimientos, concluyó que la paciente no padecía de ninguna demencia descrita hasta entonces y en 1912, su compañero de trabajo, Emile Kraepelin, dio a la enfermedad su nombre definitivo en honor a su descubridor (2).

Más de 100 años después del primer informe de Alois Alzheimer, la fisiopatología de la EA sigue sin estar explicada por completo, y solo han sido aprobados cinco tratamientos. Sin embargo, se han conseguido entender algunos de los mecanismos fisiopatológicos que han permitido elaborar hipótesis mediante los cuales se dirigen los ensayos clínicos actuales (2).

B) Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer.

Según la OMS, la EA representa entre 60% a 70% de los 50 millones de personas que viven con demencia en 2020. Se prevé que estas cifras se dupliquen en 2030 e incluso puedan llegar a los 120 millones de afectados en 2050. Por otra parte, la OMS también apunta que, en 2013, las demencias costaban anualmente unos 604 mil millones de dólares americanos y se espera que estas cifras sigan aumentando (3).

Estas previsiones, y los cambios demográficos que están por llegar con el envejecimiento global de la población, representan un reto importante para la comunidad científica que sigue trabajando para entender mejor la EA e investigando nuevas estrategias cuya finalidad sea el tratamiento de la enfermedad y no solamente cuidados paliativos (3).

C) Nuevas estrategias terapéuticas.

Debido al aumento de la presión de las actividades humanas sobre el medioambiente y los modelos económicos, se ha estado promocionando medios para fomentar el desarrollo sostenible en el mundo de la investigación farmacéutica.

La necesidad de limitar el sufrimiento animal y la buena gestión de los recursos adjudicados a la investigación científica han dado a los avances tecnológicos un papel crucial para cumplir con las exigencias de una sociedad cada vez más comprometida con el desarrollo sostenible. Uno de los recursos a los que podemos recurrir para cumplir con estos objetivos son las distintas herramientas bioinformáticas disponibles para realizar estudios '*in silico'*. Estas nuevas técnicas nos permiten obtener una multitud de información valiosa mediante el análisis de interacciones biológicas, el cribado virtual de fármacos potenciales o el modelado molecular de fármacos novedosos con sus dianas terapéuticas.

Además, el desarrollo de ordenadores con procesadores de arquitectura ARM, permite elaborar procesos bioinformáticos complejos de manera más económica y ecológica gracias a un ahorro significativo de energía eléctrica frente a los procesadores x64 tradicionales (4).

Aunque los datos adquiridos a partir de los estudios bioinformáticos siguen teniendo que ser confirmados mediante experimentos *in vitro o in vivo*, el conocimiento que se obtiene gracias a ellos permite plantear líneas de investigación más específicas y evitar iniciar proyectos o ensayos destinados a fracasar antes de iniciarlos.

- OBJETIVOS.

El objetivo general de este trabajo es alcanzar una mejor comprensión de las herramientas bioinformáticas disponibles para evaluar fármacos potenciales para el tratamiento de la EA.

Los objetivos secundarios se definen a continuación:

1. Las propiedades farmacocinéticas de los fármacos aprobados y en desarrollo para el tratamiento de la EA.
2. La caracterización bioinformática de la farmacodinamia de estos tratamientos.
3. Definir la relación de estos tratamientos con la fisiopatología clínica de la EA.

- HIPÓTESIS.

El uso de herramientas bioinformáticas en la investigación frente a la EA permite mejorar el entendimiento que tenemos de la enfermedad y elaborar estrategias farmacoterapéuticas innovadoras para el desarrollo de nuevos tratamientos.

- METODOLOGÍA.

Para poder cumplir con los objetivos establecidos, se ha realizado una búsqueda bibliográfica consultando bases de datos como Pubmed, Cochrane, Google Scholar, Medline Compete, Elsevier y SpringerLink.

A partir de la información encontrada, se han realizado una serie de experimentos *'in sillico'* mediante diversos portales bioinformáticos como:

- Protein Data Bank (PDB) (5), es una base datos de estructuras cristalográficas tridimensionales de proteínas y ácidos nucleicos.
- Expasy (6), portal web del Instituto Suizo de Bioinformática con acceso a una multitud de programas y bases de datos de uso académico.
- Mole (7), caja de herramientas bioinformáticas online para la caracterización de poros, canales y cavidades dentro de estructuras proteicas.
- pkCSM (8), servidor web de análisis de perfiles farmacocinéticos.
- ProABC2 (9), servidor web especifico de la caracterización de los paratopos de anticuerpos.
- Ellipro (10), programa en línea desarrollado por el IEDB (Inmune Epitope Database) para la predicción y visualización de epítopos a partir de una estructura tridimensional de un antígeno.

Además, para realizar y procesar los resultados experimentales también se han utilizado softwares de edición y visualización de moléculas como Pymol (11), UCSF Chimera (12), Avogadro (13), MarvinSketch (14); docking por modelado molecular con Autodock Vina (15) y análisis de interacciones con Ligplot (16).

Estas operaciones bioinformáticas han sido realizadas con un ordenador MacBook Air 2021 con un procesador M1 de arquitectura ARM, excepto para los softwares que no eran compatibles (Autodock Vina).

- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

1. Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer.

1.1. La hipótesis colinérgica.

Partiendo de la analogía con la enfermedad de Párkinson, cuya causa se debe a una disminución global de la cantidad de dopamina, surgió la hipótesis de que la EA podía deberse a una disminución de acetilcolina, un neurotransmisor de reconocido rol en la memoria (17). Posteriormente se confirmó que los niveles de acetilcolina estaban disminuidos en los pacientes

con EA y que, además, estaban alteradas otras funciones ligadas a las actividades colinérgicas del cerebro (2).

El hecho de que los pacientes con EA desarrollen ovillos neurofibrilares (ONF) en zonas que almacenan originalmente grandes cantidades de acetilcolina, parecía dar más credibilidad a esta hipótesis colinérgica y se empezaron a plantear y elaborar tratamientos basados en la reposición de los niveles de acetilcolina (2).

Sin embargo, la reducción colinérgica no es más que una consecuencia secundaria de la destrucción neuronal, y se ha podido demostrar que otros neurotransmisores también se ven afectados por la enfermedad por lo que la hipótesis colinérgica perdió su peso en las investigaciones posteriores (2).

A pesar de esto, este planteamiento inicial ha permitido elaborar tratamientos sintomatológicos importantes basados en la reposición colinérgica que siguen vigentes hoy en día. De hecho, de los 6 tratamientos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) para la EA, cuatro de ellos son inhibidores de la acetilcolinesterasa (AchE): tacrina, donepezilo, galantamina y rivastigmina.

En Europa son tres de cuatro: donepezilo, galantamina y rivastigmina. Estos han demostrado, aunque de manera muy limitada, tener un cierto beneficio para la calidad de vida de los pacientes.

1.2. La hipótesis amiloide.

En 1984, George Glenner y Terry Wong (18) descubrieron que las placas seniles acumuladas en el cerebro de los pacientes con EA estaban formadas por la acumulación de una proteína de unos 40 aminoácidos denominada beta-amiloide (βA). A partir de este descubrimiento desarrollaron la hipótesis amiloidea que sugiere que la acumulación de βA es el factor desencadenante de la enfermedad.

Años después, se descubre que βA es un fragmento de una proteína de transmembrana que se encuentra presente en las células cerebrales: la proteína precursora amiloide (PPA). Asimismo, descubren que el gen responsable de la PPA se encuentra en el cromosoma 21, lo que explica que encuentren placas similares en los vasos sanguíneos cerebrales de las personas con Síndrome de Down, puesto que esta enfermedad se caracteriza por la trisomía del par 21 (2,18).

La hipótesis amiloidea cobra más peso aún cuando se evidencian mutaciones del gen para la PPA en formas familiares juveniles de la EA (19). Las acumulaciones de placas seniles se forman de dos tipos de βA de distinta longitud en aminoácidos, βA40 y βA42, y la mutación en el gen de la PPA provoca una mayor proporción de βA42, que tiene una tendencia a acumularse y una toxicidad mayor que βA40 (20).

Sin embargo, las mutaciones en el gen de PPA no explican todas las formas familiares de EA. Posteriormente, se descubrió que otro tipo de mutaciones en el gen que codifica la proteína presinilina 2 también se asocia a formas precoces de la EA (21).

La fragmentación de PPA es catalizada por unas enzimas de tipo secretasas que inducen un proceso proteolítico que rompe la proteína en distintos puntos de su secuencia.

Estas enzimas pueden ser alfa, beta o gama secretasas (22) y se ha demostrado que el gen de la presinilina-2 forma parte del complejo que actúa como una gama secretasa, y, por tanto, permite un aumento de la formación del fragmento βA42 (23). La actividad de la beta-secretasa 1 (BACE1) también provoca la formación de fragmentos amiloidogénicos, ya que su actividad catalítica fragmenta la PPA de forma que pueda ser luego procesada por las gama-secretasas que producirán βA con capacidad de acumulación (24). Por otro lado, la actividad alfa-secretasa, que es la que predomina en condiciones normales, permite el procesamiento de PPA produciendo fragmentos no-amiloidogénicos que no tienen las propiedades de acumulación de las otras vías catalíticas (25).

Estos descubrimientos sobre la formación de las placas amiloideas y la aceptación general de la hipótesis amiloidea son los puntos esenciales en los que se apoyan los intentos de elaborar tratamientos modificadores de la enfermedad por reducción de βA (26–28).

1.3. La proteína tau.

A principios de los años 80, se puso de manifiesto que las alteraciones neurofibrilares que había observado Alois Alzheimer estaban principalmente compuestas por haces de filamentos helicoidales emparejados (FHE) anormalmente fosforilados de proteína tau, una de las proteínas asociadas a microtúbulos (29).

En condiciones fisiológicas normales, la fosforilación de la proteína tau permite regular su unión y separación con los microtúbulos neuronales. Cuando la proteína tau se encuentra hiperfosforilada, aumenta la fracción en forma libre y empiezan a agregarse entre ellas para formar los filamentos helicoidales (30,31).

Aunque las formas familiares de EA apuntan a que el origen de la enfermedad se puede explicar con la hipótesis amiloidea original, los análisis de las lesiones histopatológicas provocadas por las FHE parecen concordar mejor con la neurodegeneración asociada a la EA (32).

Actualmente, con una hipótesis de la cascada amiloidea modificada, se piensa que las formas oligoméricas y solubles de βA son responsables de una compleja cascada de reacciones que, finalmente, producen la muerte neuronal (32–35). Este nuevo planteamiento ha permitido elaborar nuevas estrategias de tratamientos donde se da más importancia al papel patológico de la proteína tau (36). Esta cascada amiloidea provoca lo que se conoce como la tríada

neurodegenerativa (33), donde los oligómeros de βA activan la fosfatasa calcineurina dependiente de calcio (PP2B) a través de los receptores de NMDA (N-Metil-D-Aspartato) (37). Los oligómeros solubles de βA son suficientes para provocar cambios morfológicos dentro de las neuronas afectadas, pero se ha observado que son las acciones conjuntas de βA y los cambios en la proteína tau lo que provoca finalmente la muerte neuronal (38).
La complejidad de esta cascada de reacciones ha permitido determinar varias vías terapéuticas posibles dirigidas contra la formación y acumulación de formas toxicas de la proteína tau tanto río abajo como río arriba (32,36).

2. Tratamientos sintomáticos y mecanismos de acción.

Actualmente, solo cuatro medicamentos han sido aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) de los cuales tres de ellos son inhibidores de la AchE (Donepezilo, Rivastigmina y Galantamina) y el cuarto un inhibidor del receptor NMDA (Memantina) (39).
Los inhibidores de la AchE han demostrado mejorar ligeramente los síntomas asociados a la cognición, el comportamiento y la independencia del paciente con EA leve a moderada.
La memantina, un inhibidor de los receptores NMDA, también ha demostrado ser beneficiosa en síntomas psiquiátricos, cognitivos y de autonomía en formas moderadas a graves de EA.
La combinación de memantina con alguno de los inhibidores de la AchE también puede tener un cierto beneficio respecto a una monoterapia en EA moderada a grave (40).
No hay una diferencia clínica significativa que permita decir que alguno de los tratamientos sintomáticos actualmente disponibles sea mejor que otro, ya que tienen un perfil de seguridad y eficacia bastante similares.
La elección del tratamiento es a criterio del médico prescriptor, basándose en cómo reacciona el paciente y la severidad de sus síntomas. No obstante, en las fases más avanzadas de la EA se suele preferir el donepezilo como inhibidor de la AchE y se valora su combinación con la memantina (2).
A pesar de esto, estos tratamientos no tienen la capacidad de cambiar la progresión de la enfermedad y su beneficio es, por ahora, meramente sintomático (2).
Es por lo tanto necesario definir nuevos tratamientos que permitan avanzar hacia una curación de la EA y, a continuación, se va a realizar la caracterización bioinformática de tres de los tratamientos sintomáticos aprobados: el donepezilo, la galantamina y la memantina.

2.1. Inhibidores de la AchE.

La hipótesis colinérgica, a pesar de su posterior declive, asentó las bases de los primeros intentos terapéuticos para tratar la enfermedad.

Partiendo del principio de que la EA provoca una disminución global de acetilcolina, intentar aumentar su disponibilidad podía ser beneficioso para los pacientes con EA (2). Una de las dianas terapéuticas para alcanzar este objetivo de reposición colinérgica es la AchE: la enzima responsable de descomponer la acetilcolina en la sinapsis neuronal. Su bloqueo mediante fármacos inhibidores supone el aumento de la disponibilidad en acetilcolina (41).

2.1.1. Donepezilo.

El donepezilo **(Figura 1)** es un inhibidor reversible de la AchE, desarrollado en 1996 (41,42). Está disponible en dosis de 5 mg o 10 mg en comprimidos orales o en comprimidos bucodispersables. Se inicia el tratamiento con una dosis inicial de 5 mg/día inmediatamente antes de acostarse. Después de un mes de tratamiento, se puede aumentar la dosis hasta un máximo de 10 mg/día (43).

Estructura química del donepezilo.

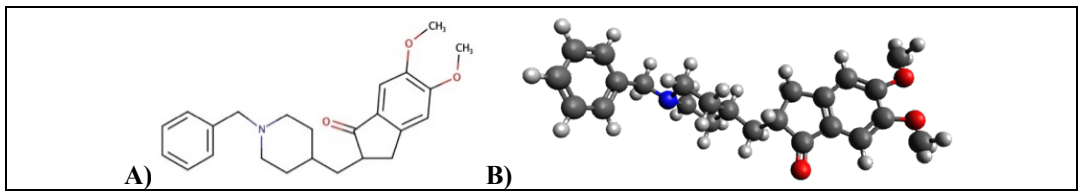


Figura 1. ***A)*** *Estructura 2D de donepezilo. Realizado con MarvinSketch* (14) ***B)*** *Estructura 3D tras minimización de energía, realizada con Avogadro* (13).

Farmacocinética del donepezilo.

Para caracterizar las propiedades farmacocinéticas del donepezilo, y del resto de medicamentos tratados en este trabajo, se ha realizado unos análisis bioinformáticos utilizando los servidores de pkCSM (8) y SWISS-ADME (6) y se han comparado con los datos experimentales que se dispone.

El análisis farmacocinético **(Tabla 1)** nos permite predecir una excelente absorción oral para el donepezilo y una solubilidad en agua moderada.

Los datos de distribución demuestran que el fármaco tiene una unión muy fuerte con las proteínas plasmáticas (95% según la ficha técnica, 100% según pkCSM) y tiene una excelente permeabilidad frente a la barrera hemato-encefálica (BBB Permeability).

Respecto al metabolismo, los programas predicen que el donepezilo es un inhibidor de los citocrómos P2D6 y P3A4 (Confirmado por los datos experimentales), lo que nos indica que debemos tener en cuenta las posibles interacciones con otros medicamentos sustratos de estos citocromos (como puede ser la fluoxetina) (43).

Según el programa del pkCSM, la DL50 (Dosis Letal 50) en ratas correspondería a 2,753 mol/kg, lo que equivaldría a más de 1 kg de fármaco por kg corporal. Esta dosis no tiene ningún sentido desde el punto de vista farmacéutico y no se adecua a la realidad experimental.
Para los análisis posteriores, se ha decidido descartar los resultados de DL50 y utilizar la CL50 (Concentración Letal 50) de *Pimephales Promelas* para valorar la toxicidad.
En el caso del donepezilo, esta CL50 predice un potencial de toxicidad aguda alto, coherente con la DL50 real del donepezilo (32,6 mg/kg) (43).
Se tiene que tomar en cuenta también que los análisis farmacocinéticos se realizan comparando la molécula de interés con una base de datos mediante su código SMILES. Este formato representa las moléculas de forma plana por lo que no toma en cuenta sus características tridimensionales, lo que puede generar diferencias significativas con la realidad experimental.

	pkCSM	**SwissADME**
Solubilidad en agua	-4,643 (log mol/L)	-4,81 (log mol/L)/ Moderadamente soluble
Absorción Intestinal	93,707 (% absorbido)	Alta (Categórico)
Permeabilidad a Caco-2[1]	1,273 (log Papp en 10^{-4} cm/s)	-
Permeabilidad BHE[2]	0,157 (Log BB)	Sí (Categórico)
Fracción unida a proteínas plasmáticas	100 (%)	-
Volumen de distribución	1,266 (Log L/kg)[3]	-
Citocromos inhibidos	CYP2D6/CYP3A4	CYP2D6/CYP3A4
Aclaramiento renal	0,987 (log ml/min/kg)	-
Hepatoxocidad	Sí (Categórico)	-
CL50[4] (Pimephales Promelas)	-2,011 (log mM)	-
''Druglikeness''[5]	-	Sí (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge)

1: Caco-2 es un modelo in vitro de la mucosa intestinal. Un valor por encima de 0,90 predice una buena absorción intestinal.
2: Un valor LogBB por encima de 0,3 predice una buena permeabilidad de la BHE y una mala distribución cuando está por debajo de -1.
3: Un valor de volumen de distribución se considera alto por encima de 0,45.
4: Es la concentración mínima que provoca la muerte de 50% de los peces de la especie *Pimephales promelas*. Fármacos con valores de log por debajo de -0,3 tienen una toxicidad aguda importante.
5: Es el potencial que tiene una molécula para servir como fármaco según distintos modelos (Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge).

Tabla 1. *Predicciones de las propiedades farmacocinéticas del donepezilo obtenidos a partir de las bases de datos de pkCSM y SwissADME. Elaboración propia, según el protocolo de Avram et al* (44).

Características farmacodinámicas del donepezilo.

Una búsqueda en la base de datos de PDB (Protein Data Bank) nos ha permitido encontrar una estructura cristalográfica de la AchE ligada al donepezilo (**Figura 2.A** PDB ID: 4EY7 (45)).
Para poder observar y analizar las interacciones del fármaco, se ha procesado la proteína (cristalizada en forma de dímero en el archivo original) con el programa UCSF Chimera (12) para guardar únicamente la unidad monomérica biológicamente activa junto al donepezilo libre de solvente. En los seres humanos la AchE funciona como un tetrámero (46).
Después de curar el archivo PDB, utilizamos el programa PyMol para observar las características tridimensionales de la enzima y, gracias al plug-in "h_color" podemos observar

la superficie proteica con las zonas hidrofóbicas destacadas en rojo **(Figura 2.A)**. Esta perspectiva nos permite observar un "pocket" (bolsillo) proteico en el que se ha alojado el donepezilo.

El análisis posterior con Ligplot **(Figura 2. B.)** nos permite tener una visión más detallada de las interacciones directas entre el ligando y la proteína.

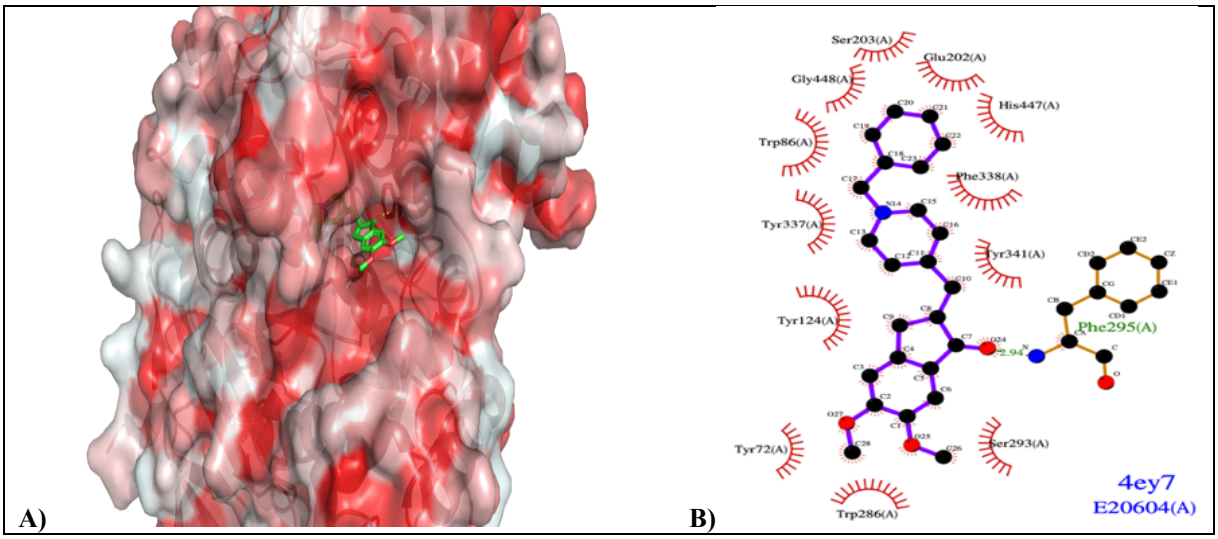


Figura 2. *Propiedades farmacodinámicas del donepezilo.* ***A)*** *Estructura cristalográfica de la AchE (PDB ID: 4EY7* (45)*) en complejo con donepezilo dentro de su "pocket".* ***Elaborado con PyMol (11).*** ***B)*** *Esquema Ligplot* (16) *de las interacciones del donepezilo con la AchE.*

Teniendo en cuenta que la triada catalítica de la enzima para la acetilcolina está formada por los aminoácidos **S203, E334 y H447 (Figura 3)** (47), podemos predecir, a partir de estos resultados, el carácter no-competitivo del donepezilo para la inhibición de la AchE, bloqueando el acceso del sustrato a su sitio de acción.

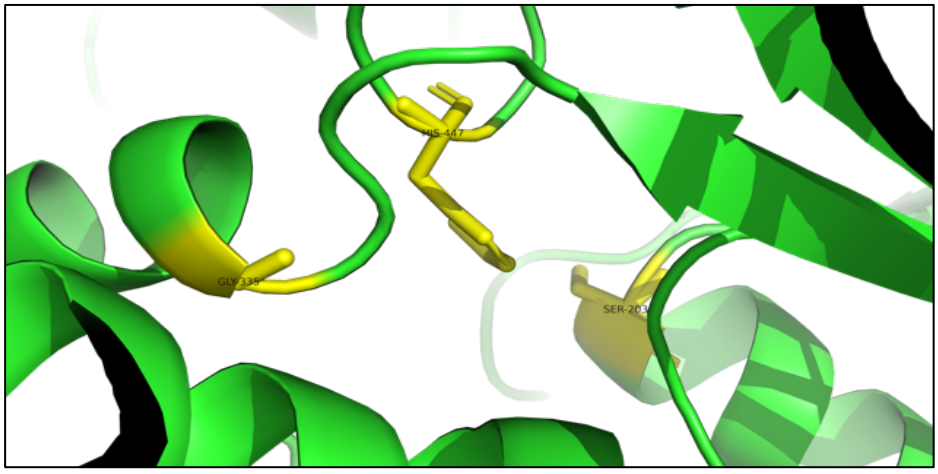


Figura 3. *Tríada catalítica (Ser203, Gly335 e His447; en amarillo) del sitio de unión de la Acetilcolina. Estructura cristalográfica de AchE en estado nativo (PDB ID: 4EY4* (45)*). Elaborado con PyMol (11).*

2.1.2. Galantamina.

La galantamina **(Figura 4)** es un alcaloide terciario inhibidor reversible y competitivo de la AchE que, además, tiene la capacidad de modular positivamente los receptores colinérgicos nicotínicos cuya estimulación se ve afectada por la disminución global en acetilcolina (2,48).
Está particularidad de la galantamina, que no comparte con ningún otro Inhibidor de la AchE, le confiere además efectos neuroprotectores que favorecen el aclaramiento de βA y contribuye a una disminución significativa de la mortalidad de los pacientes tratados con galantamina frente a placebo (49).
La galantamina se encuentra en España en forma de cápsulas de liberación prolongada (de 8 mg, 16 mg o 24 mg) o en solución oral de 4 mg/ml (50).
La posología inicial es de una toma única de 8 mg al día el primer mes de tratamiento con un aumento gradual todos los meses hasta llegar a 16 mg o 24 mg al día (40).

Estructura química de la galantamina.

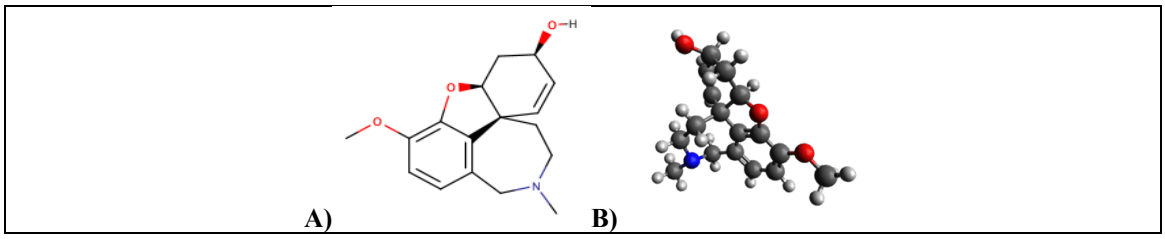


Figura 4. *A) Estructura 2D de la galantamina realizado con MarvinSketch* (14). ***B)*** *Estructura 3D tras minimización de energía elaborada con Avogadro* (13).

Farmacocinética de la galantamina.

Desde el punto de vista farmacocinético (**Tabla 2)**, la galantamina tiene una permeabilidad aceptable de la barrera hemato-encefálica. Es bastante soluble en medio acuoso y tiene una buena absorción oral, cercana a lo que se indica en la ficha técnica (94 % frente a 88%).
Igualmente, el programa predice una cierta toxicidad hepática que confirman los datos técnicos con el listado de efectos adversos de frecuencia variable como el aumento de enzimas hepáticas y casos raros de hepatitis (50).
Existen discrepancias entre las dos herramientas de análisis de ADMET (Absorción-Distribución-Metabolización-Eliminación-Toxicidad) en cuanto a su metabolismo, pero, según la ficha técnica, se podría explicar por su carácter parcial y, la información experimental nos indica que es substrato de los CYP3A4 (Citocromo P450 3A4) y CYP2D6 (Citocromo P450 2D6).
Sin embargo, cabe destacar que existe una diferencia muy importante en algunos datos de la predicción con la realidad práctica, como son el aclaramiento y el volumen de distribución, que

están, respectivamente, por debajo y por encima de lo que se ha establecido experimentalmente (50).

	pkCSM	SwissADME
Solubilidad en agua	-2,641 (log mol/L)	-2,93 (log mol/L) Soluble
Absorción Intestinal	94,994 (% absorbido)	Alta (Categórico)
Permeabilidad a Caco-2[1]	1,594 (log Papp en 10^{-4} cm/s)	-
Permeabilidad BHE[2]	-0,081 (Log BB)	Sí (Categórico)
Fracción unida a proteínas plasmáticas	96,4 (%)	-
Volumen de distribución	0,89 (Log L/kg)[3]	-
Citocromos inhibidos	No	CYP2D6
Aclaramiento renal	0,991 (log ml/min/kg)	-
Hepatoxocidad	Sí (Categórico)	-
CL50[4] **(Pimephales Promelas)**	1,675 (log mM)	-
"Druglikeness"[5]	-	Sí (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge)

1: Caco-2 es un modelo in vitro de la mucosa intestinal. Un valor por encima de 0,90 predice una buena absorción intestinal.
2: Un valor LogBB por encima de 0,3 predice una buena permeabilidad de la BHE y una mala distribución cuando está por debajo de -1.
3: Un valor de volumen de distribución se considera alto por encima de 0,45.
4: Es la concentración mínima que provoca la muerte de 50% de los peces de la especie *Pimephales promelas*. Fármacos con valores de log por debajo de -0,3 tienen una toxicidad aguda importante.
5: Es el potencial que tiene una molécula para servir como fármaco según distintos modelos (Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge)

Tabla 2. *Predicciones de las propiedades farmacocinéticas de la galantamina obtenidos a partir de las bases de datos de pkCSM y SwissADME. Elaboración propia, según el protocolo de Avram et al* (44).

Características farmacodinámicas de la galantamina.

Podemos observar como la galantamina se introduce en la misma hendidura proteica en la que actúa el donepezilo **(Figura 5.A)**. Sin embargo, el esquema Ligplot **(Figura 5.B)** muestra interacciones con dos de los aminoácidos de la tríada catalítica de la AchE (**Ser203 y Glu202**) que confirma el carácter competitivo del mecanismo de acción de la galantamina.
Este tipo de interacciones sugiere que existe cierta semejanza estructural con el sustrato original **(Figura 6)**, explicando, de esta forma, el efecto agonista que tiene la galantamina sobre el receptor colinérgico nicotínico.

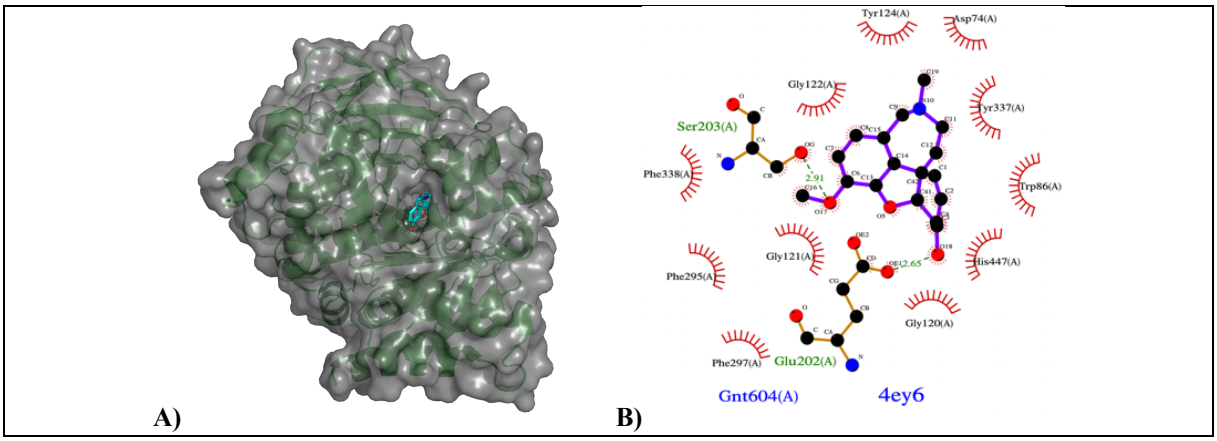


Figura 5. ***A)*** *Estructura cristalográfica de la AchE (PDB ID: 4EY6* (45)*) en complejo con galantamina. Elaborado con PyMol* (11). ***B)*** *Esquema Ligplot de las interacciones entre la AchE y la galantamina.*

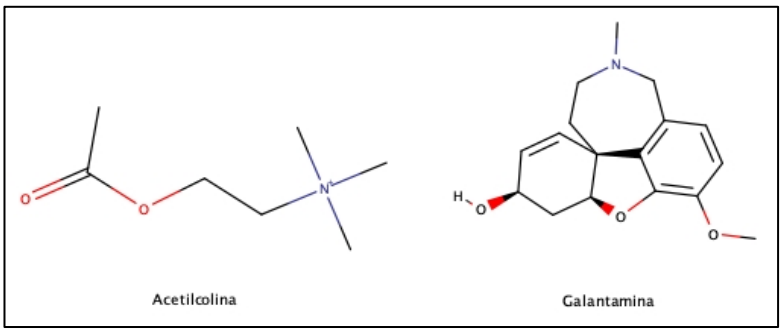


Figura 6. *Estructuras químicas de la acetilcolina y la galantamina realizadas con MarvinSketch (14).*

2.2. Bloqueadores de los receptores NMDA

2.2.1 Memantina.

La memantina **(Figura 7)** es un medicamento bloqueador del receptor NMDA dependiente del voltaje (2).

En su conformación activada por el glutamato, el receptor NMDA permite el paso de un flujo de iones cálcicos responsables de una cascada de reacciones intracelulares. Cuando la neurona está en reposo, la salida del canal está bloqueada por un ion Mg^{2+} que impide el flujo de calcio, por lo que el receptor NMDA funciona en tándem junto a otros receptores neuronales despolarizantes como los receptores AMPA o kainato (2).

El mecanismo de acción de la memantina actúa de forma similar al ion Mg^{2}+, bloqueando de forma no-competitiva y voltaje-dependiente la salida del poro de los receptores NMDA anormalmente activados (51).

La memantina es un fármaco aprobado por la EMA para tratar la EA y se presenta en forma de comprimidos orales (5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg), en comprimidos bucodispersables (10 mg o 20 mg) y en solución oral de 10 mg/ml (52).

El tratamiento se inicia con 5 mg/día durante la primera semana con un aumento de 5 mg cada semana hasta los 20 mg/día en una o dos dosis. Si el paciente sufre de insuficiencia renal se recomienda subir solo hasta 10 mg/día (40).

<u>Estructura química de la memantina.</u>

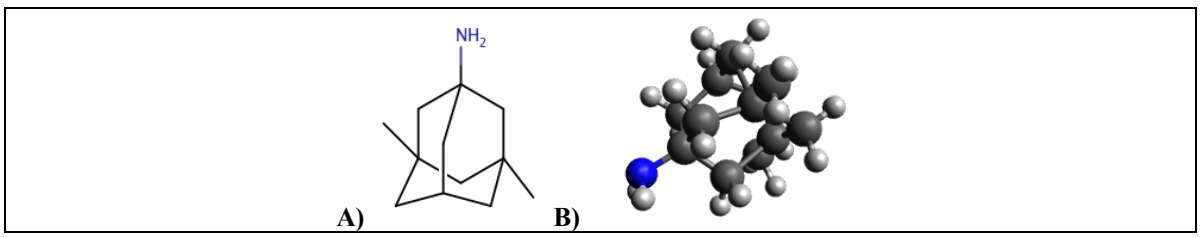


Figura 7. ***A)*** *Estructura 2D de la galantamina realizada con MarvinSketch* (14). ***B)*** *Estructura 3D tras minimización de energía. Realizada con Avogadro* (13).

Farmacocinética de la memantina.

El análisis farmacocinético de la memantina **(Tabla 3)** predice una muy buena absorción oral (91% en la simulación frente a casi 100% en la ficha técnica) y presenta una permeabilidad alta a la BHE.

El programa estima una fracción unida a las proteínas plasmáticas de 40% (cercano a los 45% observados experimentalmente) y no inhibe ninguno de los citocromos del metabolismo. El análisis ''in silico'' indica que es un sustrato de CYP3A4, pero los estudios in vitro no han detectado metabolismo por ningún citocromo P450 (52).

La memantina tiene un aclaramiento previsto de 3,53 ml/min/kg, que se acerca bastante a los 170 ml/min/1,74 m^2 observados (52).

	pkCSM	**SwissADME**
Solubilidad en agua	-2,317 (log mol/L)	-3,02 (log mol/L) Soluble
Absorción Intestinal	91,234 (% absorbido)	Alta (Categórico)
Permeabilidad a Caco-2[1]	1,329 (log Papp en 10^{-4} cm/s)	-
Permeabilidad BHE[2]	0,603 (Log BB)	Sí (Categórico)
Fracción unida a proteínas plasmáticas	40 (%)	-
Volumen de distribución	0,988 (Log L/kg)[3]	-
Citocromos inhibidos	No	No
Aclaramiento renal	0,548 (log ml/min/kg)	-
Hepatoxocidad	No (Categórico)	-
CL50[4] (Pimephales Promelas)	1,426 (log mM)	-
''Druglikeness''[5]	-	Sí (Lipinski, Ghose, Veber, Egan)

1: Caco-2 es un modelo in vitro de la mucosa intestinal. Un valor por encima de 0,90 predice una buena absorción intestinal.
2: Un valor LogBB por encima de 0,3 predice una buena permeabilidad de la BHE y una mala distribución cuando está por debajo de -1.
3: Un valor de volumen de distribución se considera alto por encima de 0,45.
4: Es la concentración mínima que provoca la muerte de 50% de los peces de la especie *Pimephales promelas*. Fármacos con valores de log por debajo de -0,3 tienen una toxicidad aguda importante.
5: Es el potencial que tiene una molécula para servir como fármaco según distintos modelos (Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge)

Tabla 3. *Predicciones de las propiedades farmacocinéticas de la memantina obtenidos a partir de las bases de datos de pkCSM y SwissADME. Elaboración propia, según el protocolo de Avram et al* (44).

Características farmacodinámicas de la memantina.

No se dispone actualmente de ninguna estructura cristalográfica del receptor NMDA que esté ligada con la memantina y disponible de manera pública. Por tanto, para poder observar las interacciones farmacodinámicas, se ha realizado un docking molecular de la memantina con el programa Autodock Vina (15) que permite calcular varias conformaciones de la memantina en una zona del complejo proteico delimitada.

El sitio de unión de la memantina se sitúa en el dominio M2 de la subunidad GlnR2 del receptor NMDA, cercano a **N220** (51). Autodock Vina genera una serie de conformaciones posibles de la memantina en el sitio de unión a partir de una posición aleatoria.

El programa clasifica las diferentes conformaciones de la memantina según su estabilidad energética y nos permite visualizarlas.

La conformación energéticamente más estable que ha generado el docking discrepaba mucho con el resto de conformaciones generadas y no correspondía demasiado con los datos bibliográficos (51). Esto podría deberse a aspectos no cubiertos por la simulación como puede ser la ausencia de solvente o la presencia de los cofactores de la NMDA (51).

En estas circunstancias, se eligió la conformación que mejor se aproxima a la realidad experimental **(Figura 8)**.

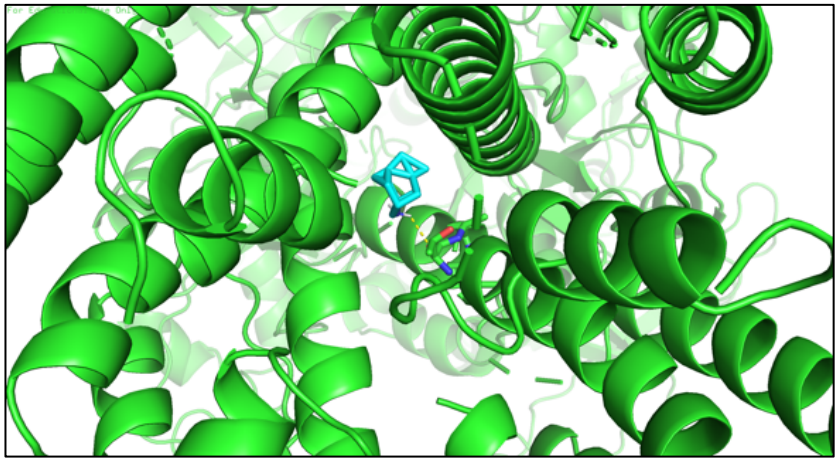


Figura 8. *Estructura cristalográfica del receptor NMDA (PDB ID: 6IRA* (53)*) junto a la memantina después de haber realizado un ensayo de docking con Autodock Vina (15). Elaborado con PyMol (11).*

Tras los ensayos de docking se analizaron los efectos de la unión de la memantina al receptor NMDA, analizando la proteína nativa en su estado abierto (PDB ID: 6IRA (53)) gracias al programa de análisis de canales MOLE (7) **(Figura 9)**, que proporciona datos fisicoquímicos de los poros que predice (longitud, tamaño del poro, hidrofobicidad…).

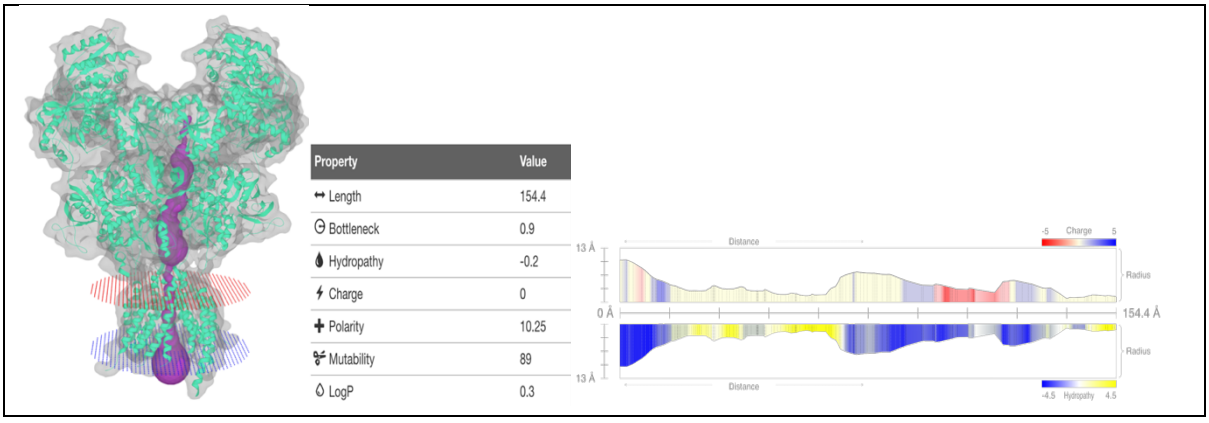


Figura 9. *Resultados del análisis bioinformático de las características del poro del receptor NMDA en su conformación nativa con Mole (7).*

A continuación, se ha realizado el mismo análisis de los poros de transmembrana con el mismo archivo de la misma proteína (PDB ID: 6IRA (53)) pero, esta vez, con la memantina en la posición que nos ha dado la simulación de docking **(Figura 10)**.

En este caso, hemos elegido la tercera conformación generada por Autodock Vina, ya que, a pesar de no ser el más estable energéticamente, es el que mejor representa la realidad experimental, en cuanto a posición e interacciones (51).

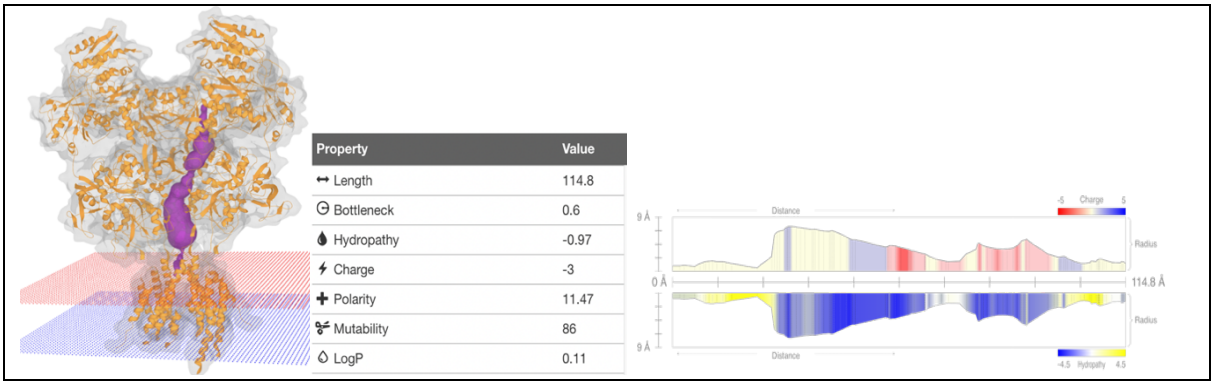


Figura 10. R*esultados del análisis bioinformático de las características del poro del receptor NMDA después del ensayo de docking con la memantina con Mole.*

Estos resultados nos muestran de manera visual y sencilla, los efectos antagonistas de la unión de la memantina al receptor NMDA y como bloquea el flujo de iones cálcicos para ejercer su acción farmacológica.

2.3. Análisis QSAR de los fármacos sintomáticos.

Los fármacos que ya han sido aprobados para la EA también pueden servir de base para el cribado virtual de nuevos tratamientos que tengan un mecanismo de acción similar.

Para realizar este tipo de cribados, podemos utilizar bases de datos o servidores que utilizan algún método QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship).

Los modelos QSAR se basan en la idea de que la estructura química de un compuesto determina su actividad farmacológica y que una modificación de esta estructura puede afectar esa misma actividad (44). Partiendo de este principio, un análisis de comparación de similitud entre un tratamiento aprobado y una base de datos de compuestos químicos con aplicación potencial puede suponer una estrategia muy útil para el descubrimiento de nuevos fármacos para la EA.

El Instituto Suizo de Bioinformática (6), pone a disposición un servidor web, Swiss Similarity, que nos da acceso a varios métodos comparativos basados en QSAR frente a varias bases de datos. Los métodos más sencillos, 2D-QSAR, suelen tardar unos pocos segundos y comparan nuestra ‘’query’’ a partir de la similitud en peso molecular, naturaleza atómica, número de

enlaces etc. Otros métodos de 3D-QSAR, pueden tardar varios minutos y consideran interacciones espaciales, fuerzas electrostáticas, hidrofóbicas etc.
Para este trabajo, hemos realizado un análisis 3D-QSAR (Spectrophore) a través del servidor web de Swiss Similarity comparándolo con la base de datos de ZINCDrugLike (10 millones de compuestos químicos). Los resultados brutos del análisis están disponibles en el anexo (**Anexo)**.
Estos resultados pueden ser luego descargados localmente para construir una base de datos propia con la que podemos hacer docking molecular mediante Autodock Vina para determinar cuáles son las que mejor interactúan con nuestra diana terapéutica, tanto de manera espacial como funcional.

3. Tratamientos modificadores de la enfermedad.

Los tratamientos actualmente aprobados para la EA, a pesar de mejorar modestamente la calidad de vida de los pacientes, siguen siendo terapias sintomáticas que no influyen en la progresión de la enfermedad (exceptuando la muy reciente autorización del Aducanumab (54)). Sin embargo, el último fármaco autorizado por la EMA fue la memantina hace 19 años (2002), lo que revela la dificultad para encontrar fármacos eficaces para el tratamiento de la EA (55).
Dicho esto, el progreso y los recursos adjudicados a la investigación de esta enfermedad ha permitido caracterizar mejor los mecanismos moleculares de la EA. De hecho, gracias a los descubrimientos realizados a mediados de la última década, se han desarrollado diferentes estrategias terapéuticas basadas en la interferencia con la cascada amiloidea o con la formación de depósitos de proteína tau y que se describen a continuación (26,34,36,56).

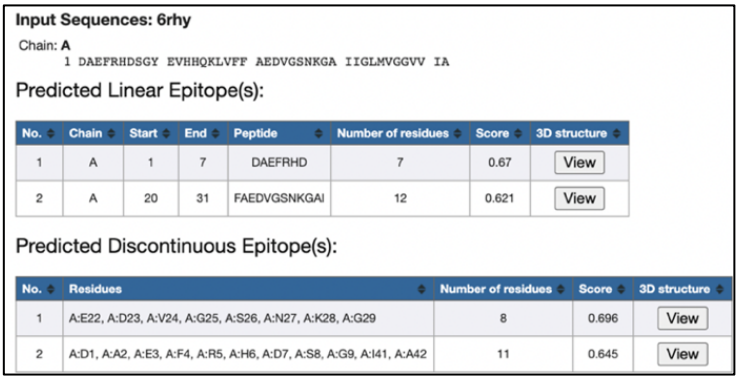
3.1. Inmunización activa.

Una de las estrategias terapéuticas valoradas es la de la inmunización activa gracias al desarrollo de una vacuna frente a βA o la proteína tau.
El primer intento de desarrollar una vacuna (AN-1792) utilizó como epítopo βA42 en su longitud total, pero, a pesar de unos resultados prometedores en cuanto a aclaramiento de los depósitos amiloideos, los ensayos clínicos fueron discontinuados debido a la aparición de meningoencefalitis graves en 6% de los pacientes vacunados (27).
Actualmente, existen varios ensayos clínicos con vacunas dirigidas contra secuencias proteicas de tau o de βA (32).
El desarrollo de vacunas puede, sin duda, beneficiarse de las herramientas bioinformáticas disponibles. Por ello, se ha utilizado uno de estos programas elaborado por el IEDB, Ellipro (10), que consiste en elaborar predicciones de epítopos, destacando las secuencias del antígeno que mayor inmunogenicidad nos pueda proporcionar.

Ellipro basa su predicción en las secuencias que van a generar mayor inmunogenicidad mediada por linfocitos B según su accesibilidad y características tridimensionales. Además, una de las ventajas frente a otros programas es que genera tanto epítopos lineares como discontinuos.

El servidor del IEDB también incluye herramientas de predicción de epítopos de linfocitos T que no se han utilizado en este trabajo debido a las sospechas de que son responsables de las reacciones adversas a AN-1792 (57).

Una de las observaciones que se puede hacer a partir de estos resultados **(Figura 11)**, es la importancia del epítopo βA1-7 a partir del cual se han desarrollado varios proyectos de vacunas, como la ACC-001 (Janssen's), CAD-106 (Novartis) y Affitope AD02 (Affiris AG) (56). La vacuna de Janssen, sin embargo, fue discontinuada en el 2013 por falta de eficacia (58).



Input Sequences: 6rhy

Chain: **A**

1 DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AEDVGSNKGA IIGLMVGGVV IA

Predicted Linear Epitope(s):

No.	Chain	Start	End	Peptide	Number of residues	Score	3D structure
1	A	1	7	DAEFRHD	7	0.67	View
2	A	20	31	FAEDVGSNKGAI	12	0.621	View

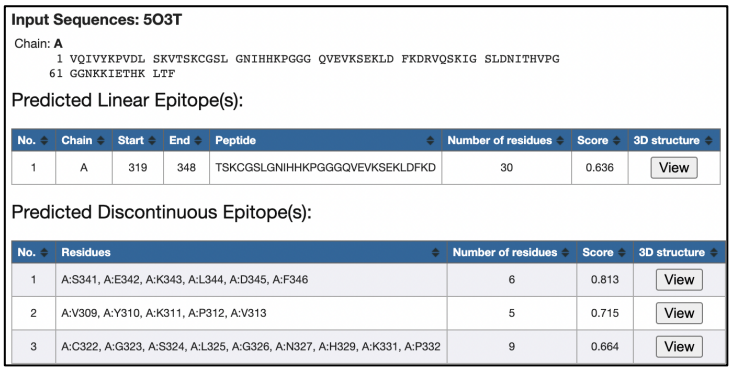
Predicted Discontinuous Epitope(s):

No.	Residues	Number of residues	Score	3D structure
1	A:E22, A:D23, A:V24, A:G25, A:S26, A:N27, A:K28, A:G29	8	0.696	View
2	A:D1, A:A2, A:E3, A:F4, A:R5, A:H6, A:D7, A:S8, A:G9, A:I41, A:A42	11	0.645	View

Figura 11. *Predicción de epítopos de βA42 (PDB ID: 6RHY* (59)*) con Ellipro (10).*

La predicción de epítopos contra la proteína tau **(Figura 12)** también es otra estrategia terapéutica de la inmunización activa. Podemos observar en este análisis Ellipro de filamentos patológicos los epítopos potenciales.

Entre estos resultados posibles, podemos destacar la presencia de la secuencia de AADVac1 (HXPGGG), originalmente determinada mediante experimentos in vitro con anticuerpos monoclonales. Esta vacuna de Axon Neurosciences ha mostrado resultados prometedores en modelos animales y sigue sometida a ensayos de fase II (34).



Input Sequences: 5O3T

Chain: **A**

1 VQIVYKPVDL SKVTSKCGSL GNIHHKPGGG QVEVKSEKLD FKDRVQSKIG SLDNITHVPG

61 GGNKKIETHK LTF

Predicted Linear Epitope(s):

No.	Chain	Start	End	Peptide	Number of residues	Score	3D structure
1	A	319	348	TSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKD	30	0.636	View

Predicted Discontinuous Epitope(s):

No.	Residues	Number of residues	Score	3D structure
1	A:S341, A:E342, A:K343, A:L344, A:D345, A:F346	6	0.813	View
2	A:V309, A:Y310, A:K311, A:P312, A:V313	5	0.715	View
3	A:C322, A:G323, A:S324, A:L325, A:G326, A:N327, A:H329, A:K331, A:P332	9	0.664	View

Figura 12. *Predicción de epítopos de un fragmento incompleto de la proteína tau (PDB ID: 5O3T* (60)*) con Ellipro (10).*

3.2. Inmunización pasiva.

Otro planteamiento terapéutico prometedor para tratar la EA es el de la inmunización pasiva mediante la inyección exógena de anticuerpos monoclonales dirigidos contra βA o la proteína tau (61).

3.2.1. Aducanumab.

De todos los anticuerpos monoclonales en investigación, el aducanumab de la firma Biogen es sin lugar a duda el que más expectativas ha generado estos últimos años.

Se trata de un anticuerpo monoclonal humano IGG1 que se ha diseñado a partir de los linfocitos circulantes de pacientes ancianos que mostraron poca o ausencia total de signos de deterioro cognitivo (62). Se dirige tanto a las formas solubles como insolubles de βA (63).

El análisis de las estructuras PDB (**(Figura 13)** PDB ID : 6CO3 (64)) del aducanumab, cristalizado con su antígeno, nos permite observar la unión del anticuerpo con la secuencia de aminoácidos βA_{2-7}, que forma parte de los epítopos que ya habíamos predicho con Ellipro **(Figura 11)**. Igualmente, la representación de la estructura entera de βA en su conformación aglomerada **(Figura 14)** nos permite visualizar los sitios de unión del aducanumab con el antígeno de manera más completa.

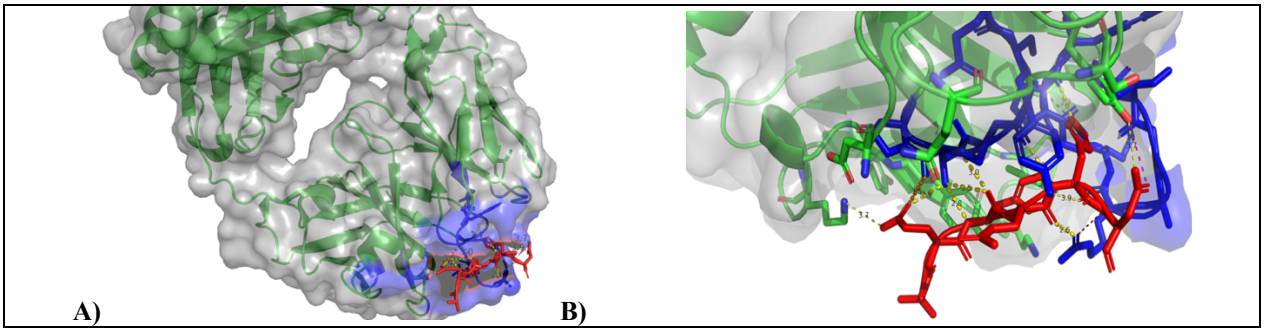


Figura 13. A) *Estructura cristalográfica del aducanumab junto a un fragmento del antígeno (PDB ID: 6CO3* (64)*) con el paratopo en azul y el epítopo en rojo Elaborado con PyMol (11).* ***B)*** *Estructura cristalográfica del aducanumab junto a un fragmento del antígeno (PDB ID: 6CO3* (64)*) con el paratopo en azul y el epítopo en rojo. Interacciones anticuerpo-antígeno en primer plano. Elaborado con PyMol (11).*

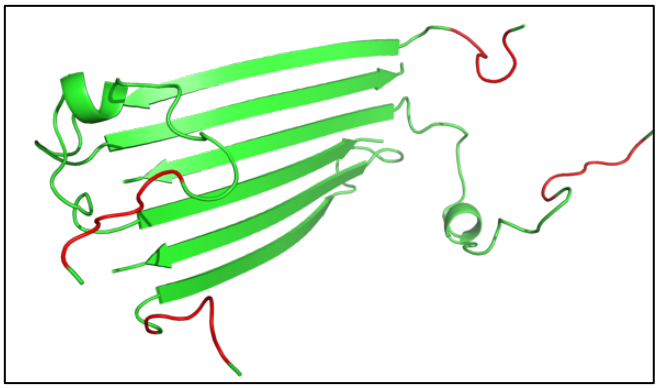


Figura 14. *Estructura cristalográfica de βA (PDB ID: 6RHY* (59) *aglomerada con el epítopo en rojo. Elaborado con PyMol (11).*

Además, podemos utilizar el programa ProABC2 (9), de la universidad de Utrecht, para realizar predicciones del paratopo del aducanumab **(Figura 15)**.

Para ello, necesitamos computar en el servidor las secuencias de aminoácidos de las cadenas ligera y pesada del anticuerpo monoclonal (disponibles en formato FASTA en PDB).

Después de su ejecución, el programa genera unas tablas que nos permiten observar las probabilidades que tienen los distintos residuos del anticuerpo para formar parte del paratopo.

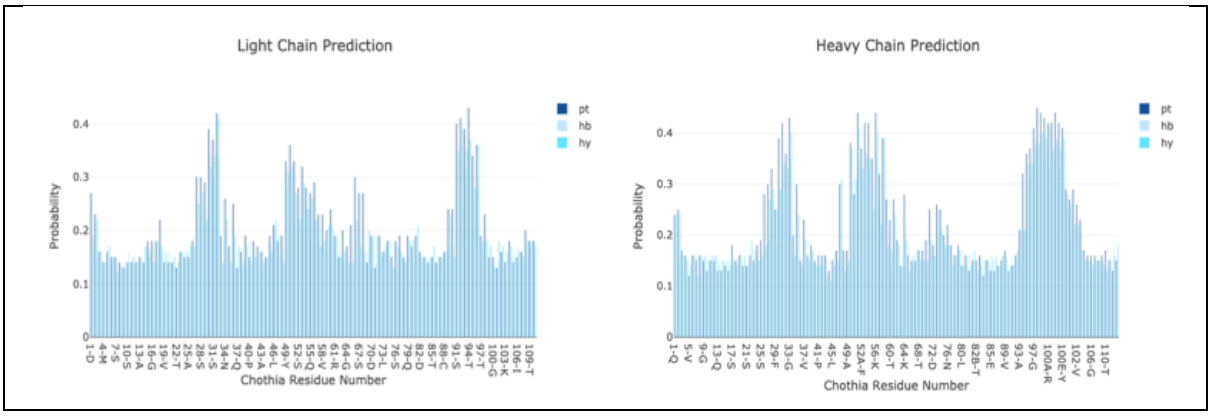


Figura 15. *Tabla de probabilidades de la predicción del paratopo del aducanumab realizado con ProABC2 (9).*

Utilizando la función ‘’antibody’’ de LigPlot, podemos observar la naturaleza de las interacciones anticuerpo-antígeno del aducanumab y compararlo con los resultados obtenidos en ProABC2 y los datos experimentales **(Figura 16)** (64). En este caso, la predicción del paratopo en proABC2 nos permite observar resultados que concuerdan de manera parecida con los modelos experimentales de PDB.

Se podría destacar el caso de la **K65** de la cadena pesada (anotada **K64** en ProABC2), cuya probabilidad de formar parte del paratopo sube puntualmente entre un grupo de aminoácidos de baja probabilidad.

El análisis del esquema Ligplot de esta **K65** demuestra su participación en las interacciones anticuerpo-antígeno y respalda la sensibilidad del programa en caracterizar el paratopo del aducanumab.

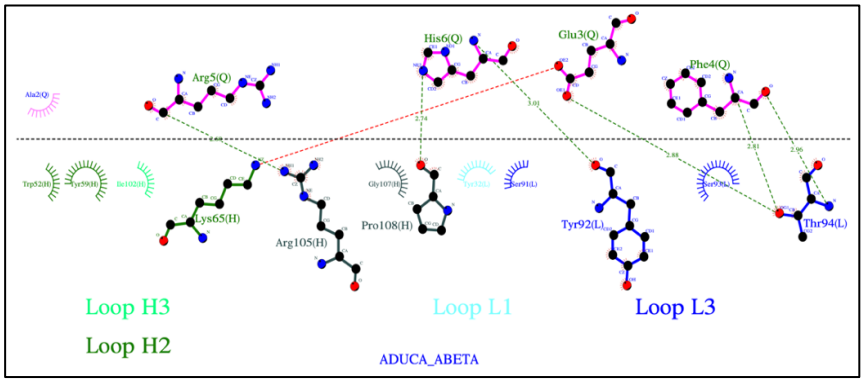


Figura 16. *Esquema Ligplot de la interfaz de interacción entre el aducanumab y el epítopo de βA2-7.*

En marzo de 2019, los primeros ensayos de fase III con aducanumab no lograron alcanzar sus puntos de corte primarios **(ENGAGE, NCT02477800; EMERGE, NCT02484547)** y fueron discontinuados.
Sin embargo, análisis posteriores indicaron un beneficio significativo para los pacientes tratados y alentó Biogen a iniciar un nuevo ensayo clínico de fase III multicéntrico **(EMBARK, NCT04241068)** (65).
Muy recientemente, el 7 de junio de 2021, la FDA aprobó la comercialización del aducanumab bajo el nombre de Adulhem™, convirtiéndose en el primer y único fármaco modificador de la enfermedad y el primero desde 2003 en ser autorizado (54).

3.3. Inhibidores BACE1.

Otra de las estrategias propuestas para cambiar el curso de la EA es la de la reducción de la generación de fragmentos amiloideos mediante la inhibición de la actividad de la beta-secretasa BACE1 aguas arriba de la generación del βA patológico (66).
Este planteamiento terapéutico es reforzado por estudios con ratones knockout para el gen de la BACE1 que han demostrado una disminución significativa de la acumulación amiloidea y la mejoría de las capacidades cognitivas (67).

3.3.1 Verubecestat.

Uno de los inhibidores de la BACE1 desarrollados a raíz de estos descubrimientos fue el verubecestat del grupo farmacéutico Merck (26).

Farmacocinética del verubecestat.

Los análisis farmacocinéticos por SwissADME y pkCSM permiten dar una idea de algunas propiedades del Verubecestat, a defecto de disponer de una ficha técnica con resultados experimentales **(Tabla 3).**
Lo que más tendría que llamar la atención en estos resultados es la permeabilidad de la BHE.
La predicción de la permeabilidad de la barrera es bastante baja y, para un fármaco dirigido hacia proteínas neuronales, no tendría sentido utilizar un medicamento que no podría llegar a su diana terapéutica.
En estas condiciones, muchos fármacos que tendrían una eficacia excepcional in vitro no podrían tener aplicación clínica debido a su incapacidad de atravesar la BHE.
Sin embargo, la realidad experimental demuestra que el verubecestat (como otros inhibidores de la BACE1) poseen peculiaridades físico-químicas que permiten su paso por la barrera hemato-encefálica (68,69).

	pkCSM	SwissADME
Solubilidad en agua	-3,017 (log mol/L)	-2,80 (log mol/L) Soluble
Absorción Intestinal	70,902 (% absorbido)	Alta (Categórico)
Permeabilidad a Caco-2[1]	0,459 (log Papp en 10^{-4} cm/s)	-
Permeabilidad BHE[2]	1,484 (Log BB)	No (Categórico)
Fracción unida a proteínas plasmáticas	40 (%)	-
Volumen de distribución	0,15 (Log L/kg)[3]	-
Citocromos inhibidos	No	No
Aclaramiento renal	-0,002 (log ml/min/kg)	-
Hepatoxicidad	No (Categórico)	-
CL50[4] (Pimephales Promelas)	2,597 (log mM)	-
''Druglikeness''[5]	-	Sí (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge)

1: Caco-2 es un modelo in vitro de la mucosa intestinal. Un valor por encima de 0,90 predice una buena absorción intestinal.
2: Un valor LogBB por encima de 0,3 predice una buena permeabilidad de la BHE y una mala distribución cuando está por debajo de -1.
3: Un valor de volumen de distribución se considera alto por encima de 0,45.
4: Es la concentración mínima que provoca la muerte de 50% de los peces de la especie *Pimephales promelas*. Fármacos con valores de log por debajo de -0,3 tienen una toxicidad aguda importante.
5: Es el potencial que tiene una molécula para servir como fármaco según distintos modelos (Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge).

Tabla 3. *Predicciones de las propiedades farmacocinéticas de la memantina obtenidos a partir de las bases de datos de pkCSM y SwissADME. Elaboración propia, según el protocolo de Avram et al* (44).

Farmacodinamia del verubecestat.

El sitio catalítico de la BACE1 está formado por los residuos **D93** y **D289** que van a cortar la PPA en sus fragmentos patológicos. La unión del verubecestat con estos aminoácidos (**Figura 17)** inhibe entonces de manera competitiva la acción catalítica de BACE1 sobre la PPA.

El verubecestat inició ensayos clínicos de fase III **(NCT01739348)**, pero fue discontinuado a finales de 2017 tras no haber podido demostrar eficacia clínica (26).

Sin embargo, a medida que se entienden mejor los mecanismos biológicos de las secretasas, se podrán adaptar nuevas estrategias de desarrollo de fármacos dirigidos hacia BACE1 (70).

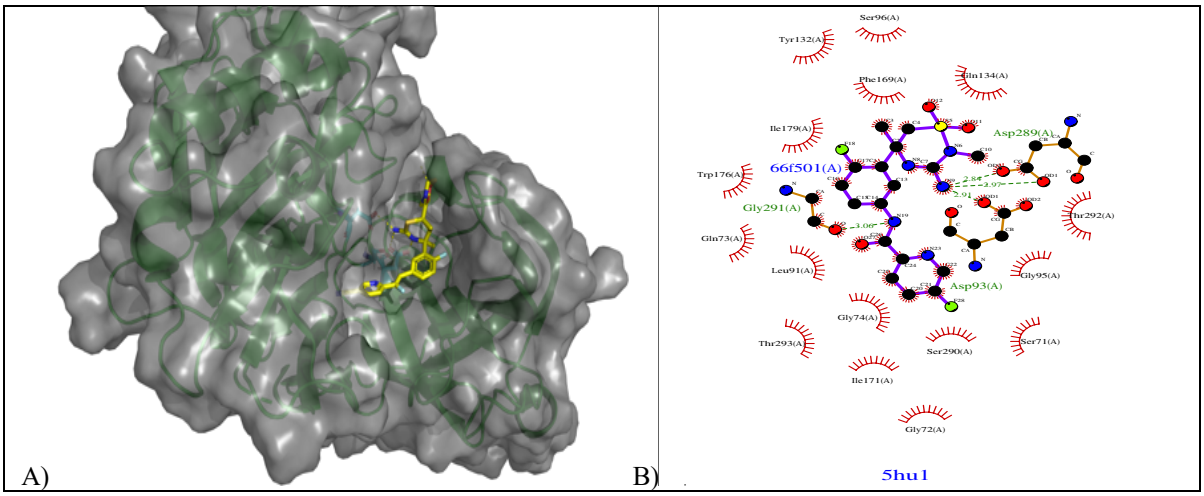


Figura 17. A) *Estructura cristalográfica de la BACE1 junto al fármaco inhibidor, verubecestat, en amarillo (PDB ID: 5HU1* (71) *). Elaborado con PyMol (11).* ***B)*** *Esquema Ligplot de las interacciones del verubecestat con la BACE1.*

- CONCLUSIONES.

En este trabajo, se ha podido evidenciar que:

- La comprensión y el dominio de los distintos métodos bioinformáticos permiten visualizar y entender elementos esenciales de las características farmacoterapéuticas de los tratamientos para la EA.
- Gracias a estos programas, se pueden realizar análisis de las propiedades tanto farmacocinéticas como farmacodinámicas de los tratamientos disponibles y en desarrollo de la EA.
- Sin embargo, los resultados obtenidos mediante estas herramientas computacionales siguen necesitando ser complementados y validados por estudios experimentales para poder relacionarlos con la fisiopatología de la EA y elaborar a partir de ellos aplicaciones clínicas.

Finalmente, se ha podido verificar la hipótesis de que el uso de herramientas bioinformáticas es de gran utilidad para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en la investigación frente a la EA.

- BIBLIOGRAFÍA.

1. Kumar A, Sidhu J, Goyal A, Tsao JW. Alzheimer Disease. In Treasure Island (FL); 2021.
2. Kudo T, Davis KL, Gonzalez RB, Wilkinson DG. Practical pharmacology for Alzheimer's disease. Practical Pharmacology for Alzheimer's Disease. Springer International Publishing; 2016. 1–141 p.
3. World Health Organisation. Priority Medicines for Europe and the World " A Public Health Approach to Innovation " Update on 2004 Background Paper Written by Saloni Tanna Background Paper 6 . 11 Alzheimer Disease and other Dementias [Internet]. 2013. Available from: https://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/BP6_11Alzheimer.pdf
4. Toth D, Kamperman F, Paige E. Making Drug Discovery More Sustainable by Reducing the Electricity Consumption and Cost of Virtual Screening. 2015;103–12.
5. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. Vol. 28, Nucleic Acids Research. 2000.
6. Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, Stockinger H, Ioannidis V, Durinx C. Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users. Nucleic Acids Res [Internet]. 2021 Apr 13; Available from: https://doi.org/10.1093/nar/gkab225
7. Sehnal D, Svobodová Vařeková R, Berka K, Pravda L, Navrátilová V, Banáš P, et al. MOLE 2.0: advanced approach for analysis of biomacromolecular channels. J Cheminform [Internet]. 2013;5(1):39. Available from: https://doi.org/10.1186/1758-2946-5-39
8. Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. J Med Chem. 2015;58(9):4066–72.
9. Ambrosetti F, Olsen TH, Olimpieri PP, Jiménez-García B, Milanetti E, Marcatilli P, et al. proABC-2: PRediction of AntiBody contacts v2 and its application to information-driven docking. Bioinformatics [Internet]. 2020 Dec 22;36(20):5107–8. Available from: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa644
10. Ponomarenko J, Bui H-H, Li W, Fusseder N, Bourne PE, Sette A, et al. ElliPro: a new structure-based tool for the prediction of antibody epitopes. BMC Bioinformatics [Internet]. 2008 Dec 2;9:514. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19055730
11. DeLano WL. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3. Schrödinger LLC. 2020.
12. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF

Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. J Comput Chem [Internet]. 2004 Oct 1;25(13):1605–12. Available from: https://doi.org/10.1002/jcc.20084
13. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. J Cheminform [Internet]. 2012;4(1):17. Available from: https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17
14. Marvin was used for drawing, displaying and characterizing chemical structures, substructures and reactions, Marvin version 21.17.0, ChemAxon (https://www.chemaxon.com).
15. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J Comput Chem [Internet]. 2010 Jan 30;31(2):455–61. Available from: https://doi.org/10.1002/jcc.21334
16. Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. Protein Eng. 1995 Feb;8(2):127–34.
17. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. J Neurol Neurosurg Psychiatry [Internet]. 1999 Feb;66(2):137–47. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10071091
18. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. EMBO Mol Med [Internet]. 2016 Jun 1;8(6):595–608. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27025652
19. Kamino K, Orr HT, Payami H, Wijsman EM, Alonso ME, Pulst SM, et al. Linkage and mutational analysis of familial Alzheimer disease kindreds for the APP gene region. Am J Hum Genet [Internet]. 1992 Nov;51(5):998–1014. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1415269
20. Roher AE, Chaney MO, Kuo YM, Webster SD, Stine WB, Haverkamp LJ, et al. Morphology and toxicity of Abeta-(1-42) dimer derived from neuritic and vascular amyloid deposits of Alzheimer's disease. J Biol Chem. 1996 Aug;271(34):20631–5.
21. Deng G, Su JH, Cotman CW. Gene expression of Alzheimer-associated presenilin-2 in the frontal cortex of Alzheimer and aged control brain. FEBS Lett [Internet]. 1996 Sep 23;394(1):17–20. Available from: https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00922-2
22. Tomita S, Kirino Y, Suzuki T. Cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein (APP) by secretases occurs after O-glycosylation of APP in the protein secretory pathway. Identification of intracellular compartments in which APP cleavage occurs without using toxic agents that interfer. J Biol Chem. 1998 Mar;273(11):6277–84.
23. Pérez Tur J. Presenilinas en la génesis de la enfermedad de Alzheimer. Rev Neurol. 2001;33(10):967.
24. Ghosh AK, Osswald HL. BACE1 (β-secretase) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. Chem Soc Rev [Internet]. 2014 Oct 7;43(19):6765–813. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24691405
25. Lammich S, Kojro E, Postina R, Gilbert S, Pfeiffer R, Jasionowski M, et al. Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1999 Mar 30;96(7):3922–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10097139
26. Sun BL, Li WW, Zhu C, Jin WS, Zeng F, Liu YH, et al. Clinical Research on Alzheimer's Disease: Progress and Perspectives. Neurosci Bull [Internet]. 2018;34(6):1111–8. Available from: https://doi.org/10.1007/s12264-018-0249-z
27. Briggs R, Kennelly SP, O'Neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease. Clin Med. 2016 Jun;16(3):247–53.
28. Cummings JL, Tong G, Ballard C. Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options. J Alzheimer's Dis. 2019;67(3):779–94.
29. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1986 Jul;83(13):4913–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3088567
30. Alonso AD, Grundke-Iqbal I, Barra HS, Iqbal K. Abnormal phosphorylation of tau and the mechanism of Alzheimer neurofibrillary degeneration: sequestration of microtubule-associated proteins 1 and 2 and the disassembly of microtubules by the abnormal tau. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1997 Jan 7;94(1):298–303. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8990203
31. von Bergen M, Barghorn S, Biernat J, Mandelkow E-M, Mandelkow E. Tau aggregation is driven by a transition from random coil to beta sheet structure. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis [Internet]. 2005;1739(2):158–66. Available from:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443904001802
32. Bakota L, Brandt R. Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease. Drugs [Internet]. 2016 Mar;76(3):301–13. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26729186
33. Wu HY, Hudry E, Hashimoto T, Kuchibhotla K, Rozkalne A, Fan Z, et al. Amyloid β induces the morphological neurodegenerative triad of spine loss, dendritic simplification, and neuritic dystrophies through calcineurin activation. J Neurosci. 2010;30(7):2636–49.
34. Congdon EE, Sigurdsson EM. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. Nat Rev Neurol [Internet]. 2018 Jul;14(7):399–415. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29895964
35. Šerý O, Povová J, Míšek I, Pešák L, Janout V. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: A review. Folia Neuropathol. 2013;51(1):1–9.
36. Tibbo AJ, Tejeda GS, Baillie GS. Understanding PDE4's function in Alzheimer's disease; a target for novel therapeutic approaches. Biochem Soc Trans [Internet]. 2019 Oct 31;47(5):1557–65. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31642904
37. Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, Walsh DM, Selkoe DJ, Sabatini BL. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. J Neurosci. 2007 Mar;27(11):2866–75.
38. Tackenberg C, Brandt R. Divergent pathways mediate spine alterations and cell death induced by amyloid-beta, wild-type tau, and R406W tau. J Neurosci [Internet]. 2009 Nov 18;29(46):14439–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19923278
39. Parsons C, Lim WY, Loy C, McGuinness B, Passmore P, Ward SA, et al. Withdrawal or continuation of cholinesterase inhibitors or memantine or both, in people with dementia. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2021;(2). Available from: https://doi.org//10.1002/14651858.CD009081.pub2
40. Sagrario Manzano M, Fortea J, Villarejo A, Sanchez del Valle R. Guías diagnósticas y terapeuticas de la Sociedad Española de Neurología [Internet]. 2018. Available from: https://www.sen.es/pdf/guias/Guia_Demencias_2018.pdf
41. Colović MB, Krstić DZ, Lazarević-Pašti TD, Bondžić AM, Vasić VM. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. Curr Neuropharmacol [Internet]. 2013 May;11(3):315–35. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24179466
42. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). Mol Med Rep [Internet]. 2019/06/11. 2019 Aug;20(2):1479–87. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31257471
43. Donepezilo. Ficha técnica o resumen de las características del producto [Internet]. [cited 2021 May 15]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/75249/75249_ft.pdf
44. Avram S, Mernea M, Limban C, Borcan F, Chifiriuc C. Potential Therapeutic Approaches to Alzheimer's Disease By Bioinformatics, Cheminformatics And Predicted Adme-Tox Tools. Curr Neuropharmacol. 2019;18(8):696–719.
45. Cheung J, Rudolph MJ, Burshteyn F, Cassidy MS, Gary EN, Love J, et al. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. J Med Chem [Internet]. 2012 Nov 26;55(22):10282–6. Available from: https://doi.org/10.1021/jm300871x
46. Cheng S, Song W, Yuan X, Xu Y. Gorge Motions of Acetylcholinesterase Revealed by Microsecond Molecular Dynamics Simulations. Sci Rep [Internet]. 2017;7(1):3219. Available from: https://doi.org/10.1038/s41598-017-03088-y
47. Zhou Y, Wang S, Zhang Y. Catalytic reaction mechanism of acetylcholinesterase determined by Born-Oppenheimer ab initio QM/MM molecular dynamics simulations. J Phys Chem B [Internet]. 2010 Jul 8;114(26):8817–25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20550161
48. Lilienfeld S. Galantamine--a novel cholinergic drug with a unique dual mode of action for the treatment of patients with Alzheimer's disease. CNS Drug Rev [Internet]. 2002;8(2):159–76. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12177686
49. Hager K, Baseman AS, Nye JS, Brashear HR, Han J, Sano M, et al. Effects of galantamine in a 2-year, randomized, placebo-controlled study in Alzheimer's disease. Neuropsychiatr Dis Treat [Internet]. 2014 Feb 21;10:391–401. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24591834
50. Galantamina. Ficha técnica o resumen de las características del producto.
51. Limapichat W, Yu WY, Branigan E, Lester HA, Dougherty DA. Key binding interactions for memantine in the NMDA receptor. ACS Chem Neurosci [Internet]. 2012/12/07. 2013 Feb 20;4(2):255–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23421676
52. Memantina. Ficha técnica o resumen de las características del producto [Internet]. [cited 2021 May

26]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/79527/79527_ft.pdf
53. Zhang J-B, Chang S, Xu P, Miao M, Wu H, Zhang Y, et al. Structural Basis of the Proton Sensitivity of Human GluN1-GluN2A NMDA Receptors. Cell Rep [Internet]. 2018 Dec 26;25(13):3582-3590.e4. Available from: https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.071
54. Food and Drug Administration. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug [Internet]. [cited 2021 Jun 8]. Available from: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-drug
55. European Medicines Agency. Medicines.
56. Hung S-Y, Fu W-M. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. J Biomed Sci [Internet]. 2017 Jul 19;24(1):47. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28720101
57. Yu Y-Z, Xu Q. Prophylactic immunotherapy of Alzheimer's disease using recombinant amyloid-β B-cell epitope chimeric protein as subunit vaccine. Hum Vaccin Immunother [Internet]. 2016/07/05. 2016 Nov;12(11):2801–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27379885
58. Hull M, Sadowsky C, Arai H, Le Prince Leterme G, Holstein A, Booth K, et al. Long-Term Extensions of Randomized Vaccination Trials of ACC-001 and QS-21 in Mild to Moderate Alzheimer's Disease. Curr Alzheimer Res [Internet]. 2017;14(7):696–708. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28124589
59. Ciudad S, Puig E, Botzanowski T, Meigooni M, Arango AS, Do J, et al. Aβ(1-42) tetramer and octamer structures reveal edge conductivity pores as a mechanism for membrane damage. Nat Commun [Internet]. 2020;11(1):3014. Available from: https://doi.org/10.1038/s41467-020-16566-1
60. Fitzpatrick AWP, Falcon B, He S, Murzin AG, Murshudov G, Garringer HJ, et al. Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease. Nature [Internet]. 2017;547(7662):185–90. Available from: https://doi.org/10.1038/nature23002
61. Gallardo G, Holtzman DM. Antibody therapeutics targeting Aβ and tau. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;7(10):1–17.
62. Plotkin SS, Cashman NR. Passive immunotherapies targeting Aβ and tau in Alzheimer's disease. Neurobiol Dis [Internet]. 2020/07/16. 2020 Oct;144:105010. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32682954
63. ADUHELM™. HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION [Internet]. 2021. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/761178s000lbl.pdf
64. Arndt JW, Qian F, Smith BA, Quan C, Kilambi KP, Bush MW, et al. Structural and kinetic basis for the selectivity of aducanumab for aggregated forms of amyloid-β. Sci Rep [Internet]. 2018 Apr 23;8(1):6412. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29686315
65. Cummings J, Aisen P, Lemere C, Atri A, Sabbagh M, Salloway S. Aducanumab produced a clinically meaningful benefit in association with amyloid lowering. Alzheimers Res Ther [Internet]. 2021 May 10;13(1):98. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33971962
66. Cao J, Hou J, Ping J, Cai D. Advances in developing novel therapeutic strategies for Alzheimer's disease. Mol Neurodegener [Internet]. 2018 Dec 12;13(1):64. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30541602
67. Hu X, Das B, Hou H, He W, Yan R. BACE1 deletion in the adult mouse reverses preformed amyloid deposition and improves cognitive functions. J Exp Med [Internet]. 2018/02/14. 2018 Mar 5;215(3):927–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29444819
68. Pardridge WM. Treatment of Alzheimer's Disease and Blood-Brain Barrier Drug Delivery. Pharmaceuticals (Basel). 2020 Nov;13(11).
69. Das B, Yan R. A Close Look at BACE1 Inhibitors for Alzheimer's Disease Treatment. CNS Drugs [Internet]. 2019;33(3):251–63. Available from: https://doi.org/10.1007/s40263-019-00613-7
70. Hampel H, Vassar R, De Strooper B, Hardy J, Willem M, Singh N, et al. The β-Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. Biol Psychiatry [Internet]. 2020/02/13. 2021 Apr 15;89(8):745–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32223911
71. Scott JD, Li SW, Brunskill APJ, Chen X, Cox K, Cumming JN, et al. Discovery of the 3-Imino-1,2,4-thiadiazinane 1,1-Dioxide Derivative Verubecestat (MK-8931)–A β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 Inhibitor for the Treatment of Alzheimer's Disease. J Med Chem [Internet]. 2016 Dec 8;59(23):10435–50. Available from: https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00307

- **Anexos.**

Datos Brutos de Swiss Simalirity

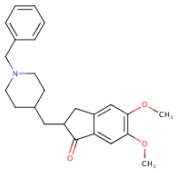
Donepezilo.

Run parameters

Library screened	ZincDrugLike
Screening method	Spectrophores
Date	Wed May 12 19:14:57 2021

If you publish these results, please, cite the following paper: Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model.*, **2016**, *56(8)*, 1399-1404.

Query Molecule



Results

Retrieve data:

ZINC00897251 Score : 0.956	ZINC00597013 Score : 0.888	ZINC91817858 Score : 0.874	ZINC17201127 Score : 0.870
ZINC55545149 Score : 0.869	ZINC48275260 Score : 0.869	ZINC48309305 Score : 0.869	ZINC11879689 Score : 0.868

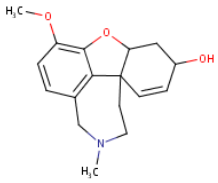
Galantamina.

Run parameters

Library screened	ZincDrugLike
Screening method	Spectrophores
Date	Wed May 12 18:50:27 2021

If you publish these results, please, cite the following paper: Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening., *J. Chem. Inf. Model.*, **2016**, *56(8)*, 1399-1404.

Query Molecule



Results

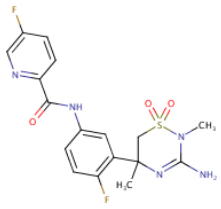
Retrieve data:

ZINC04102421 Score : 0.937	ZINC71404392 Score : 0.935	ZINC85224991 Score : 0.925	ZINC85224988 Score : 0.925
ZINC00491073 Score : 0.925	ZINC03872661 Score : 0.916	ZINC72194484 Score : 0.912	ZINC00518229 Score : 0.911

Verubecestat.

Run parameters	
Library screened	ZincDrugLike
Screening method	Spectrophores
Date	Wed May 12 20:06:12 2021

Query Molecule



If you publish these results, please, cite the following paper: Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model.*, **2016**, *56(8)*, 1399-1404.

Results

Retrieve data:

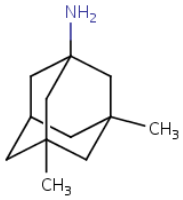
ZINC35684137 Score : 0.921	ZINC15644958 Score : 0.911	ZINC23410410 Score : 0.910	ZINC07979193 Score : 0.910
ZINC67601992 Score : 0.908	ZINC00140254 Score : 0.907	ZINC37985647 Score : 0.906	ZINC31903950 Score : 0.906

Memantina.

Run parameters	
Library screened	ZincDrugLike
Screening method	Spectrophores
Date	Wed May 12 21:04:42 2021

If you publish these results, please, cite the following paper: Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening., *J. Chem. Inf. Model.*, **2016**, *56(8)*, 1399-1404.

Query Molecule



Results

Retrieve data:

ZINC03812933 Score : 0.988	ZINC27640856 Score : 0.953	ZINC77260889 Score : 0.950	ZINC60714796 Score : 0.950
ZINC01600015 Score : 0.949	ZINC77260891 Score : 0.948	ZINC38343271 Score : 0.948	ZINC54588184 Score : 0.947