

BÚSQUEDA IN SILICO DE PEQUEÑAS MOLÉCULAS QUE INTERACCIONEN CON LA PROTEÍNA
QUINASA DEPENDIENTE DE CYCLINA 5, COMO UN POSIBLE TRATAMIENTO PARA LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JESÚS DARÍO BUSTAMANTE DÍAZ

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
SINCELEJO – SUCRE
2017

BÚSQUEDA IN SILICO DE PEQUEÑAS MOLÉCULAS QUE INTERACCIONEN CON LA PROTEÍNA
QUINASA DEPENDIENTE DE CYCLINA 5, COMO UN POSIBLE TRATAMIENTO PARA LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

JESÚS DARÍO BUSTAMANTE DÍAZ

DIRECTOR

NERLIS PÁJARO CASTRO

QUÍMICO FARMACÉUTICO, MAGISTER EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS, CANDIDATA A
DOCTORA EN TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

UNIVERSIDAD DE SUCRE

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE MEDICINA

SINCELEJO – SUCRE

2017

Nota de aceptación:

Firma del presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Sincelejo – Sucre, _____ del 2017.

DEDICATORIA

A Dios,

Por emanar sabiduría y perseverancia en mí, la gloria sea siempre para él.

A mis padres,

*Su amor, corrección y apoyo incondicional prevalecen en todos los ámbitos de mi vida,
gracias por creer siempre.*

A mi pequeño hermano,

Que me enseña y sorprende cada día, quiero ser ejemplo para ti.

A mis familiares,

Por contribuir a mi formación personal y transmitirme valores.

A Mariel,

Por hacerme un mejor hombre.

A mis amigos,

Quienes son partícipes de mis alegrías.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser fuente de conocimiento y dador de todas las cosas, apoyo meritorio para la ejecución de esta investigación. A la Universidad de Sucre, alma máter que ha dirigido mi proceso de formación, me gratifica el apoyo otorgado para el desarrollo de este proyecto.

A mi tutora, Dra. Nerlis Pájaro, absoluto respeto y agradecimiento por su incondicional sustentación y corrección, gracias por ser guía en cada paso realizado en el presente trabajo.

A mis padres, su tenacidad en mi formación profesional es un tesoro incalculable.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN _____	10
ABSTRACT _____	11
INTRODUCCIÓN _____	12
1. MARCO DE REFERENCIA _____	14
1.1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER _____	14
1.2. TRATAMIENTO DIRIGIDO A MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS _____	15
1.3. MÉTODOS COMPUTACIONALES PARA LA BÚSQUEDA DE NUEVOS FÁRMACOS ____	17
1.4. PROTEÍNA CDK5 _____	18
2. METODOLOGÍA _____	19
2.1. TIPO DE ESTUDIO _____	19
2.2. SOFTWARE _____	19
2.3. SELECCIÓN DE MOLÉCULAS Y PROTEÍNA _____	19
2.4. ACOPLAMIENTO MOLECULAR _____	20
2.5. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR _____	20
2.6. IDENTIFICACIÓN DE INTERACCIONES PROTEÍNA-LIGANDO _____	20
2.7. ACOPLAMIENTO INVERSO _____	20
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS _____	21
4. CONCLUSIONES _____	30
5. RECOMENDACIONES _____	31
6. BIBLIOGRAFÍA _____	32

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Resultados de acoplamiento molecular de los mejores complejos

proteína CDK5-ligando _____ 21

Tabla 2. Acoplamiento de los ligandos estudiados con otras proteínas

relacionadas con la enfermedad de Alzheimer _____ 28

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura 2D de moléculas estudiadas. A. 78225395, B. 78225453, C. 78235921, D. 78369689, E.86223021 _____	22
Figura 2. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (86223021) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5-86223021-Inhibidor* (amarillo). * 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona _____	23
Figura 3. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78369689) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5-78369689-Inhibidor* (amarillo). * 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3nitrofenil)metanona _____	24
Figura 4. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78235921) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5-78235921- Inhibidor* (amarillo). * 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona _____	25
Figura 5. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78225453) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5-78225453- Inhibidor* (amarillo). * 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona _____	26
Figura 6. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78225395) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5-78225395- Inhibidor* (amarillo). * 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona _____	27

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Cuantificación del grado de afinidad por acoplamiento molecular en orden de mayor a menor de todos los complejos proteína cdk5- ligando _____	45
Anexo B. Artículo publicado en revista indexada _____	68
Anexo C. Certificado en calidad de expositor en el XVIII congreso colombiano de investigación médica _____	82

RESUMEN

Introducción: La epidemiología global de las demencias va en aumento, se estima una prevalencia cuatro veces mayor para 2050, dentro de estas se encuentra la enfermedad de Alzheimer, demencia para la cual no existe tratamiento, solo se cuenta con fármacos que restablecen, por un tiempo, los procesos cognitivos y conductuales a nivel cerebral, por esta razón, actualmente investigaciones impulsan la inhibición de algunas quinasas para su tratamiento, dentro de las cuales se encuentra la proteína quinasa dependiente de ciclina 5 (CDK5). **Objetivo:** Identificación de nuevas moléculas con posibilidad de interactuar con la proteína CDK5, inhibiendo su función y otras proteínas relacionadas con la enfermedad de Alzheimer. **Metodología:** En este trabajo se utilizó un enfoque computacional para lo cual la estructura 3D de la proteína CDK5 fue descargada de Protein Data Bank (PDB) y 911 moléculas de Pubchem, para realizar acoplamiento molecular mediante Auto Dock Vina. El método fue validado utilizando un inhibidor conocido para la proteína. Además se realizó un acoplamiento inverso con los mejores ligandos seleccionados, para la identificación de otros posibles blancos moleculares relacionado con la enfermedad de Alzheimer. **Resultados:** Se identificó cinco moléculas que poseen los más altos valores de afinidad, en un rango de -17,7 a 11,6 Kcal/mol, éstas se unen al sitio activo de la proteína identificado anteriormente por un inhibidor ya descrito, su interacción fue expuesta con los residuos cisteína 83 y glutamina 81 de CDK5. **Conclusiones:** A nivel del sitio activo de CDK5 interactúan los ligandos identificado, en consecuencia se infiere que estos podrían intervenir inhibiendo dicha quinasa. Esto abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

PALABRAS CLAVES.

Acoplamiento molecular, sitio activo, Alzheimer, CDK5, *in silico*.

ABSTRACT

Introduction: The global epidemiology of dementias is increasing, an estimated four times greater prevalence by 2050, within these is Alzheimer's disease, dementia for which there is no treatment, only has drugs that restore, for a while, Cognitive and behavioral processes at the brain level, for this reason, currently impulsive investigations the inhibition of some kinases for their treatment, within which is the protein kinase dependent cyclin 5 (CDK5). **Objective:** Identification of new molecules with the possibility of interacting with the CDK5 protein, inhibiting its function and other proteins related to Alzheimer's disease. **Methodology:** In this work we used a computational approach for the 3D structure of the protein CDK5 was downloaded from the Databank protein (PDB) and 911 molecules from Pubchem, to perform molecular coupling using the Vina automatic spring. The method was validated using a known inhibitor for the protein. We also performed an inverse coupling with the best selected ligands for the identification of other possible molecular targets related to Alzheimer's disease. **Results:** Five molecules with the highest affinity values were identified, in the range of -17.7 to 11.6 Kcal / mol, you are bound to the active site of the protein identified above by an inhibitor already described, its interaction Was exposed with cysteine residues 83 and glutamine 81 from CDK5. **Conclusions:** At the level of the active site of CDK5 the identified ligands interact, consequently it is inferred that these could intervene inhibiting said kinase. This opens a future therapeutic window in the treatment of Alzheimer's disease.

KEYWORDS.

Molecular docking, active site, Alzheimer, CDK5, *in silico*.

INTRODUCCIÓN

La epidemiología global de las demencias va en aumento, en 2005, 24,4 millones de personas presentaron deterioro cognitivo y funcional en todo el mundo, se estima una prevalencia cuatro veces mayor para 2050,¹ por lo que establece así, un problema de salud pública. En Colombia, se estima una prevalencia de 1,8% en pacientes mayores de 65 años, y de 3,4% en los que tienen más de 75 años.² La demencia con mayor frecuencia de presentación es la enfermedad de Alzheimer (EA), exhibe un compromiso neurodegenerativo e irreversible, expresado en dos lesiones patognomónicas: el depósito extracelular de péptido beta-amiloide (A β) que forma placas y la acumulación intraneuronal de la proteína Tau hiperfosforilada, produciendo ovillos neurofibrilares.³ Además el A β por sí solo puede ocasionar procesos inflamatorios y trombóticos, puesto que, logra activar el factor XII e interactuar con la fibrina⁴, conduciendo a una angiopatía amiloidea cerebral.⁵

Hoy, no existe tratamiento que cure o interrumpa el curso de la enfermedad, solo se cuenta con fármacos que restablecen, temporalmente, los procesos cognitivos y conductuales a nivel cerebral. Se usan inhibidores de la acetilcolinesterasa como donepecilo, rivastigmina y galantamina, también los antagonistas de los receptores N-metil-D-Aspartato, el único aprobado, la memantina⁶. Por esta razón, su régimen terapéutico se instaura de forma crónica, generando un gasto monetario constante para los sistemas de salud. Estados Unidos, en 2013 consideró que la EA figuraba un costo social total de 203 billones de dólares

¹ REITZ, Christiane. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. En: Biochem Pharmacol. New York. 2014. Vol. 88, No 4. p. 2.

² RUIZ, Carolina. Epidemiología y carga de la Enfermedad de Alzheimer. En: Acta Neurol Colomb. Bogotá. 2010. Vol. 26, Suppl (3:1). p. 89.

³ BERNHARDI, Rommy. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. En: Rev Chil Neuro-Psiquiatr. Santiago de Chile. 2005. Vol. 43, No 2. p. 124.

⁴ ZAMOLODCHIKOV, Daria. A possible new role for A β in vascular and inflammatory dysfunction in Alzheimer's disease. En: Thromb Res. New York. 2016. Vol. 141 Suppl 2. P. S60.

⁵ MITCHELL, Richard. Sistema nervioso central. En: Compendio de Robbins y Cotran, patología estructural y funcional. 8 ed. Barcelona. 2012. p. 674.

⁶ LÓPEZ, Óscar. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. En: Arch Med Interna. Uruguay. 2015. P. 63.

al año, para esta misma fecha, Colombia tazó el costo mínimo directo anual representado en un intervalo de 116 a 140 mil millones de pesos.⁷

A consecuencia del déficit económico calculado para esta demencia, nuevas terapias apuntan a tratar la enfermedad desde sus precursores causales. Actualmente, cerebrolysin⁸ otras sustancias como triptolide, extracto lipofílico de la hierba medicinal china *Tripterygium wilfordii* Hook.f.,⁹ mediante análisis inmunohistoquímicos revela que conduce a disminución importante en la deposición de A β y en su neuroinflamación sudyacente.¹⁰

Diversas investigaciones promueven la inhibición de algunas cinasas, a fin de su capacidad de fosforilar a Tau *in vitro* en diferentes sitios. Especial mención merece en este sentido la cinasa 5 dependiente de ciclina (CDK 5), se encarga de promover el auto ensamblaje de ovillos de filamentos rectos y helicoidales apareados,^{6,11} mediante la fosforilación anormal de TAU, esencialmente en residuos Serina-Treonina;¹² pese a conocerse su función no ha sido ampliamente estudiada. Estudios recientes están enfocados en la búsqueda de moléculas que interaccionen con proteínas asociadas a la progresión de la enfermedad y así detener su curso,¹³ para esto han sido empleadas nuevas tecnologías, entre ellas estudios *in silico*, los cuales reducen costos y tiempo en el diseño de nuevos fármacos, como

⁷ PRADA, Sergio. Costo monetario del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en Colombia. En: Acta Neurol Colomb. Bogotá. 2014. vol.30, No. 4. p. 248.

⁸ SHARMA, Hari. Alzheimer's disease: cerebrolysin and nanotechnology as a therapeutic strategy. En: Neurodegener Dis Manag. Rumania.2016. Vol. 6, No 6. p 455.

⁹ WANG, Qi. Triptolide treatment reduces Alzheimer's disease (AD)-like pathology through inhibition of BACE1 in a transgenic mouse model of AD. En: Dis Model Mech. Beijing . 2014. Vol. 7, No 12. p. 1385.

¹⁰ CHENG, Shaowu. Triptolide preserves cognitive function and reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. En: PLoS One. Florida. 2014. Vol. 9, No 9. p. e108845.

¹¹ HERRERA, Marisol. Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. En: Rev Neurol. Barcelona. 2010. Vol. 51, No 3 .p. 156.

¹² MACCIONI, Cristóbal. Nuevos paradigmas en el estudio de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. En: Rev. chil. neuro-psiquiatr. Santiago. 2003. Vol. 41, No 2. p. 35.

¹³ WILLIAMS, Philip. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. En: Nat Prod Rep. Honolulu. 2011. Vol. 28, No 1. p. 49.

complemento a los métodos experimentales.¹⁴ Por ejemplo, se efectuó el descubrimiento estructural de 1H-indazol-3-carboxamidas mediante exploración virtual *in silico*, configurando una nueva clase de inhibidor de GSK-3, proteína que participa en la patogénesis de la EA,¹⁵ también, otro estudio que utilizó la misma técnica de exploración logró determinar ligandos con capacidad de actuar como inhibidores de la acetilcolinesterasa y establecer el tipo de aminoácidos implicados en dicha interacción.¹⁶

Hasta se ha incursionado y perfeccionado en las herramientas de predicción e identificación de objetivos *in silico*, logrando predecir moléculas activas con múltiples blancos para una sola enfermedad,¹⁷ en efecto, químicos computacionales han desarrollado servidores web cada vez más completos para la validación cruzada de interacciones químico-proteína potenciando las aplicaciones farmacológicas del tamizaje virtual, entre los servidores web más actuales se encuentra AlzhCPI.¹⁸

El procedimiento de cálculo virtual que permite arrojar resultados se basa en el acoplamiento molecular, técnica computacional que ha innovado la bioinformática estructural suministrando conocimientos sin precedentes sobre aspectos claves de la interacción proteína-ligando antes de realizar un proceso experimental *in vitro*, este acoplamiento puede ser simulado si la estructura tridimensional del blanco molecular es conocida o un buen modelo comparativo 3D (tridimensional) está disponible, siendo un excelente instrumento en la primera fase del descubrimiento de nuevos fármacos.¹⁹ Además, el

¹⁴ LI, Honglin. Drug Discovery and Development: Computational Approaches. En: Wiley encyclopedia of chemical biology. New York. 2008. p. 2514.

¹⁵ OMBRATO, Rosella. Structure-Based Discovery of 1H-Indazole-3-carboxamides as a Novel Structural Class of Human GSK-3 Inhibitors. En: J. Chem. Inf. Model. Pomezia. 2015. Vol. 55, No 12. p. 2541.

¹⁶ ZHANG, Yungin. The Discovery of new acetylcholinesterase inhibitors derived from pharmacophore modeling, virtual screening, docking simulation and bioassays. En: Mol Biosyst. Taiwan. 2016. Vol. 12, No 12. p. 3734.

¹⁷ FANG, Jiansong. Discovery of multitarget-directed ligands against Alzheimer's disease through systematic prediction of chemical-protein interactions. En: J Chem Inf Model. Beijing. 2015. Vol. 55, No 1. p. 149.

¹⁸ FANG, Jiansong. AlzhCPI: A knowledge base for predicting chemical-protein interactions towards Alzheimer's disease. En: PLoS One. Taiwan. 2017. Vol. 12, No 5. p e0178347.

¹⁹ PIERRI, Ciro. Computational approaches for protein function prediction: A combined strategy from multiple sequence alignment to molecular docking-based virtual screening. En: Biochim et Biophys Acta. Bari. 2010. Vol. 1804, No 9. p. 1695.

acoplamiento molecular es usado para optimizar los fármacos conocidos e identificar nuevos aglutinantes ligando-receptor mediante la predicción del mecanismo de unión y el grado de afinidad. Llevar a cabo el procedimiento mencionado cuenta con programas sin cargo monetario como AutoDock, herramienta primordial en el diseño de fármacos basado en la estructura, siendo un programa considerablemente citado en la literatura como un método raudo en facultar el cribado virtual de bibliotecas de ligandos que abarcan decenas de miles de moléculas y establecer las interacciones que presentan.²⁰ Luego de los anteriores planteamientos, se manifiesta que el objetivo del presente estudio es identificar *in silico* nuevas moléculas con posibilidad de interactuar con la CDK5 inhibiendo su función y, otras proteínas relacionadas con la enfermedad de Alzheimer.

²⁰ EL, Nehme. AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study. En: Methods Mol Biol. New York. 2017. Vol. 1598. p. 391.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer se ha convertido en un problema creciente de orden médico, psiquiátrico, neurológico, epidemiológico, social y económico, particularmente en los países con una alta expectativa de vida,²¹ debido a procesos neurodegenerativos propios de este trastorno que involucran pérdida de la sinapsis y de neuronas colinérgicas, glutaminérgicas y gabaérgicas,²² por lo que, abarcando todos los síndromes demenciales se considera la mayor causa de fracaso funcional cerebral en la vejez, adicionalmente, se pronostica que para el año 2050 habrá un nuevo caso de la enfermedad cada 33 segundos.²³

La expresión clínica implica pérdida progresiva de la memoria, afectación de la judicación y el lenguaje, debilitación en la realización de actividades cotidianas, praxias, desorientación temporal y espacial, deterioro en el aprendizaje y síntomas neuropsiquiátricos,²⁴ estas manifestaciones se pueden clasificar teniendo en cuenta la edad de aparición, así, se evidencia una presentación temprana (< 65 años) o tardía (> 65 años), la introducción temprana de Alzheimer pronostica un curso evolutivo diligente y agresivo, que comparado con el inicio tardío, representa un déficit mayor de la atención, praxia, funciones visoespaciales, aprendizaje verbal y un marcado síndrome disejecutivo.^{25,26,27}

Además de los estadios de declinación neuronal típicos del Alzheimer que conllevan a la sintomatología mencionada, creciente evidencia ha demostrado que la enfermedad es un

²¹ GRA, Silvia. Péptido beta amiloide, proteína tau y enfermedad de alzheimer. En: Rev Cubana Invest Biomed. La Habana. 2002. Vol. 21, No 4. p. 257.

²² ROCKENSTEIN, Edward. Neuro-peptide treatment with Cerebrolysin improves the survival of neural stem cell grafts in an APP transgenic model of Alzheimer disease. En: Stem Cell Res. Barcelona. 2015. Vol. 5, No 1. p. 54.

²³ LU, Rui. Heat Shock Protein 70 in Alzheimer's Disease. En: BioMed Research International. Quingdao. 2014. Vol. 2014. p. 2.

²⁴ MICHELI, Federico. Demencia. En: Neurología. 2 ed. Buenos Aires. 2013. p. 145.

²⁵ MENDEZ, Mario. Early-Onset Alzheimer Disease. En: Neurol Clin. Barcelona. 2017. Vol 335, No 2. p. 263.

²⁶ PALASÍ, Antonio. Differentiated clinical presentation of early and late-onset Alzheimer's disease: is 65 years of age providing a reliable threshold?. En: J Neurol. Barcelona. 2015. Vol. 262, No 5. p. 1238.

²⁷ JOUBERT, Sven. Early-onset and late-onset Alzheimer's disease are associated with distinct patterns of memory impairment. En: Cortex. Barcelona. 2016. Vol. 74. p. 217.

“desorden en el plegamiento de las proteínas” que exhibe características comunes de malformación, provocando en la neurona susceptibilidad a la agregación de proteínas, y con esto, desencadena la pérdida progresiva y selectiva de células maduras del sistema nervioso.²³ Por lo anterior, se establece que microscópicamente las dos lesiones principales en la enfermedad de Alzheimer son: los depósitos de filamentos extracelulares (placas amiloideas) y los depósitos intracelulares (ovillos neurofibrilares), estos últimos formados principalmente por una forma anormal de la proteína Tau.²⁸ De manera conjunta las lesiones conducen a la muerte neural progresiva que estimula la expresión clínica típica de la enfermedad.

Aunado a lo anterior, este padecimiento exhibe una pérdida selectiva de neuronas en el hipocampo y la corteza,³ de hecho, la EA se ha extrapolado por algunos como una demencia del hipocampo.²⁹ Desde un punto de vista morfológico se caracteriza por fibrosis de leptomeninge y atrofia cerebral bilateral con distrofia en circunvoluciones, ensanchamiento de los surcos y agrandamiento de los ventrículos,³⁰ el área cerebral más afectada por estos cambios es la zona medial del lóbulo temporal, esto fue aseverado en un estudio realizado por S. Sarria-Estrada y col. el cual expuso una puntuación de 2-4 en la escala de Scheltens para el 80% de los pacientes con EA o deterioro cognitivo leve.³¹

Por otro lado, es una enfermedad considerada incurable, ninguno de los medicamentos clínicamente probados ha demostrado eficacia significativa.²¹ Los tratamientos disponibles actualmente, por ejemplo, inhibidores de la acetilcolinesterasa (rivastigmina, galantamina, donepezilo, resveratrol, withanolide A) y antagonistas de los receptores N- metil D-aspartato (memantina) contribuyen mínimamente en el impacto la enfermedad, son paliativos, de carácter no transitorio, y no modificadores del curso natural del Alzheimer.^{32,33} Sin

²⁸ ALONSO, Alejandra. Mecanismo de la neurodegeneración inducida por las proteínas tau en la enfermedad de Alzheimer y taupatías relacionadas. En: Real Invest Demenc. Santiago. 2009. Vol. 43, No 2. p. 124.

²⁹ AGGLETON, John. Thalamic pathology and memory loss in early Alzheimer's disease: moving the focus from the medial temporal lobe to Papez circuit. En: Brain. Cardiff. 2016. Vol. 139. p. 1877.

³⁰ BAZZOCCHINI, Vanesa. Mecanismos etiopatogénicos, fisiopatológicos y moleculares de la Enfermedad de Alzheimer. Barcelona. En: Revista bioanálisis. 2012. Vol. 40. p. 8.

³¹ SARRIA-ESTRADA, S. Reproducibilidad de la valoración cualitativa de la atrofia del lóbulo temporal por RM. En: Radiología. Barcelona. 2015. Vol. 57. p. 226.

³² PERRY, N. Salvia lavandulaefolia essential oil inhibits cholinesterase in vivo. En: Phytomedicine. Barcelona. 2002. Vol. 9, No 1. p. 48.

³³ KUMAR, Anil. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. En: Pharmacol. Rep. Barcelona. 2015. Vol. 67, No 2. p. 196.

embargo, determinados estudios concluyen que la combinación de estos medicamentos frente a la monoterapia podría mejorar el deterioro cognitivo de los pacientes en fases moderada y severa de la enfermedad,^{34,35} no obstante, la falta de terapias eficaces supone una enorme carga social y económica para la sociedad, lo que ha conllevado a trabajar en nuevas estrategias de tratamiento.³⁶

1.2 TRATAMIENTO DIRIGIDO A MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

Los fármacos empleados han sido sub-clasificado en los que (a) modulan el procesamiento de la APP (Proteína precursora amiloidea), por ejemplo, a través de la α , β , y γ -secretasas; (b) pequeñas moléculas inhibitoras de la agregación amiloide o la acumulación; o (c) incremento en la eliminación del A β a través de enfoques de inmunoterapia activa o pasiva.³⁷ Para referirse a medicamentos que modulan la degradación transmembrana de enzimas se menciona a semagacestat, un inhibidor de γ -secretasa, en múltiples investigaciones no ha demostrado mejoría del estado cognitivo y funcional, además se le ha asociado a efectos adversos como infecciones, cambios renales y hepáticos, cáncer de piel, pérdida de peso^{38,39} y depresión.⁴⁰

La inmunoterapia en la EA abarca dos tipos de vacunación, una activa contra el péptido A β 42 en pacientes que reciben inyecciones del propio antígeno y una pasiva en los que reciben

³⁴ YASUTAKA, Yuki. Influence of Memantine on Continuous Treatment with Rivastigmine Patches-Retrospective Study Using the Logistic Regression Analysis. En: Yakugaku Zasshi. 2017. Vol. 137, No 1. p. 121.

³⁵ HOWARD, Robert. Donepezil and Memantine for Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. En: N Engl J Med. Australia. 2012. Vol. 366. p. 894.

³⁶ THOMPSON, Paul. Statistical analysis, trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: a review. En: Int. Psychogeriatr. Cambridge. 2012. Vol. 24, No 5. p. 690.

³⁷ WISCHIK, Claude. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. En: Biochem. Pharmacol. Barcelona. 2014. Vol. 88, No 4. p. 529.

³⁸ HENDEY, David. Safety profile of semagacestat, a gamma-secretase inhibitor: IDENTITY trial findings. En: Curr Med Res Opin. Indiana. 2014. Vol. 30, No 10. p.2021.

³⁹ DOODY, Rachelle. A Phase 3 Trial of Semagacestat for Treatment of Alzheimer's Disease. En: N Engl J Med. Reino unido. 2013. Vol. 369. p. 342.

⁴⁰ ROSENBERG, Paul. Changes in Neuropsychiatric Inventory Associated with Semagacestat Treatment of Alzheimer's Disease. En: J Alzheimers Dis. Baltimore. 2016. Vol. 54, No 1. p. 373.

inyecciones de anticuerpo monoclonal anti- A β ,⁴¹ en inmunoterapia activa se ha utilizado el antígeno CAD106 quien ha demostrado un perfil de seguridad beneficioso y una respuesta alentadora hacia la producción de anticuerpos contra A β , fundamentalmente en terapias a largo plazo y en estadios leves de la enfermedad,⁴² otras vacunas anti- A β con resultados favorables son ACC-001 y AFFITOPE,⁴³ también se han empleado las vacunas ACI-35 y AAD-vac1, la primera destinada a estimular producción de anticuerpos dirigidos a la proteína Tau fosforilada y la segunda a su variante no fosforilada.⁴⁴

Con respecto a la inmunoterapia pasiva, en primer lugar se usó bapineuzumab,⁴¹ la eficacia de este anticuerpo monoclonal fue sometida a diferentes ensayos clínicos de fase 3 en estadios leve y moderado de Alzheimer, se demostró que no mejoró clínicamente la sintomatología en los pacientes afectados,⁴⁵ recientemente se ha concluido su no utilización como medida terapéutica de la enfermedad, porque aumenta el riesgo de eventos adversos asociados al tratamiento y de edema cerebral vasogénico, a pesar de esto, ciertos autores ratifican su aprobación a realizar estudios futuros de bapineuzumad con otras estrategias terapéuticas para reevaluar y orientar más claramente su potencial de uso;⁴⁶ en segundo lugar apareció Solanezumab, se efectuaron ensayos clínicos con la ambición de establecer su efectividad, pero la FDA desacreditó este anticuerpo que prometía tener función rehabilitadora.⁴⁷

Han surgido teorías en pro del manejo contra el daño cerebral inducido por el Alzheimer, así, Yan y col. describieron el estrés oxidativo a nivel mitocondrial exhibido en esta demencia, lo

⁴¹ JINDAL, Harashish. Alzheimer disease immunotherapeutics: Then and now. En: Hum Vaccin Immunother. Haryana. 2014. Vol. 10, No 9. p. 2742

⁴² FARLOW, Martin. Long-term treatment with active A β immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. En: Alzheimers Res Ther. Indiana. 2015. Vol. 7, No 1. p. 23.

⁴³ YANG, Cece. New developments of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease. En: Curr Pharm Biotechnol. Milán. 2015. Vol. 16, No 6.p. 484.

⁴⁴ PANZA, Francesco. Tau-based therapeutics for Alzheimer's disease: active and passive immunotherapy. En: Immunotherapy. Bari. 2016. Vol. 8, No 9. p. 1119.

⁴⁵ SALLOWAY, Stephen. Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. En: N Engl J Med. London. 2014. Vol. 370, No 4. p.322.

⁴⁶ ABUSHOUK, Abdelrahman. Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. En: BMC Neurol. Damascus. 2017. Vol. 17, No 1. p. 66.

⁴⁷ SACKS, Chana. The Failure of Solanezumab - How the FDA Saved Taxpayers Billions. Boston. 2017. Vol. 376, No 18.p. 1706.

cual se traduce en deterioro de la expansión clonal del ADNmt y por consiguiente se influencia la acumulación de mutaciones somáticas, estas, aunadas a los efectos propios de degeneración neuronal después de los 75 años predispone un mayor riesgo de deleciones, los tejidos más perjudicados son el hipocampo y el neocórtex,⁴⁸ a razón de esto, se cree que la bioenergética y sus funciones mediadas por el ciclo de Krebs contribuyen a mejorar la función metabólica e integralidad de la mitocondria, favoreciendo así a un menor número de mutaciones, por tanto, se ha incluido la evaluación de Oxaloacetato (OAA) en el tratamiento de la enfermedad, el OAA es un ácido dicarboxílico encontrado en el ciclo de Krebs y la gluconeogénesis, promete mejorar los parámetros bioenergéticos relacionados con la infraestructura bioquímica mitocondrial y reducir el estrés oxidativo implicado en la patogénesis de la EA.⁴⁹

Las terapias celulares ofrecen una gran promesa para el tratamiento de la EA, y el progreso de la investigación hasta la fecha apoya el uso de células madre para ofrecer tipos celulares de reemplazo y/o proporcionar el enriquecimiento ambiental para atenuar la neurodegeneración.⁵⁰

1.3 MÉTODOS COMPUTACIONALES PARA LA BÚSQUEDA DE NUEVOS FÁRMACOS

El descubrimiento, desarrollo e implementación comercial de fármacos es un proceso tan extenso que puede durar de 9 a 13 años, a razón de que su evolución investigativa comprende 4 etapas: búsqueda de la sustancia activa del medicamento, período preclínico, etapa clínica (incorpora 3 fases de estudios clínicos), finalmente la divulgación y mercantilización del fármaco.⁵¹

En consecuencia, en las últimas décadas se han ido creando estrategias para reducir el tiempo estimado que toma una molécula de actividad biológica en ser identificada por un

⁴⁸ YANA, Michael. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. En: Free Radic Biol Med. Barcelpona. 2013. Vol. 62. p. 90.

⁴⁹ SWERDLOW, Russell, *et al.* Tolerability and pharmacokinetics of oxaloacetate 100 mg capsules in Alzheimer's subjects. En: BBA Clin. Kansas. 2016. Vol. 10, No 5. p. 120.

⁵⁰ HOU, LingLing. Stem cells and neurodegenerative diseases. En: Sci China Ser C-Life Sci. Michigan. 2008. Vol. 70, No 3. p. 353.

⁵¹ RENDO, Pablo. Desarrollo de nuevos medicamentos, de la experiencia clínica al mercado: Una perspectiva desde la industria. En: Hematología. Colledgeville. 2015. Vol. 19. p. 179.

químico, hasta el momento en que llega al consumidor y este hace uso de ella, es así como se originó una novedosa técnica multidisciplinaria titulada diseño de fármacos asistido por computadora o diseño *in silico* de fármacos, esta engloba conocimientos en quimioinformática, modelado molecular, química teórica y química computacional; consiste en realizar un cribado virtual basado en la estructura de los ligandos o en su objetivo biológico (bioactividad) mediante la simulación de su interacción ligando-receptor, de esta forma simplificar la determinación de moléculas candidatas prometedoras. Sin embargo, estos modelos computacionales deben ser evaluados en pruebas experimentales sometidas a heterogéneas fases de optimización para dar resultados confiables y extrapolables a condiciones farmacodinámicas,^{52,53,54,55} puesto que, en el diseño de fármacos basado en estructura el principal obstáculo es el reordenamiento del receptor posterior a la unión del ligando (ajuste inducido), este dificulta el acoplamiento cruzado de ligandos de diferentes complejos ligando-receptor.⁵⁶

A tener en cuenta, el cribado fundamentado en la bioactividad del ligando incluye la correlación estructura – actividad cuantitativa e identificación de farmacóforos,⁵⁷ efectuando un análisis conformacional de pequeñas moléculas y generando estructuras 3D (tridimensional) de las mismas,⁵⁸ entretanto el método de cribado virtual basado en estructura incluye la realización de acoplamiento molecular,⁵⁷ este último permite explorar las posiciones y conformaciones adoptadas por ligandos dentro de los sitios de unión a blancos macromoleculares buscando encontrar la mejor pose de acoplamiento entre los

⁵² MEDINA, José. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. En: Educ. quím. México. 2015. Vol. 26. p. 181.

⁵³ BAIG, Mohammad. Computer Aided Drug Design: Success and Limitations. En: Curr Pharm Des. Seattle. 2016. Vol. 22, No 5.p. 572.

⁵⁴ LEELANANDA, Sumudu. Computational methods in drug discovery. En: Beilstein J Org Chem. Nashville. 2016. Vol. 66, No 1. p. 334.

⁵⁵ MACALINO, Stephani. Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. Arch Pharm Res. Korea. 2015. Vol. 38, No 9. p. 1686.

⁵⁶ CAVASOTTO, Claudio. Protein flexibility in ligand docking and virtual screening to protein kinases. En: J Mol Biol. La Jolla. 2004. Vol. 337, No 1. p. 209.

⁵⁷ NANDI, Sisir. Recent Advances in Ligand and Structure Based Screening of Potent Quorum Sensing Inhibitors Against Antibiotic Resistance Induced Bacterial Virulence. En: Recent Pat Biotechnol. Atenas. 2016. Vol. 10, No 2. p. 195.

⁵⁸ VUORINEN, Anna. Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. En: Methods. Austria. 2015. Vol. 71. p. 113.

compuestos con tal que la afinidad entre ellas sea óptima.^{59,60,61} En otras palabras, predecir la interacción energéticamente más favorable entre ellos, para esto es necesario disponer de la estructura tridimensional de la proteína receptora y de los ligandos potenciales;⁶² su funcionamiento consiste en dar un resultado cuantitativo al grado de interacción molecular, esto dado por la habilidad de los programas de acoplamiento para ejecutar un algoritmo de búsqueda donde se evalúa la conformación del ligando,⁶³ luego se aplica una función de puntuación de afinidad, en la cual expresan la energía de enlace representada en la suma de la energía electrostática y las fuerzas van der Waals de las posturas ligando-receptor y traducida a Kcal/mol.⁶⁴

En la actualidad, ha venido en aumento el diseño *in silico* de fármacos con potencial aplicación en la EA, esta estrategia tiene un papel muy importante durante la etapa de proyección de dichas moléculas multifuncionales, puesto que ayuda a identificar y eliminar aquellas moléculas con pocas probabilidades de éxito, reduciendo así de forma considerable los costes económicos y el tiempo asociado a la obtención de un nuevo fármaco.^{65,66}

⁵⁹ FERREIRA, Leonardo. Molecular docking and structure-based drug design strategies. En: Molecules. São Paulo. 2015. Vol. 20, No 7. p. 13384.

⁶⁰ GRINTER, Sam. Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design. En: Molecules. Misuri. 2014. Vol. 19, No 7. p. 10150.

⁶¹ MARTÍNEZ, Mauricio. Acoplamiento molecular basado en ligando por Complejidad LMC. En: Research in Computing Science. México. 2016. Vol. 116. p.195.

⁶² PIERRI, Ciro. Computational approaches for protein function prediction: a combined strategy from multiple sequence alignment to molecular docking-based virtual screening. En: Biochim Biophys Acta. Bari. 2010. Vol. 1804, No 9. p. 1695.

⁶³ GUEDES, Isabella. Receptor-ligand molecular docking. En: Biophys Rev. Rio de Janeiro. 2014. Vol 6, No 1. p. 75.

⁶⁴ PAGADALA, Nataraj. Software for molecular docking: a review. En: Biophys Rev. Canadá. 2017. Vol. 9, No 2. p. 91.

⁶⁵ ZHANG, Xueli. Near-infrared fluorescence molecular imaging of amyloid beta species and monitoring therapy in animal models of Alzheimer's disease. En: Proc Natl Acad Sci U S A. 2015. Vol. 112, No 31. p. 9734.

⁶⁶ RODRÍGUEZ, Cristina. Estrategias *in silico* para el diseño y selección de compuestos con potencial aplicación en la enfermedad de Alzheimer. Farnespaña INDUSTRIAL. Barcelona. 2014. Vol. 38. p. 67.

1.4 PROTEÍNA CDK5

El diseño *in silico* permite la búsqueda de inhibidores de proteínas asociados a la EA, una de estas proteínas es la Cdk5, serina/treonina quinasa que se activa en unión con p35 o p39 mediante la escisión por calpaína resultando productos como p25 y p29, quienes se ensamblan a CDK5,⁶⁷ a saber, esta ciclina regula procesos de migración neuronal, estratificación cortical, angiogénesis y plasticidad sináptica, no obstante, su desregulación está implicada en distintas neuropatologías, como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson^{68,69,70} y, recientemente, encefalopatías relacionadas con priones.⁷¹ A Cdk5 también se le atribuye el control de la supervivencia neuronal durante el desarrollo, sin embargo, es denominada "cinasa atípica dependiente de ciclina" por su casi nula participación en la regulación del ciclo celular, a pesar de esto, ciertos estudios señalan que en neuronas postmitóticas Cdk5 nuclear juega un papel crucial suprimiendo la iniciación del ciclo celular, por el contrario, si se activa lo hace de forma aberrante liberando componentes desreguladores que reanudan el ciclo anteriormente quiescente induciendo a muerte neuronal.^{72,73}

Además, la activación de CDK5 denota neurotoxicidad, pues su sobreexpresión en cultivos neuronales produce daño del citoesqueleto, apoptosis e hiperfosforilación de tau⁷⁴ en

⁶⁷ SHUKLA, Vasha. Deregulated Cdk5 Activity Is Involved in Inducing Alzheimer's Disease. Arch Med Res. Maryland. 2012. Vol. 43, No 8. p. 655.

⁶⁸ LOPES, Joao. Cdk5: multitasking between physiological and pathological conditions. En: Prog Neurobiol. Coímbra. 2011. Vol 94, No 1. p. 49.

⁶⁹ CHEN, Jie. [Roles of cyclin-dependent kinase 5 in central nervous system development and neurodegenerative diseases]. En: Sheng Li Xue Bao. Shanghai. 2010. Vol. 62, No 4. p. 295.

⁷⁰ FIELDS, Jerel. Mechanisms of HIV-1 Tat neurotoxicity via CDK5 translocation and hyper-activation: role in HIV-associated neurocognitive disorders. En: Curr HIV Res. California. 2015. Vol. 13, No 1.p. 43.

⁷¹ LOPES, João. Cdk5 acts as a mediator of neuronal cell cycle re-entry triggered by amyloid-beta and prion peptides. En: Cell Cycle. Coímbra. 2009. Vol. 8, No 1. p. 97.

⁷² CHEUNG, Zelda. Cdk5: a multifaceted kinase in neurodegenerative diseases. En: Trends in Cell Biology. Hong Kong. 2012. Vol. 22, No 3. p. 169.

⁷³ SHAH, Kavita. Cdk5 activity in the brain - multiple paths of regulation. En: J Cell Sci. Indianápolis. 2014. Vol. 127, No 11. p. 2391.

⁷⁴ LÓPEZ, Alejandro. Silencing of CDK5 as potential therapy for Alzheimer's disease. En: Rev Neurosci. Berlin. 2011. Vol. 22, No 2. p. 143.

Ser202, Thr205, Ser235 y Ser404⁷⁵, por consiguiente, producción de ovillos neurofibrilares, uno de los sellos patognomónicos de la enfermedad de Alzheimer, en consecuencia, su inhibición podría ser utilizada como un mecanismo de freno a la progresión de esta demencia.⁷²

⁷⁵ MACCIONI, Ricardo. The protein kinase Cdk5. Structural aspects, roles in neurogenesis and involvement in Alzheimer's pathology. En: Eur J Biochem. Santiago. 2001. Vol. 268, No 6. p. 1518.

2. METODOLOGÍA

2.1. TIPO DE ESTUDIO

Este estudio es una investigación de tipo computacional, enfocada en el diseño de nuevos fármacos, y se empleó *software* y páginas *web* de libre acceso.

2.2. SOFTWARE

AutoDock Vina fue el principal programa de acoplamiento utilizado en este trabajo.⁷⁶ Se utilizó un programa de conversión de formato molecular, Open BabelGUI, para transformar geometrías al formato pdbqt para su procesamiento posterior. La preparación de los archivos pdbqt y la determinación del tamaño de la caja de cuadrícula se llevaron a cabo utilizando Auto-Dock Tools versión 1.1. SYBYL 8.1.1 se utilizó para preparar estructura de la proteína CDK5. Además, PyMol (DeLano Scientific LLC, EE.UU.) fue empleado para visualizar los complejos proteína - ligando. La identificación de los residuos proteicos que interactúan con los mejores ligandos se llevó a cabo empleando LigandScout 3.0.

2.3. SELECCIÓN DE MOLÉCULAS Y PROTEÍNA

Para la realización de este estudio *in silico*, se descargaron las estructuras tridimensionales de las moléculas en formato sdf de la base de datos *Pubchem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>),⁷⁷ se extrajeron 911 ligandos que fueron subidos a este portal *web* entre marzo y noviembre de 2014. Se ingresaron al programa OpenBabel y se convirtieron al formato pdbqt [Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)].⁷⁸ Posteriormente, se descargó la estructura tridimensional de la proteína CDK5, de la base de datos Protein Data Bank (PDB) con el código 3O0G. Se minimizó la proteína utilizando las cargas parciales atómicas por el método de Kollman, que describe el potencial

⁷⁶ TROTT, Oleg. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *En: J Comput Chem*. La Jolla. 2009. Vol. 31, No 2, p. 455.

⁷⁷ THIESEN, PA. Pubchem Substance and Compound database [online]. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jun 4. 44 (D1): d1202-13. Oxford. doi: 10.1093/nar/gkv951.

⁷⁸ PÁJARO, Nerlys. Potential interaction of components from essential oils with dengue virus proteins. *En: Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. Cartagena. 2015. Vol. 14, No 3. p. 143.

del sistema en términos de las posiciones de energía de los átomos, y está parametrizado para proteínas y ácidos nucleicos. Se utilizó el *software* MGLTools 1.5.0 para convertir estructuras de pdb a formato pdbqt, agregando hidrógenos polares y asignando cargas parciales de Kollman.⁷⁸

2.4. ACOPLAMIENTO MOLECULAR

AutoDock Vina fue empleado para realizar el acoplamiento molecular, tres corridas de los ligandos seleccionados con la proteína CDK5 extraída de pdb fueron realizadas para determinar posibles sitios de unión entre estos. El sitio de acoplamiento para los ligandos en la proteína CDK5 se definió estableciendo un cubo con una dimensión suficiente para cubrir la proteína completa, con un espaciado de punto de rejilla de 1 Å. Para cada carrera se guardó la mejor pose. Finalmente, el promedio del valor de afinidad en Kcal/mol para la mejor pose fue aceptado como el valor de afinidad de unión para un complejo particular.¹² Posteriormente se organizaron las moléculas con respecto a su valor de afinidad con CDK5 de mayor a menor, y se seleccionaron los ligandos con mayor puntuación.⁷⁸

2.5. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR

Para comprobar la predictibilidad del método utilizado se realizó el acoplamiento molecular con un inhibidor conocido para la proteína evaluada,⁷⁸ el cual es 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3nitrofenil) metanona,⁷⁹ empleando AutoDock Vina. Además se evaluó la capacidad de los ligandos estudiados de unirse al mismo sitio activo en el que se une el inhibidor en la proteína, para poder inferir la actividad inhibitoria de los mismos.

2.6. IDENTIFICACIÓN DE INTERACCIONES PROTEÍNA-LIGANDO

La identificación de residuos proteicos que interaccionan con los ligandos que poseen las mayores afinidades se llevó a cabo con LigandScout 3.0. Este programa desarrolla farmacóforos para proponer el número y el tipo de las interacciones primarias existentes de ligando-residuo en el sitio activo de la proteína.⁷⁸

⁷⁹ AHN, Jae. Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. *En: Chem Biol.* New York. 2005. Vol. 12. p. 812.

2.7. ACOPLAMIENTO INVERSO

Para la identificación de otros posibles blancos se realizó un acoplamiento inverso empleando la página web "*Alzheimer's disease target prediction*" (<http://nps.jnu.edu.cn>), la cual es una página web de libre acceso y combina métodos basados en la estructura y en el ligando para identificar blancos moleculares en una librería de 519 sitios activos de 29 blancos contra la EA, generando resultados de puntuación en Kcal/mol.⁸⁰

⁸⁰ GAO-KENG, Xiao. Alzheimer's Disease target prediction Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, China.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los ligandos identificados con los cinco mejores valores de afinidad a la proteína CDK5 son expuestos en la tabla 1. (Ver Anexo 1, todos los resultados).

Tabla 1. Resultados de acoplamiento molecular de los mejores complejos proteína CDK5-ligando

NOMBRE	CÓDIGO	AFINIDAD (Kcal/mol)
15,16-Ethenohexabenzo[bc,ef,hi,kl,no,qr]coronene	86223021	-17,7±0,0
(3-methyl-8,13-dioxo-4aH-naphtho[2,3-a]phenoxazin-7-yl) 4-methoxybenzoate	78369689	-12,0±0,0
N8,N10-dicycloheptyl-1,2,3,4,4a,6,7,11,12,13a-decahydrobenzo[d]bis([1,2,3]triazolo)[5,1-b:1',5'-f][1,3,6]thiadiazepine-8,10-dicarboxamide	78235921	-11,8±0,0
	78225453	-11,8±0,0
2-[8-(1,3-benzothiazol-2-yl diazenyl)naphthalen-2-yl]-5-(4-phenylbutyl)-1,3-thiazole-4-carboxylic acid	78225395	-11,6±0,0

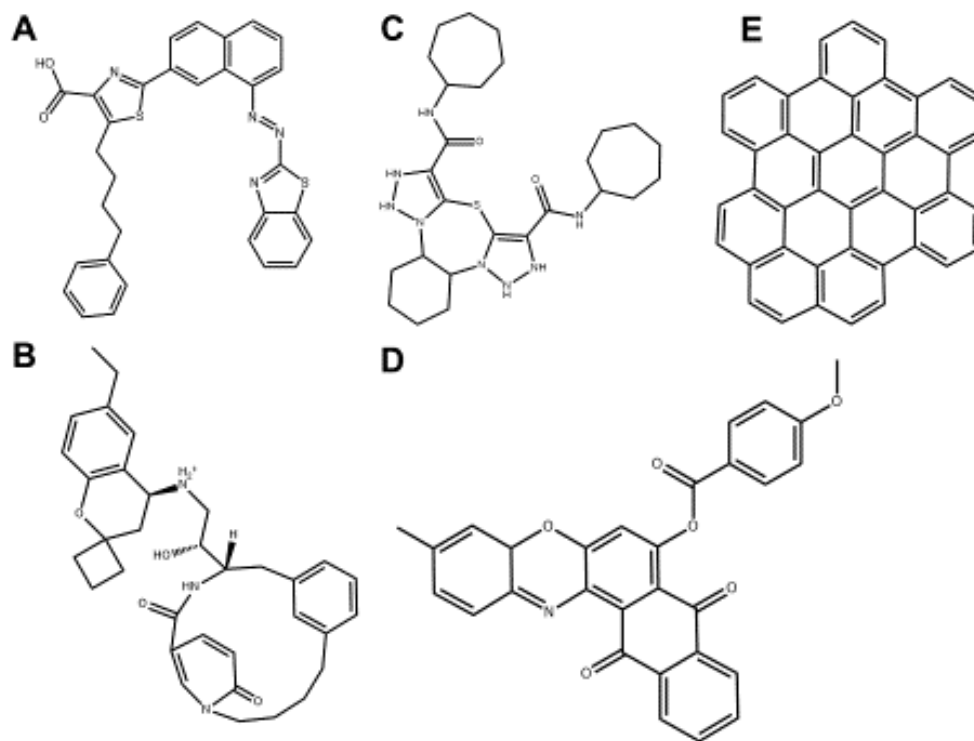
Fuente: Datos de resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

Los resultados de acoplamiento molecular de este estudio, revelan un alto valor de afinidad comparándolos con los obtenidos de interacciones entre CDK5 y los compuestos flavonoides: sulfuretin, aureusidin, aurone glycoside, aureusidin-6-O-b-D-glucopyranoside, hovetrichoside C, the flavonoid glycoside, quercetin-3-O-b-D-galactopyranoside y Cupressuflavone, la energía de enlace prevista más alta de todas estas uniones fue de -9,60 Kcal/mol;⁸¹ otras revisiones demuestran afinidades de -14,8 Kcal/mol entre flavonoides y la proteína blanco, sin embargo, en nuestro análisis la mejor afinidad encontrada fue de -17,7

⁸¹ SHRESTHA, Sabina. Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from *Rhus parviflora*. *En: Bioorg Med Chem Lett.* Yongin. 2013. Vol. 23, No 18. p. 5150.

Kcal/mol,⁸² lo que indica una preferible capacidad inhibidora de los candidatos propuestos en este trabajo, su estructura molecular 2D es mostrada en la figura 1.

Figura 1. Estructura 2D de moléculas estudiadas. A. 78225395, B. 78225453, C. 78235921, D. 78369689, E. 86223021.



Fuente. Estructuras obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

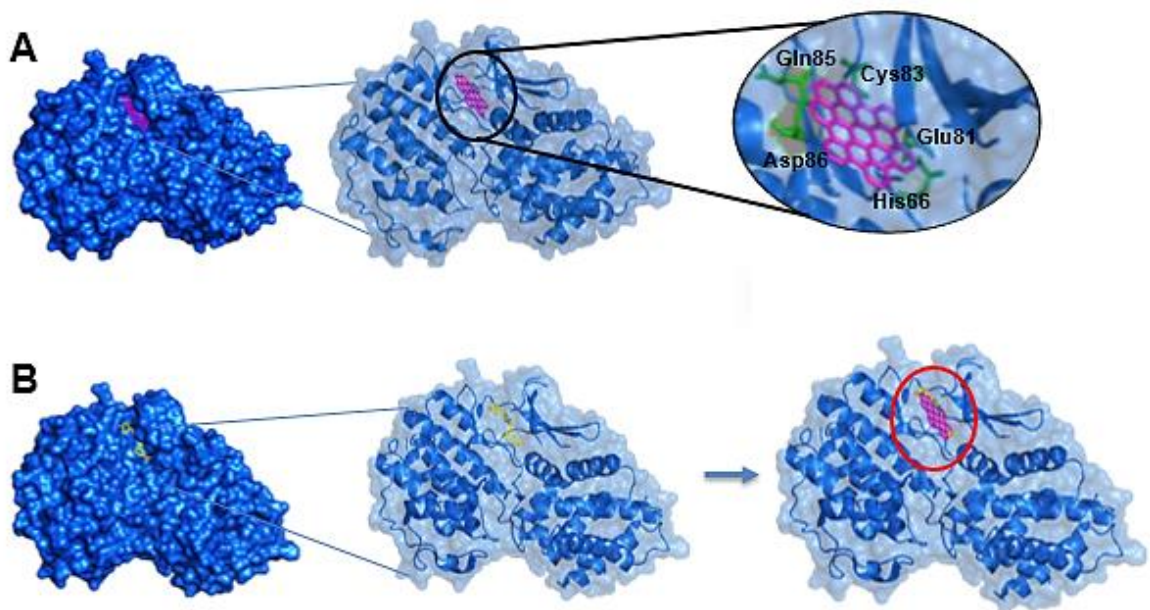
Los mejores valores de acoplamiento molecular de complejos proteína-ligando son mostrados en su respectivo orden en las figuras 2, 3, 4, 5 y 6. En la figura 2, es posible observar el sitio de unión del ligando 86223021 con la proteína CDK5, los aminoácidos encargados de la interacción proteína-ligando fueron, glutamina 85 (Gln85), ácido aspártico 86 (Asp86), histidina 66 (His66), cisteína 83 (Cys83) y ácido glutámico 81 (Glu81), siendo

⁸² MASCAYANO, Carolina. Síntesis de derivados de 1-bencilisoquinolinas como posibles inhibidores de CDK5 y estudio de las interacciones en el sitio de unión de ATP. En: Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. Santiago. 2006.

estos dos últimos los principales responsables del enlace CDK5-86223021, un estudio que describió nuevos inhibidores para la quinasa dependiente de ciclina 5, competitivos con ATP, y comparó sus resultados con R-roscovitine, aloisine-A e indirubin-3-oxime, inhibidores ya descritos, observó que los inhibidores evaluados interactuaban con el grupo N-H de Cys83, con el grupo carbonilo de Cys83 y con el grupo Carbonilo de Glu81,⁸³ los mismos aminoácidos identificados en este complejo, de este mismo proceso experimental fue descrito el inhibidor {4-amino-2-[(4-chlorophenyl)amino]-1,3-thiazol- 5-yl}(3-nitrophenyl)methanone, color amarillo, el cual se une a CDK5 en el mismo sitio que este ligando; por lo anterior, se argumenta la capacidad del ligando identificado para actuar como posible inhibidor de CDK5.

Figura 2. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (86223021) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5- 86223021- Inhibidor* (amarillo).

* 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona.



Fuente. Gráficas obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

⁸³ AHN, Jae. Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. *En: Chem Biol.* New York. 2005. Vol. 12. p. 813.

La figura 3 expone el acoplamiento entre el ligando 78369689 y CDK5, los aminoácidos presentes en esta unión fueron ácido aspártico 86 (Asp86), fenilalanina 82 (Phe82), cisteína 83 (Cys83) y ácido glutámico 81 (Glu81); una investigación con moléculas derivadas de roscovitine diseñadas por aminación de Buchwald-Hartwing describe como sitio activo más importante de CDK5 al aminoácido Lys 89, sin embargo, también exhibe enlaces relevantes con los aminoácidos Gln 130 y Cys83,⁸⁴ este último, identificado en la interacción 78369689-CDK5. Por otro lado, la búsqueda por encontrar fármacos con múltiples blancos condujo a un grupo de investigadores a evaluar el efecto neuroprotector de sunitinib, inhibidor de la tirosina quinasa (TKI), indicado en el manejo terapéutico de ciertos tipos de cáncer,⁸⁵ su efecto se comparó *in silico* con roscovitine para observar sus residuos de aminoácidos enlazantes con CDK5, se constató que ambos tenían predilección al asociarse con Lys 89 y Cys 83, además sunitinib manifestó afinidad por Asp86, aminoácido presente en la interacción referida en la figura 3. Otros residuos encontrados en este estudio para roscovitine y sunitinib fueron Isoleucina 10 (Ile 10) y valina 18 (val18).⁸⁶ Así se evidencia que este ligando, 78369689, se empalma con aminoácidos que precedentemente han sido descritos como importantes sitios de interacción, aunado, se une al mismo sitio activo de un inhibidor ya descrito, 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona (figura 3,B).

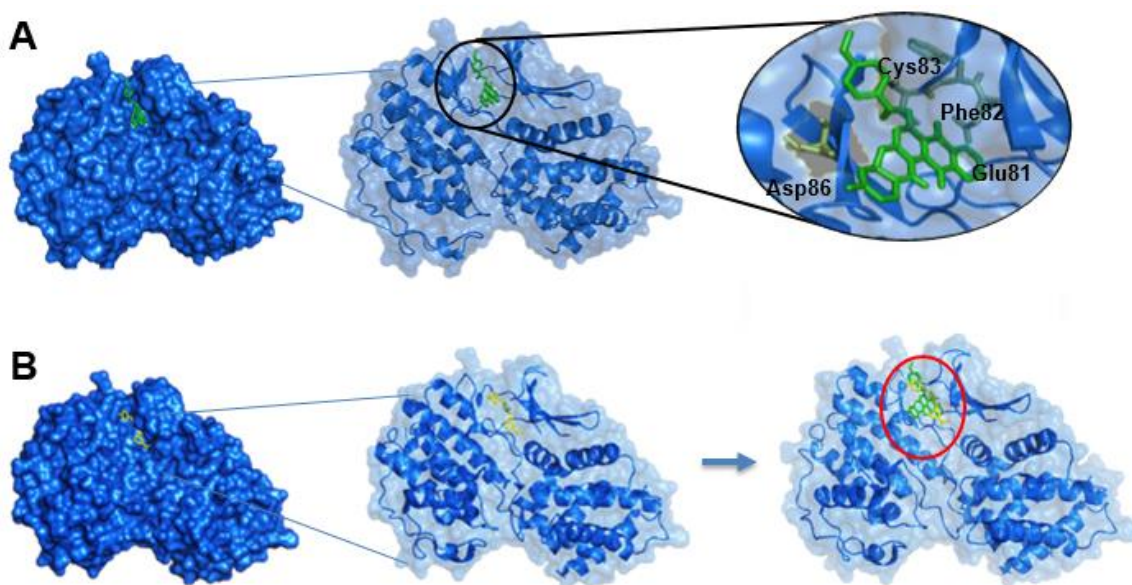
⁸⁴ DEMANGE, Luc. Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling. En: Bioorg Med Chem Lett. Paris. 2013. Vol. 23, No 1. p. 125.

⁸⁵ HAAS, Bodo. Is sunitinib a Narrow Therapeutic Index Drug? - A systematic review and in vitro toxicology-analysis of Sunitinib vs. Imatinib in cells from different tissues. En: Regul Toxicol Pharmacol. Bonn. 2016. Vol. 77. p. 25.

⁸⁶ WRASIDLO, Wolf. Neuroprotective effects of the anti-cancer drug sunitinib in models of HIV neurotoxicity suggests potential for the treatment of neurodegenerative disorders. En: Br J Pharmacol. San Diego. 2014. Vol. 171, No 24. p. 5757.

Figura 3. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78369689) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5- 78369689- Inhibidor* (amarillo).

* 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona.



Fuente. Gráficas obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

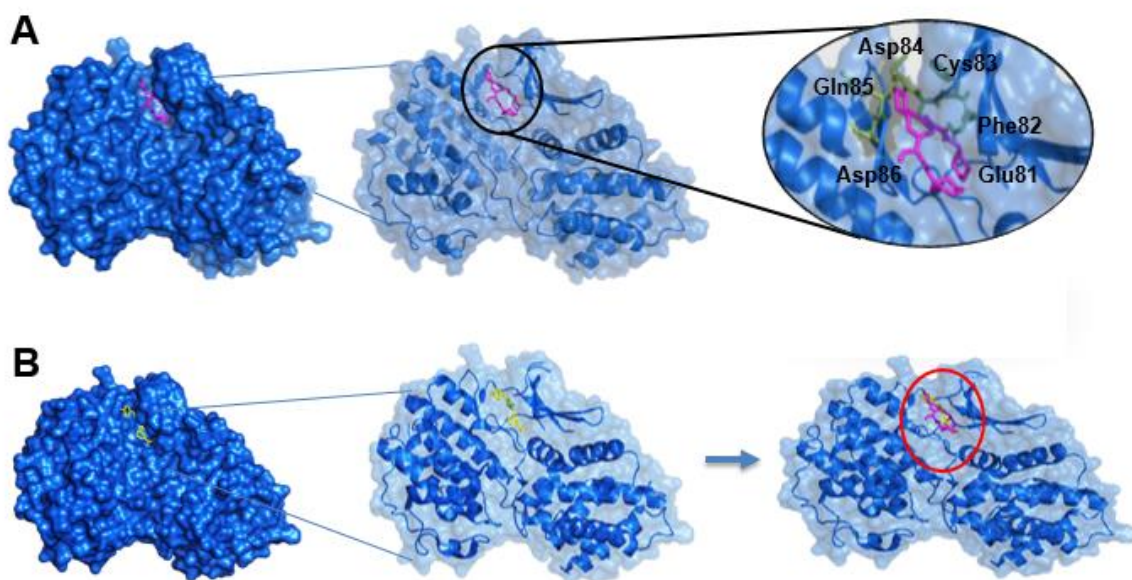
Es descrito en la figura 4, la formación del complejo CDK5-78235921, manifiesta como aminoácidos enlazantes al ácido aspártico 84 (Asp84), ácido aspártico 86 (Asp86), glutamina 85 (Gln85), fenilalanina 82 (phe82), cisteína 83 (Cys83) y ácido glutámico 81 (Glu81). *Chatterjee y col.* describen que el enlace con Cys 83 debe encontrarse entre CDK5 y su posible molécula interaccionante, tal como se observó en los anteriores complejos proteína-ligando, en adición, se reporta que Cys83 y Asp84 son los únicos dos residuos de aminoácidos diferentes en el dominio catalítico para CDK5 que no tienen homología con dominios de unión ATP a otras ciclinas dependientes de quinasa, así, ligandos que se unan a estos residuos serían selectivos para CDK5, tal como se identifica en este complejo.⁸⁷

⁸⁷ CHATTERJEE, Arindam. Discovery of thienoquinolone derivatives as selective and ATP non-competitive CDK5/p25 inhibitors by structure-based virtual screening. *En: Bioorg Med Chem. Mississippi. 2014. Vol. 22, No 22. p. 6409.*

Distintos expertos afirman que Lys 33 es un aminoácido importante en el sitio activo de la proteína que se deberá enlazar a su ligando o receptor,⁸⁸ sin embargo, en esta figura no se evidenció ese residuo. La molécula 78235921 se une al mismo sitio activo que el inhibidor 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona, justificando su posible capacidad inhibidora.

Figura 4. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78235921) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5- 78235921- Inhibidor* (amarillo).

* 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona.



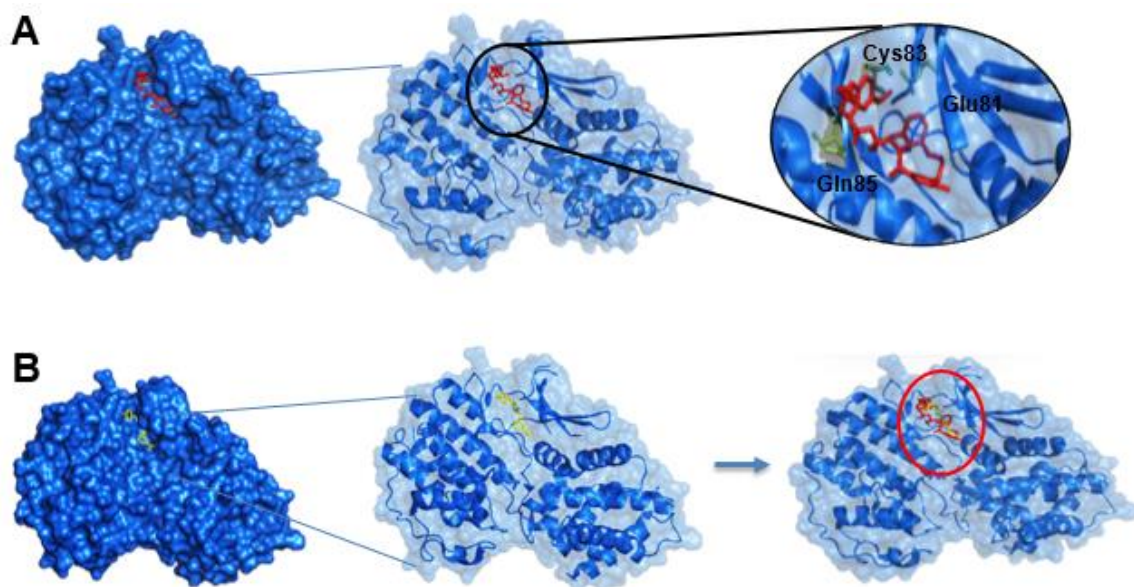
Fuente. Gráficas obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

La figura 5 revela el complejo formado por CDK5-78225453, se evidencian como residuos de aminoácidos a glutamia 85 (Gln85), cisteína 83 (Cys83) y ácido glutámico 81 (Glu81). 78235921 se une al mismo sitio activo que el inhibidor 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona, estableciendo un posible en la inhibición de CDK5.

⁸⁸ DONG, Keke. Binding Mechanism of CDK5 with Roscovitine Derivatives Based on Molecular Dynamics Simulations and MM/PBSA Methods. *En: J Mol Graph Model*. Nankín. 2016. Vol. 68. p. 57.

Figura 5. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78225453) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5- 78225453- Inhibidor* (amarillo).

* 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona.



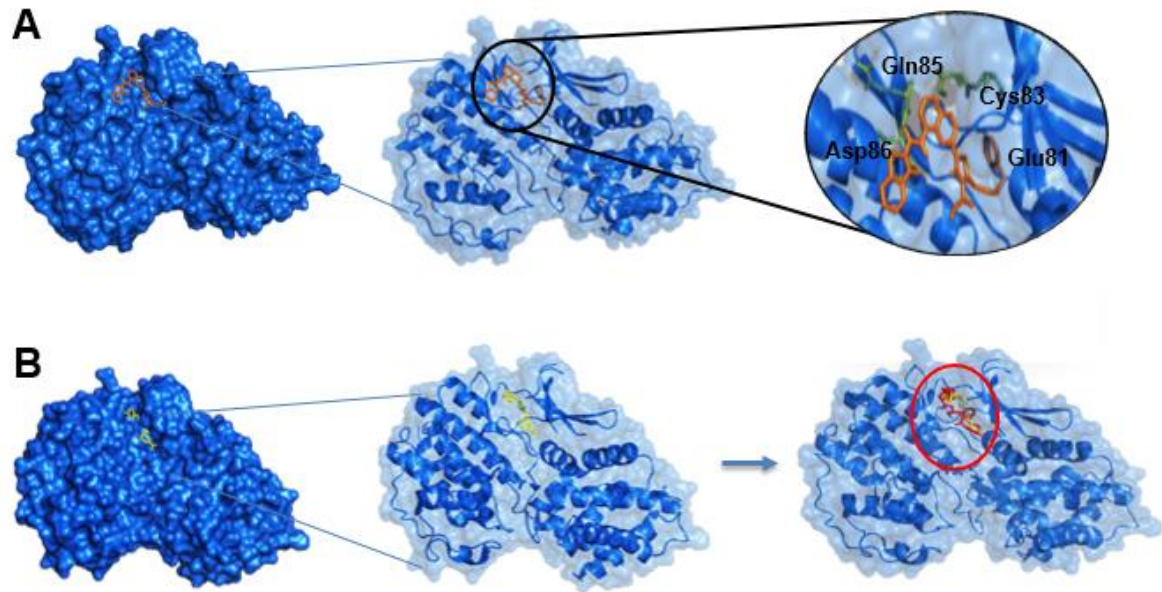
Fuente. Gráficas obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

En la figura 6 es posible analizar el sitio de unión del ligando 78225395 con la proteína CDK5, los aminoácidos encargados de la interacción proteína ligando fueron, glutamina 85 (Gln85), ácido aspártico 86 (Asp86), cisteína 83 (Cys83) y ácido glutámico 81 (Glu81), residuos análogos a los encontrados por *Ahn* y *col.* en su estudio por definir ligandos con capacidad inhibitoria contra CDK5.⁸⁹ por otro lado, también se constata la unión de 78225395 al mismo sitio activo que el inhibidor 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona, justificando su posible habilidad para inhibir CDK5.

⁸⁹ AHN, Jae. Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. *En: Chem Biol.* New York. 2005. Vol. 12. p. 813.

Figura 6. A. Vista tridimensional del complejo proteína- ligando (78225395) y aminoácidos implicados en dicha interacción. B. Complejo CDK5- 78225395- Inhibidor* (amarillo).

* 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol- 5-il}(3-nitrofenil)metanona.



Fuente. Gráficas obtenidas de resultados del presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

En este trabajo además, se identificó otros blancos relacionados con la EA mediante acoplamiento inverso, mostrados en la tabla 2, las proteínas que tuvieron interacción con todos los cinco mejores ligandos seleccionados en nuestro estudio fueron: fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PIK3CG), la proteína quinasa 14 activada por mitógenos (MAPK14) y la fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDE5A). Nishikawa et al., describieron la inmunoreactividad de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma en el hipocampo, la corteza entorrinal y el neocortex de 5 pacientes con EA, establecieron que este lípido participa en la degeneración de cuerpos granuvacuolares y en la formación de los ovillos neurofibrilares.⁹⁰ Por otro lado, un estudio en murinos inyectados intracerebralmente con péptido amiloide encontró que PIK3CG juega un papel crítico en la neuro-inflamación, migración de células

⁹⁰ NISHIKAWA, Tomokazu. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulovacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles. *En: Neuropathol Appl Neurobiol.* Tokushima. 2014. Vol. 40, No 4. p. 490.

inflamatorias, la disfunción sináptica y déficit cognitivos.⁹¹ Con respecto a la , la proteína quinasa 14 activada por mitógenos, pertenece a la superfamilia de las proteína quinasas activadas por mitógenos, la literatura elude estudios in vitro de fosforilación de Tau por estas proteínas en sitios de prolina Ser / Thr, generando así la producción de ovillos neurofibrilares,⁹² sin embargo, al aumentar MAPK14 se disminuye la degradación autofágico – lisosómica neural, incrementando así los niveles de BACE1 y favoreciendo la producción de placas amiloides.⁹³

Acerca de la enzima fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica, se halla células del músculo liso aórtico, la placenta, el corazón, el páncreas y músculo esquelético, en menor grado, en el cerebro, el hígado y los pulmones.⁹⁴ Actúa por inactivación metabólica bloqueando la señalización de nucleóticos cíclicos implicados en la regulación de la plasticidad sináptica, su sitio activo contiene un residuo de glutamina que contribuye a la unión con cGMP por medio de un doble enlace de hidrógeno, se maneja la hipótesis de "Glutamine Switch", la cual plantea que los enlaces de hidrógeno alrededor de glutamina sirven para bloquearla en una conformación fija o producir cambio conformacional.⁹⁵

Desde la perspectiva de la funcionalidad biológica de estas proteínas identificadas por acoplamiento inverso, se infiere la capacidad de los ligandos registrados en este trabajo para interferir con la progresión de diferentes puntos blancos implicados en la EA.

⁹¹ PASSOS, Giselle. Involvement of phosphoinositide 3-kinase gamma in the neuro-inflammatory response and cognitive impairments induced by beta-amyloid 1-40 peptide in mice. En: Brain Behav Immun. 2010. Vol. 24, No 3. p. 493.

⁹² HADDAD, John. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention?. En: Prog Neurobiol. San Francisco. 2004. Vol. 73, No 5. p. 359.

⁹³ ALAM, John. Targeting neuronal MAPK14/p38 α activity to modulate autophagy in the Alzheimer disease brain. En: Autophagy. Netherlands. 2016. Vol. 12, No 12. p. 2516.

⁹⁴ LOUGHNEY, Kate. Isolation and characterization of cDNAs encoding PDE5A, a human cGMP-binding, cGMP-specific 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. En: Gene. Seattle. 1998. Vol. 216, No 1. p. 140.

⁹⁵ BALES, Kelly. Phosphodiesterase Inhibition to Target the Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease. En: Top Med Chem. Valby. 2010. Vol. 6. p. 60.

Tabla 2. Acoplamiento de los ligandos estudiados con otras proteínas relacionadas con la enfermedad de Alzheimer

Ligando	Proteínas	Dockscore
86223021	Caspasa-6 (PDB: 4nbn)	9.9549
	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (PDB: 3zs5)	9.1454
	Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PDB: 4anw)	8.9352
	Serina / treonina - proteína quinasa GSK3B (PDB: 1q41)	8.8719
	Acetilcolinesterasa (PDB: 1q83)	8.6722
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDb: 2h42)	8.6378
78369689	Amina oxidasa [contiene flavina] B (PDB: 4a79)	10.7461
	Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PDB: 3oaw)	10.0817
	Beta-secretasa 1 (4dpf)	9.8924
	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (PDB: 3zsg)	9.7452
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDB: 1udu)	9.4676
	Acetilcolinesterasa (PDB: 2gyv)	9.2271
78235921	Beta-secretasa 1 (PDB: 2qmd)	10.0823
	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (PDB: 3zs5)	9.6702
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDB: 1udu)	9.0665
	Colinesterasa (PDB: 4b0o)	8.7857
	Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PDB: 4anx)	8.7589
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDB: 4jib)	8.2192
78225453	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDB: 2h42)	10.4002
	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (PDB: 1oz1)	10.2782
	Beta-secretasa 1 (PDB: 3in3)	10.0435
	Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PDB: 3tl5)	9.8788
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cíclica 4B específica (PDB: 3w5e)	8.9291
	Caspasa-6 (PDB: 4nbl)	8.8752
78225395	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (PDB: 4l8m)	11.0298

	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cíclica específica de alta afinidad 9A (PDB: 3dys)	11.0184
	Receptor del factor de crecimiento epidérmico (PDB: 2rgp)	10.7239
	Fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa subunidad catalítica gamma isoforma (PDB: 3ene)	10.3381
	Colinesterasa (PDB: 4b0o)	9.2155
	Fosfodiesterasa cíclica 3', 5'-cGMP específica (PDB: 2h42)	9.0967

Fuente. Datos organizados de resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo, autor Jesús Bustamante.

4. CONCLUSIONES

Se concluye que los ligandos hallados, descritos y evaluados virtualmente podrían actuar como inhibidores de CDK5, lo que abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la EA, además, se evidenció que estas moléculas no solo interaccionan con CDK5, también lo hacen con otros blancos moleculares implicados en la patogenia de la EA, permitiendo argumentar la posible utilización de estos en el estudio multifactorial de la enfermedad.

5. RECOMENDACIONES

A la Universidad de Sucre- Facultad Ciencias de la Salud- programa de medicina:

- Continuar con el desarrollo de este proyecto mediante la ejecución y comprobación experimental de los resultados planteados en la presente investigación.
- Determinar el perfil ADME y toxicológico de las moléculas con mayores valores de afinidad.

BIBLIOGRAFÍA

ABUSHOUK, Abdelrahman, *et al.* Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Neurol* [Internet], 2017 [consultado 7 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28376794>>. ISSN 1471-2377.

AGGLETON, John, *et al.* Thalamic pathology and memory loss in early Alzheimer's disease: moving the focus from the medial temporal lobe to Papez circuit. *Brain* [Internet], 2016 [consultado 24 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4939698/>>. ISSN 1460-2156.

AHN, Jae, *et al.* Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. *Chem Biol* [Internet]. 2005 [consultado 24 Julio 2017]. Disponible en: <[http://www.cell.com/ccbio/abstract/S1074-5521\(05\)00157-2](http://www.cell.com/ccbio/abstract/S1074-5521(05)00157-2)>. ISSN 1074-5521.

ALAM, John y SCHEPER, Wiep. Targeting neuronal MAPK14/p38 α activity to modulate autophagy in the Alzheimer disease brain. *Autophagy* [Internet], 2016 [consultado 6 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5173254/>>. ISSN 1554-8635.

ALONSO, Alejandra. Mecanismo de la neurodegeneración inducida por las proteínas tau en la enfermedad de Alzheimer y taupatías relacionadas. *Real Invest Demenc* [Internet], 2009 [consultado 22 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.psiquiatria.com/alzheimer_y_demencia/mecanismo-de-la-neurodegeneracion-inducida-por-las-proteinas-tau-en-la-enfermedad-de-alzheimer-y-taupatias-relacionadas/>. ISSN 1137-1242.

BAIG, Mohammad, *et al.* Computer Aided Drug Design: Success and Limitations. *Curr Pharm Des* [Internet], 2016 [consultado 10 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26601966>>.ISSN 1873-4286.

BALES, Kelly, *et al.* Phosphodiesterase Inhibition to Target the Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Top Med Chem* [Internet], 2010 [consultado 8 Agosto 2017]. Disponible en: <https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F7355_2010_8>. ISSN 1873-4294.

BAZZOCCHINI, Vanesa. Mecanismos etiopatogénicos, fisiopatológicos y moleculares de la Enfermedad de Alzheimer. *Revista bioanálisis* [Internet], 2012 [consultado 24 Junio 2017]. Disponible en: <http://revistabioanálisis.com/arxius/notas/nota1_24.pdf>. ISSN 1669-8703.

BERNHARDI, Rommy. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. Rev Chil Neuro-Psiquiatr [Internet]. 2005 [consultado 11 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272005000200005>. ISSN 0717-9227.

CAVASOTTO, Claudio y ABAGYAN Ruben. Protein flexibility in ligand docking and virtual screening to protein kinases. J Mol Biol [Internet], 2004 [consultado 11 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15001363>>. ISSN 0022-2836.

CHARTTERJEE, Arindam, *et al.* Discovery of thienoquinolone derivatives as selective and ATP non-competitive CDK5/p25 inhibitors by structure-based virtual screening. Bioorg Med Chem [Internet], 2014 [consultado 1 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4254530/>>. ISSN 0968-0896.

CHEN, Jie y WANG, Zhong. [Roles of cyclin-dependent kinase 5 in central nervous system development and neurodegenerative diseases]. Sheng Li Xue Bao [Internet], 2010 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20717630>>. ISSN 0371-0874.

CHENG, Shaowu, *et al.* Triptolide preserves cognitive function and reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. PLoS One [Internet], 2014 [consultado 13 junio 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25275487>. ISSN 1932-6203.

CHEUNG, Zelda y IP, Nancy. Cdk5: a multifaceted kinase in neurodegenerative diseases. Trends in Cell Biology [Internet]. 2012 [consultado 19 Julio 2017]. Disponible en: <http://iplab.ust.hk/pdf/Reviews%20pdf/2012_03%20TrendsCellBiol.pdf>. ISSN 0962-8924.

DEMANGE, Luc, *et al.* Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling. Bioorg Med Chem Lett [Internet], 2013 [consultado 27 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23218601>>. ISSN 0960-894X.

DONG, Keke, *et al.* Binding Mechanism of CDK5 with Roscovitine Derivatives Based on Molecular Dynamics Simulations and MM/PBSA Methods. J Mol Graph Model [Internet], 2016 [consultado 2 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27371933>>. ISSN 1093-3263.

DOODY, Rachele, *et al.* A Phase 3 Trial of Semagacestat for Treatment of Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* [Internet], 2013 [consultado 30 Junio 2017]. Disponible en: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1210951#t=article>>. ISSN 0028-4793.

EL, Nehme, *et al.* AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study. *Methods Mol Biol* [Internet], 2017 [consultado 18 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28508374>>. ISSN 1940-6029.

FANG, Jiansong, *et al.* AlzhCPI: A knowledge base for predicting chemical-protein interactions towards Alzheimer's disease. *PLoS One*. [Internet], 2017 [consultado 16 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28542505>>. ISSN 1932-6203.

FANG, Jiansong, *et al.* Discovery of multitarget-directed ligands against Alzheimer's disease through systematic prediction of chemical-protein interactions. *J Chem Inf Model* [Internet], 2015 [consultado 15 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25531792>>. ISSN 1742-2051.

FARLOW, Martin, *et al.* Long-term treatment with active A β immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* [Internet], 2015 [consultado 2 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Long-term+treatment+with+active+A%CE%B2+immunotherapy+with+CAD106+in+mild+Alzheimer%27s+disease>>. ISSN 1758-9193.

FERREIRA, Leonardo, *et al.* Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules* [Internet], 2015 [consultado 11 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26205061>>. ISSN 1420-3049.

FIELDS, Jerel, *et al.* Mechanisms of HIV-1 Tat neurotoxicity via CDK5 translocation and hyperactivation: role in HIV-associated neurocognitive disorders. *Curr HIV Res* [Internet], 2015 [consultado 16 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4455959/>>. ISSN 1873-4251.

GAO-KENG, Xiao, *et al.* Alzheimer's Disease target prediction Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, China. [Internet], [consultado 24 Julio 2017]. Disponible en: <<http://nps.jnu.edu.cn>>.

GRA, Silvia, *et al.* Péptido beta amiloide, proteína tau y enfermedad de alzheimer. *Rev Cubana Invest Biomed* [Internet], 2002 [consultado 18 Junio 2017]. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol21_4_02/ibi06103.htm>. ISSN 1561-3011.

GRINTER, Sam y ZOU Xiaoqin. Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design. *Molecules* [Internet], 2014 [consultado 13 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25019558>>. ISSN 1420-3049.

GUEDES, Isabella, *et al.* Receptor-ligand molecular docking. *Biophys Rev* [Internet], 2014 [consultado 13 Julio 2017]. Disponible en: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12551-013-0130-2>>. ISSN 1867-2469.

HAAS, Bodo, *et al.* Is sunitinib a Narrow Therapeutic Index Drug? - A systematic review and in vitro toxicology-analysis of Sunitinib vs. Imatinib in cells from different tissues. *Regul Toxicol Pharmacol* [Internet], 2016 [consultado 28 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26924275>>. ISSN 1096-0295.

HADDAD, John. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention?. *Prog Neurobiol* [Internet], 2004 [consultado 6 Agosto 2017]. Disponible en: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008204001030>>. ISSN 1873-5118.

HENDEY, David, *et al.* Safety profile of semagacestat, a gamma-secretase inhibitor: IDENTITY trial findings. *Curr Med Res Opin* [Internet], 2014 [consultado 30 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Safety+profile+of+semagacestat%2C+a+gamma-secretase+inhibitor%3A+IDENTITY+trial+findings>>. ISSN 0300-7995.

HERRERA, Marisol, *et al.* Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. *Rev Neurol* [Internet], 2010 [consultado 14 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.neurologia.com/articulo/2009531>>. ISSN 1576-6578.

HOU, LingLing y HONG, Tao. Stem cells and neurodegenerative diseases. *Sci China Ser C-Life Sci* [Internet], 2008 [consultado 9 Julio 2017]. Disponible en: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11427-008-0049-1>>. ISSN 1674-7305.

HOWARD, Robert, *et al.* Donepezil and Memantine for Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* [Internet], 2012 [consultado 29 Junio 2017]. Disponible en: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1106668#t=article>>. ISSN 0028-4793.

JINDAL, Harashish, *et al.* Alzheimer disease immunotherapeutics: Then and now. *Hum Vaccin Immunother* [Internet], 2014 [consultado 2 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975071/>>. ISSN 2164-554X.

JOUBERT, Sven, *et al.* Early-onset and late-onset Alzheimer's disease are associated with distinct patterns of memory impairment. *Cortex* [Internet], 2016 [consultado 23 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26694580>>. ISSN 0010-9452.

KUMAR, Anil, *et al.* A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol. Rep* [Internet], 2015 [consultado 26 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25712639>>. ISSN 1734-1140.

LEELANANDA, Sumudu y LINDERT, Steffen. Computational methods in drug discovery. *Beilstein J Org Chem* [Internet], 2016 [consultado 10 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5238551/>>. ISSN 1860-5397.

LI, Honglin, *et al.* Drug Discovery and Development: Computational Approaches. *Wiley encyclopedia of chemical biology* [Internet], 2008 [consultado 15 Junio 2017]. Disponible en: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470048672.webc098/abstract?userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=>>. ISBN 9780470048672.

LOPES, João, *et al.* Cdk5: multitasking between physiological and pathological conditions. *Prog Neurobiol* [Internet], 2011 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21473899>>. ISSN 0301-0082.

LOPES, João, *et al.* Cdk5 acts as a mediator of neuronal cell cycle re-entry triggered by amyloid-beta and prion peptides. *Cell Cycle* [Internet], 2009 [consultado 16 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19158499>>. ISSN 1551-4005.

LÓPEZ, Alejandro, *et al.* Silencing of CDK5 as potential therapy for Alzheimer's disease. *Rev Neurosci* [Internet], 2011 [consultado 20 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21476938>>. ISSN 1471-0048.

LÓPEZ, Óscar. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Arch Med Interna* [Internet], 2015 [consultado 12 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-423X2015000200003>. ISSN 0212-7199.

LOUGHNEY, Kate, *et al.* Isolation and characterization of cDNAs encoding PDE5A, a human cGMP-binding, cGMP-specific 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Gene* [Internet]. 1998 [consultado 7 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9714779>>. ISSN 0378-1119.

LU, Rui, *et al.* Heat Shock Protein 70 in Alzheimer's Disease. *BioMed Research International* [Internet], 2014 [consultado 20 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/435203/>>. ISSN 2314-6141.

MACALINO, Stephani, *et al.* Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. Arch Pharm Res [Internet], 2015 [consultado 10 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26208641>>. ISSN 1976-3786.

MACCIONI, Cristóbal, *et al.* Nuevos paradigmas en el estudio de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Rev. chil. neuro-psiquiatr [Internet]. 2003 [consultado 14 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272003041200005&lng=es&nrm=iso&tIng=es>. ISSN 0717-9227.

MACCIONI, Ricardo, *et al.* The protein kinase Cdk5. Structural aspects, roles in neurogenesis and involvement in Alzheimer's pathology. Eur J Biochem [Internet], 2001 [consultado 21 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11248668>>. ISSN 0014-2956.

MARTÍNEZ, Mauricio, *et al.* Acoplamiento molecular basado en ligando por Complejidad LMC. Research in Computing Science [Internet], 2016 [consultado 13 Julio 2017]. Disponible en: <http://www.rcs.cic.ipn.mx/2016_116/Acoplamiento%20molecular%20basado%20en%20ligando%20por%20Complejidad%20LMC.pdf>. ISSN 1870-4069.

MASCAYANO, Carolina. Síntesis de derivados de 1-bencilisoquinolinas como posibles inhibidores de CDK5 y estudio de las interacciones en el sitio de unión de ATP. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología [Internet], 2006 [consultado 25 Julio 2017]. Disponible en: <<http://dspace2.conicyt.cl/handle/10533/15016>>.

MEDINA, José, *et al.* Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. Educ. quím [Internet], 2015 [consultado 9 Julio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2015000300180>. ISSN 0187-893X.

MENDEZ, Mario. Early-Onset Alzheimer Disease. Neurol Clin [Internet], 2017 [consultado 20 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28410659>>. ISSN 2163-0933.

MICHELI, Federico y FERNÁNDEZ, Manuel. Demencia. En: Neurología. 2 ed. Buenos Aires: Marcelo de Alvear, 2013. P. 143-162.

MITCHELL, Richard, *et al.* Sistema nervioso central. En: Compendio de Robbins y Cotran, patología estructural y funcional. 8 ed. Barcelona: Lluís Colomo, 2012. P. 657-689.

NANDI, Sisir. Recent Advances in Ligand and Structure Based Screening of Potent Quorum Sensing Inhibitors Against Antibiotic Resistance Induced Bacterial Virulence. *Recent Pat Biotechnol* [Internet], 2016 [consultado 11 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27468815>>. ISSN 2212-4012.

NISHIKAWA, Tomokazu, *et al.* Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulo vacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles. *Neuropathol Appl Neurobiol* [Internet], 2014 [consultado 3 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Phosphatidylinositol-4%2C5-bisphosphate+is+enriched+in+granulo vacuolar+degeneration+bodies+and+neurofibrillary+tangles>>. ISSN 1365-2990.

OMBRATO, Rosella, *et al.* Structure-Based Discovery of 1H-Indazole-3-carboxamides as a Novel Structural Class of Human GSK-3 Inhibitors. *J. Chem. Inf. Model* [Internet], 2015 [consultado 15 Junio 2017]. Disponible en: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.5b00486>>. ISSN 1520-5142.

PAGADALA, Nataraj, *et al.* Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* [Internet], 2017 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28510083>>. ISSN 1867-2469.

PÁJARO, Nerlys, *et al.* Potential interaction of components from essential oils with dengue virus proteins. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [Internet]. 2015 [consultado 24 Julio 2017]. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85638535001>>. ISSN 0717-7917.

PALASÍ, Antonio, *et al.* Differentiated clinical presentation of early and late-onset Alzheimer's disease: is 65 years of age providing a reliable threshold?. *J Neurol* [Internet], 2015 [consultado 22 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25791224>>. ISSN 1468-330X.

PANZA, Francesco, *et al.* Tau-based therapeutics for Alzheimer's disease: active and passive immunotherapy. *Immunotherapy* [Internet], 2016 [consultado 3 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27485083>>. ISSN 1750-7448.

PASSOS, Giselle, *et al.* Involvement of phosphoinositide 3-kinase gamma in the neuro-inflammatory response and cognitive impairments induced by beta-amyloid 1-40 peptide in mice. *Brain Behav Immun* [Internet], 2010 [consultado 4 Agosto 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20025958>>. ISSN 0889-1591.

PERRY, N, *et al.* Salvia lavandulaefolia essential oil inhibits cholinesterase in vivo. *Phytomedicine* [Internet]. 2002 [consultado 26 Junio 2017]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/11439535_Salvia_lavandulaefolia_essential_oil_inhibits_cholinesterase_in_vivo>. ISSN 0944-7113.

PIERRI, Ciro, *et al.* Computational approaches for protein function prediction: A combined strategy from multiple sequence alignment to molecular docking-based virtual screening. *Biochim Biophys Acta* [Internet], 2010 [consultado 16 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20433957>>. ISSN 0006-3002.

PRADA, Sergio, *et al.* Costo monetario del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en Colombia. *Acta Neurol Colomb* [Internet], 2014 [consultado 12 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-87482014000400004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0120-8748.

REITZ, Christiane y MAYEUX, Richard. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* [Internet], 2014 [consultado 10 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24398425>>. ISSN 00062952.

RENDO, Pablo. Desarrollo de nuevos medicamentos, de la experiencia clínica al mercado: Una perspectiva desde la industria. *Hematología* [Internet], 2015 [consultado 9 Julio 2017]. Disponible en: <<http://www.sah.org.ar/revista/numeros/25-vol%2019-extraordinario.pdf>>. ISSN 0329-0379.

ROCKENSTEIN, Edward, *et al.* Neuro-peptide treatment with Cerebrolysin improves the survival of neural stem cell grafts in an APP transgenic model of Alzheimer disease. *Stem Cell Res* [Internet], 2015 [consultado 20 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26209890>>. ISSN 1873-5061.

RODRÍGUEZ, Cristina, *et al.* Estrategias *in silico* para el diseño y selección de compuestos con potencial aplicación en la enfermedad de Alzheimer. *Farmespaña INDUSTRIAL* [Internet], 2014 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.xrqtc.com/wp-content/uploads/2014/07/alzheimer.pdf>>. ISSN 1699- 4205.

ROSENBERG, Paul, *et al.* Changes in Neuropsychiatric Inventory Associated with Semagacestat Treatment of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* [Internet], 2016 [consultado 2 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Changes+in+Neuropsychiatric+Inventory+Associated+with+Semagacestat+Treatment+of+Alzheimer%27s+Disease>>. ISSN 1875-8908.

RUIZ, Carolina, *et al.* Epidemiología y carga de la Enfermedad de Alzheimer. Acta Neurol Colomb [Internet], 2010 [consultado 10 Junio 2017]. Disponible en: <http://www.acnweb.org/acta/acta_2010_26_Supl3_1_87-94.pdf>. ISSN 0120-8748.

SACKS, Chana, *et al.* The Failure of Solanezumab - How the FDA Saved Taxpayers Billions. [Internet], 2017 [consultado 7 Julio 2017]. Disponible en: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp1701047>>. ISSN 1533-4406.

SALLOWAY, Stephen, *et al.* Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. N Engl J Med [Internet], 2014 [consultado 7 Julio 2017]. Disponible en: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1304839#t=article>>. ISSN 1533-4406.

SARRIA-ESTRADA, S, *et al.* Reproducibilidad de la valoración cualitativa de la atrofia del lóbulo temporal por RM. Radiología [Internet], 2015 [consultado 25 Junio 2017]. Disponible en: <<http://www.elsevier.es/es-revista-radiologia-119-articulo-reproducibilidad-valoracion-cualitativa-atrofia-del-S0033833814000629>>. ISSN 0033-8338.

SHAH, Kavita y LAHIRI, Dedomoy. Cdk5 activity in the brain - multiple paths of regulation. J Cell Sci [Internet], 2014 [consultado 19 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24879856>>. ISSN 1477-9137.

SHARMA, Hari, *et al.* Alzheimer's disease: cerebrolysin and nanotechnology as a therapeutic strategy. Neurodegener Dis Manag [Internet], 2016 [consultado 12 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27827552>>. ISSN 1758-2032.

SHRESTHA, Sabina, *et al.* Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from Rhus parviflora. Bioorg Med Chem Lett [Internet], 2013 [consultado 24 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+neuroprotective+flavonoid>>. ISSN 0960-894X.

SHUKLA, Vasha, *et al.* Deregulated Cdk5 Activity Is Involved in Inducing Alzheimer's Disease. Arch Med Res [Internet], 2012 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23142263>>. ISSN 0188-4409.

SWERDLOW, Russell, *et al.* Tolerability and pharmacokinetics of oxaloacetate 100 mg capsules in. BBA Clin [Internet], 2016 [consultado el 9 Julio de 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27051598>>. ISSN 2214-6474.

THIESSEN, PA. Pubchem Substance and Compound database [online]. Nucleic Acids Res. 2016 Jun 4. 44 (D1): d1202-13. Oxford. doi: 10.1093/nar/gkv951.

THOMPSON, Paul, *et al.* Statistical analysis, trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: a review. *Int. Psychogeriatr* [Internet], 2012 [consultado 29 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21910950>>. ISSN 1741-203X.

TROTT, Oleg y OLSON, Arthur. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem* [Internet]. 2009 [consultado 21 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19499576>>. ISSN 1096-987X.

VUORINEN, Anna y SCHUSTER, Daniela. Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods* [Internet], 2015 [consultado 12 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Methods+for+generating+and+applying+pharmacophore+models+as+virtual+screening+filters+and+for+bioactivity+profiling>>. ISSN 1046-2023.

WANG, Qi, *et al.* Triptolide treatment reduces Alzheimer's disease (AD)-like pathology through inhibition of BACE1 in a transgenic mouse model of AD. *Dis Model Mech* [Internet], 2014 [consultado 13 Junio 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4257007/>. ISSN 1754-8411.

WILLIAMS, Philip, *et al.* Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Nat Prod Rep* [Internet], 2011 [consultado 15 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21072430>>. ISSN 1460-4752.

WISCHIK, Claude, *et al.* Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem. Pharmacol* [Internet], 2014 [consultado 30 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24361915>>. ISSN 0006-2952.

WRASIDLO, Wolf, *et al.* Neuroprotective effects of the anti-cancer drug sunitinib in models of HIV neurotoxicity suggests potential for the treatment of neurodegenerative disorders. *Br J Pharmacol* [Internet], 2014 [consultado 30 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4290715/>>. ISSN 1476-5381.

YANA, Michael, *et al.* Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radic Biol Med* [Internet], 2013 [consultado 7 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23200807>>. ISSN 0891-5849.

YANG, Cece y XIAO, Shifu. New developments of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease. *Curr Pharm Biotechnol* [Internet], 2015 [consultado 3 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25860060>>. ISSN 1873-4316.

YASUTAKA, Yuki, *et al.* Influence of Memantine on Continuous Treatment with Rivastigmine Patches-Retrospective Study Using the Logistic Regression Analysis. [Internet], 2017 [consultado 26 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28049888>>. ISSN 1347-5231.

ZAMOLODCHIKOV, Daria y STRICKLAND, Sidney. A possible new role for A β in vascular and inflammatory dysfunction in Alzheimer's disease. *Thromb Res* [Internet], 2016 [consultado 12 Junio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207427>>. ISSN 0049-3848.

ZHANG, Xueli, *et al.* Near-infrared fluorescence molecular imaging of amyloid beta species and monitoring therapy in animal models of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2015 [consultado 15 Julio 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4534214/>>. ISSN 1091-6490.

ZHANG, Yungin, *et al.* The Discovery of new acetylcholinesterase inhibitors derived from pharmacophore modeling, virtual screening, docking simulation and bioassays. *Mol Biosyst.* [Internet], 2016 [consultado 15 Junio 2017]. Disponible en: <<http://pubs.rsc.org/-/content/articlelanding/2016/mb/c6mb00661b/unauth#!divAbstract>>. ISSN 1742-2051.

ANEXOS

ANEXO A.

Cuantificación del grado de afinidad por acoplamiento molecular en orden de mayor a menor de todos los complejos proteína cdk5-ligando.

CÓDIGO	RESULTADOS
86223021	-17,7±0,0
78369689	-12,0±0,0
78235921	-11,8±0,0
78225453	-11,8±0,0
78225395	-11,6±0,0
78225401	-11,6±0,3
78225389	-11,5±0,0
78374338	-11,5±0,1
78243731	-11,4±0,0
78358567	-11,4±0,0
78368693	-11,4±0,0
78378143	-11,4±0,0
78243714	-11,3±0,0
78368663	-11,3±0,0
78379577	-11,3±0,0
78225447	-11,2±0,0
78380601	-11,2±0,0

78372639	-11,2±0,0
78225334	-11,1±0,0
78225459	-11,1±0,0
78385761	-11,1±0,0
78380582	-11,1±0,0
78380603	-11,1±0,0
78373902	-11,1±0,3
78225411	-11,0±0,0
78243702	-11,0±0,0
78235919	-11,0±0,0
78378685	-11,0±0,2
78225352	-10,9±0,0
78243710	-10,9±0,0
78382020	-10,9±0,0
78243711	-10,9±0,0
78380583	-10,9±0,0
78225410	-10,9±0,0
78225422	-10,8±0,0
78235915	-10,8±0,0

78380580	-10,8±0,0
78377323	-10,8±0,0
78386854	-10,8±0,0
78225446	-10,8±0,1
78386503	-10,8±0,1
78225888	-10,8±0,2
78384863	-10,7±0,0
78380602	-10,7±0,0
78378276	-10,7±0,0
78378635	-10,7±0,0
78224655	-10,6±0,0
78230412	-10,6±0,0
78243733	-10,6±0,0
78225137	-10,6±0,0
78381180	-10,6±0,3
78225392	-10,5±0,0
78243724	-10,5±0,0
78225425	-10,5±0,0
78380604	-10,5±0,0
78243723	-10,5±0,0
78225560	-10,5±0,1
78225624	-10,5±0,1
78243729	-10,5±0,2

78225402	-10,4±0,0
78243734	-10,4±0,0
78380581	-10,4±0,0
78233967	-10,4±0,0
78225909	-10,4±0,0
78225491	-10,4±0,0
78372627	-10,4±0,1
78225330	-10,3±0,0
78243716	-10,3±0,0
78381807	-10,3±0,0
78380590	-10,3±0,0
78225562	-10,3±0,1
78225066	-10,3±0,2
78225502	-10,3±0,4
78233968	-10,2±0,0
78380595	-10,2±0,0
78382024	-10,2±0,0
78225376	-10,2±0,1
78225958	-10,2±0,2
78225318	-10,1±0,0
78225955	-10,1±0,0
78380598	-10,1±0,0

78378555	-10,1±0,0
78368788	-10,1±0,0
78225918	-10,1±0,1
78372675	-10,1±0,1
78380592	-10,1±0,1
78383913	-10,1±0,1
78224697	-10,1±0,2
78225507	-10,1±0,3
78225435	-10,0±0,0
78225448	-10,0±0,0
78243694	-10,0±0,0
78233970	-10,0±0,0
78380587	-10,0±0,0
78225971	-10,0±0,0
78225149	-10,0±0,1
78225150	-10,0±0,1
86223083	-10,0±0,1
78380597	-10,0±0,1
78225615	-10,0±0,2
78225417	-10,0±0,4
78225170	-9,9±0,0
78380600	-9,9±0,0
78225957	-9,9±0,0

78225388	-9,9±0,0
78385731	-9,9±0,0
78225320	-9,9±0,0
78243740	-9,9±0,1
78382070	-9,9±0,1
78380594	-9,9±0,2
78225383	-9,8±0,0
78380589	-9,8±0,0
78243739	-9,8±0,0
78234002	-9,8±0,0
78225466	-9,8±0,0
78225054	-9,8±0,1
78225366	-9,8±0,1
78225992	-9,8±0,2
78382030	-9,8±0,2
78225356	-9,7±0,0
86223063	-9,7±0,0
78385623	-9,7±0,0
86223039	-9,7±0,0
78225496	-9,7±0,0
78225470	-9,7±0,0
78235918	-9,7±0,0

78384666	-9,7±0,0
78225455	-9,7±0,0
78225476	-9,7±0,1
78385498	-9,7±0,1
78226026	-9,7±0,1
78380588	-9,7±0,1
78385576	-9,7±0,2
78225536	-9,7±0,3
86223082	-9,7±0,3
78234047	-9,7±0,3
78225965	-9,7±0,4
78225184	-9,6±0,0
78225872	-9,6±0,0
78225208	-9,6±0,0
86222649	-9,6±0,0
78387585	-9,6±0,0
78225327	-9,6±0,0
78230411	-9,6±0,0
78225328	-9,6±0,0
78225465	-9,6±0,1
78243725	-9,6±0,1
78225953	-9,6±0,1
78225563	-9,6±0,1

78225477	-9,6±0,3
86222765	-9,6±0,3
78225332	-9,5±0,0
78225452	-9,5±0,0
78225616	-9,5±0,0
78382034	-9,5±0,0
78225482	-9,5±0,0
78243706	-9,5±0,0
78243707	-9,5±0,0
86223078	-9,5±0,0
78224776	-9,5±0,1
78382029	-9,5±0,1
78225319	-9,5±0,1
78225990	-9,5±0,1
78225180	-9,5±0,1
78225342	-9,5±0,2
78228279	-9,5±0,2
78225353	-9,5±0,2
78234001	-9,5±0,3
78224969	-9,4±0,0
78228791	-9,4±0,0
78243717	-9,4±0,0

78225445	-9,4±0,0
78225544	-9,4±0,0
78385575	-9,4±0,0
78225441	-9,4±0,0
78225403	-9,4±0,0
78225572	-9,4±0,0
78225301	-9,4±0,0
78225950	-9,4±0,0
78225537	-9,4±0,2
78225556	-9,4±0,3
783887576	-9,4±0,3
78225321	-9,4±0,7
78224653	-9,3±0,0
78382033	-9,3±0,0
78225355	-9,3±0,0
78225458	-9,3±0,0
78225597	-9,3±0,0
78225074	-9,3±0,0
78225423	-9,3±0,0
78233983	-9,3±0,0
78225373	-9,3±0,0
78226010	-9,3±0,0
78386989	-9,3±0,0

78225444	-9,3±0,0
78225578	-9,3±0,0
86222660	-9,3±0,0
78366810	-9,3±0,0
78384989	-9,3±0,0
78225693	-9,3±0,0
78225415	-9,3±0,1
78233971	-9,3±0,1
78225510	-9,3±0,1
78225527	-9,3±0,1
78225473	-9,3±0,1
78225501	-9,3±0,2
78225505	-9,2±0,0
78226027	-9,2±0,0
78228792	-9,2±0,0
78225915	-9,2±0,0
86223080	-9,2±0,0
78225917	-9,2±0,0
78225576	-9,2±0,0
78225542	-9,2±0,0
78226031	-9,2±0,0
78225526	-9,2±0,0

78386423	-9,2±0,0
78383627	-9,2±0,0
78358539	-9,2±0,0
78225871	-9,2±0,0
78225782	-9,2±0,1
78243681	-9,2±0,1
78225313	-9,2±0,3
78225775	-9,2±0,5
78225056	-9,1±0,0
78225239	-9,1±0,0
86223064	-9,1±0,0
78225125	-9,1±0,0
78225173	-9,1±0,0
78225571	-9,1±0,0
78226005	-9,1±0,0
78225406	-9,1±0,1
78226011	-9,1±0,1
78234034	-9,1±0,1
78225483	-9,1±0,1
78225568	-9,1±0,2
78380586	-9,1±0,2
78224862	-9,1±0,3
78225516	-9,1±0,3

78225065	-9,0±0,0
78365247	-9,0±0,0
78225577	-9,0±0,0
86222858	-9,0±0,0
78225324	-9,0±0,0
78225512	-9,0±0,0
78225325	-9,0±0,0
78225166	-9,0±0,0
78225549	-9,0±0,0
78385898	-9,0±0,0
78225811	-9,0±0,0
78225365	-9,0±0,1
78225561	-9,0±0,1
78225394	-9,0±0,1
78380584	-9,0±0,1
78225488	-9,0±0,1
78382031	-9,0±0,1
78225370	-9,0±0,2
78225614	-9,0±0,2
78225548	-9,0±0,2
78225511	-9,0±0,3
78225547	-9,0±0,3

78386855	-9,0±0,4
78225387	-9,0±0,5
78358504	-9,0±0,5
78225333	-8,9±0,0
78225443	-8,9±0,0
78226004	-8,9±0,0
78384476	-8,9±0,0
78228414	-8,9±0,0
78224620	-8,9±0,0
78225543	-8,9±0,0
78225436	-8,9±0,0
78235916	-8,9±0,0
78380622	-8,9±0,0
78385371	-8,9±0,0
78225340	-8,9±0,1
86223079	-8,9±0,1
78225467	-8,9±0,1
78386496	-8,9±0,1
78227602	-8,9±0,2
86223081	-8,9±0,3
78224696	-8,8±0,0
78229146	-8,8±0,0
78385141	-8,8±0,0

78385306	-8,8±0,0
78379802	-8,8±0,0
78225855	-8,8±0,0
78226015	-8,8±0,0
78225430	-8,8±0,0
78225288	-8,8±0,0
78224968	-8,8±0,0
78225397	-8,8±0,1
78381446	-8,8±0,1
78228536	-8,8±0,1
78384837	-8,8±0,1
78225916	-8,8±0,4
78224454	-8,7±0,0
78226016	-8,7±0,0
86222599	-8,7±0,0
78224470	-8,7±0,0
78225555	-8,7±0,0
86222865	-8,7±0,0
78225554	-8,7±0,0
78225983	-8,7±0,0
78358515	-8,7±0,0
78387440	-8,7±0,0

78225688	-8,7±0,0
86223089	-8,7±0,0
78225182	-8,7±0,0
86222821	-8,7±0,0
86222820	-8,7±0,0
78224621	-8,7±0,0
78225569	-8,7±0,2
78228793	-8,7±0,2
78234006	-8,7±0,2
78382028	-8,7±0,2
78225707	-8,7±0,2
78225471	-8,7±0,3
78225595	-8,7±0,4
78225367	-8,6±0,0
78226030	-8,6±0,0
78225378	-8,6±0,0
86222805	-8,6±0,0
78234003	-8,6±0,0
78225753	-8,6±0,0
78225437	-8,6±0,0
86222796	-8,6±0,0
86222863	-8,6±0,0
78358492	-8,6±0,0

78225550	-8,6±0,0
78225369	-8,6±0,1
78225949	-8,6±0,1
78226025	-8,6±0,1
78225412	-8,6±0,1
78225885	-8,6±0,1
78366805	-8,6±0,1
78225396	-8,6±0,1
78225934	-8,6±0,1
78225408	-8,6±0,2
78225575	-8,6±0,2
78225336	-8,6±0,3
78224775	-8,5±0,0
78225982	-8,5±0,0
78385352	-8,5±0,0
86222658	-8,5±0,0
78225347	-8,5±0,0
78225322	-8,5±0,0
78225362	-8,5±0,0
78234038	-8,5±0,0
78387463	-8,5±0,0
78365782	-8,5±0,0

78225981	-8,5±0,0
78235914	-8,5±0,0
78225433	-8,5±0,0
86223070	-8,5±0,0
78381113	-8,5±0,0
78225428	-8,5±0,1
78225736	-8,5±0,1
78225492	-8,5±0,1
78225608	-8,5±0,1
86223086	-8,5±0,1
78225393	-8,5±0,2
78234004	-8,5±0,2
78380585	-8,5±0,7
78224774	-8,4±0,0
78226012	-8,4±0,0
78225124	-8,4±0,0
78225185	-8,4±0,0
78225157	-8,4±0,0
78365187	-8,4±0,0
86222851	-8,4±0,0
86222850	-8,4±0,0
86222959	-8,4±0,0
78225539	-8,4±0,0

78385967	-8,4±0,0
78225870	-8,4±0,0
78225773	-8,4±0,0
78225896	-8,4±0,0
78225055	-8,4±0,0
78365826	-8,4±0,0
86222892	-8,4±0,0
78382958	-8,4±0,0
78225407	-8,4±0,1
78225945	-8,4±0,1
78381783	-8,4±0,1
78225787	-8,4±0,3
78226019	-8,4±0,3
78224859	-8,4±0,4
78225926	-8,4±0,4
78225529	-8,4±0,5
78225552	-8,4±0,8
78225191	-8,3±0,0
78226033	-8,3±0,0
78225474	-8,3±0,0
78225599	-8,3±0,0

78225475	-8,3±0,0
78225884	-8,3±0,0
78385040	-8,3±0,0
78385139	-8,3±0,0
78225506	-8,3±0,0
78225062	-8,3±0,1
78382808	-8,3±0,1
78228795	-8,3±0,1
86222844	-8,3±0,1
78234005	-8,3±0,1
78225612	-8,3±0,1
78225176	-8,3±0,1
78225243	-8,3±0,2
78358493	-8,3±0,2
78225242	-8,3±0,4
78225820	-8,3±0,4
78225135	-8,2±0,0
78225405	-8,2±0,0
78225567	-8,2±0,0
78225427	-8,2±0,0
78225966	-8,2±0,0
78225449	-8,2±0,0
78226057	-8,2±0,0

86222823	-8,2±0,0
86222615	-8,2±0,0
78225136	-8,2±0,0
78384849	-8,2±0,0
78225374	-8,2±0,0
78225489	-8,2±0,0
78358501	-8,2±0,0
78224446	-8,2±0,1
78225331	-8,2±0,1
78225431	-8,2±0,1
78225348	-8,2±0,1
78364793	-8,2±0,1
78225183	-8,2±0,2
78225551	-8,2±0,2
78225952	-8,2±0,2
78225304	-8,2±0,2
78225314	-8,2±0,2
78224858	-8,2±0,3
78225372	-8,2±0,4
78225202	-8,2±0,5
78225286	-8,2±0,8
78225346	-8,1±0,0

78240158	-8,1±0,0
78225525	-8,1±0,0
78225472	-8,1±0,0
78385907	-8,1±0,0
86223000	-8,1±0,0
78384910	-8,1±0,0
78366820	-8,1±0,0
78225956	-8,1±0,0
86222934	-8,1±0,0
78225655	-8,1±0,0
78225484	-8,1±0,0
78225913	-8,1±0,0
78224598	-8,1±0,1
78225386	-8,1±0,1
78381994	-8,1±0,1
78225432	-8,1±0,1
78225553	-8,1±0,1
78226061	-8,1±0,1
78225335	-8,1±0,2
78224599	-8,0±0,0
78225289	-8,0±0,0
78225429	-8,0±0,0
78225177	-8,0±0,0

78384566	-8,0±0,0
78225835	-8,0±0,0
86222662	-8,0±0,0
78225621	-8,0±0,0
78225534	-8,0±0,0
78358494	-8,0±0,0
78385233	-8,0±0,0
78225181	-8,0±0,0
78225167	-8,0±0,0
78225558	-8,0±0,1
78384850	-8,0±0,1
78225391	-8,0±0,2
78225940	-8,0±0,2
78385436	-8,0±0,4
78225384	-7,9±0,0
78225939	-7,9±0,0
78226062	-7,9±0,0
78235920	-7,9±0,0
78225692	-7,9±0,0
78225557	-7,9±0,0
78225398	-7,9±0,0
78225385	-7,9±0,0

78225644	-7,9±0,0
78226069	-7,9±0,0
78225480	-7,9±0,0
86222905	-7,9±0,0
78226036	-7,9±0,0
78384529	-7,9±0,0
86222784	-7,9±0,0
78225522	-7,9±0,1
86223073	-7,9±0,1
78225911	-7,9±0,1
78225315	-7,9±0,2
78225767	-7,9±0,2
78225727	-7,9±0,2
78225497	-7,9±0,2
78225944	-7,9±0,6
78225159	-7,8±0,0
78225495	-7,8±0,0
86223041	-7,8±0,0
78378264	-7,8±0,0
78225503	-7,8±0,0
78225504	-7,8±0,0
86222675	-7,8±0,0
86223016	-7,8±0,0

78365646	-7,8±0,0
86222790	-7,8±0,0
78224765	-7,8±0,1
78225248	-7,8±0,1
86223071	-7,8±0,1
78225249	-7,8±0,1
78225700	-7,8±0,1
78385878	-7,8±0,1
78225172	-7,8±0,1
78225993	-7,8±0,2
78358547	-7,8±0,2
78228794	-7,8±0,2
78225350	-7,8±0,3
78225574	-7,8±0,3
78225375	-7,8±0,3
78225359	-7,8±0,5
78225175	-7,7±0,0
78235917	-7,7±0,0
78225684	-7,7±0,0
86222688	-7,7±0,0
78225923	-7,7±0,0
78225931	-7,7±0,0

78225922	-7,7±0,0
78226068	-7,7±0,0
78225685	-7,7±0,0
78243704	-7,7±0,0
78225969	-7,7±0,0
78226070	-7,7±0,0
78384906	-7,7±0,0
78358538	-7,7±0,0
78225970	-7,7±0,0
78226060	-7,7±0,0
78225424	-7,7±0,1
78225588	-7,7±0,1
78386161	-7,7±0,1
86222706	-7,7±0,1
78224492	-7,7±0,2
78225409	-7,7±0,3
78225218	-7,6±0,0
78225540	-7,6±0,0
78226067	-7,6±0,0
78225994	-7,6±0,0
78225434	-7,6±0,0
86222833	-7,6±0,0
78225699	-7,6±0,0

78226058	-7,6±0,0
86223094	-7,6±0,0
78225598	-7,6±0,0
86222911	-7,6±0,0
78224846	-7,6±0,1
78225442	-7,6±0,1
78225285	-7,6±0,1
78225222	-7,6±0,1
86223072	-7,6±0,1
78225808	-7,6±0,1
78225263	-7,6±0,2
78358545	-7,6±0,2
78225919	-7,6±0,2
78225741	-7,6±0,2
78224905	-7,6±0,4
78224493	-7,5±0,0
78225221	-7,5±0,0
86222840	-7,5±0,0
78225142	-7,5±0,0
78224496	-7,5±0,0
78358526	-7,5±0,0
86222839	-7,5±0,0

78225920	-7,5±0,0
78225921	-7,5±0,0
78225573	-7,5±0,0
78243703	-7,5±0,0
78225414	-7,5±0,0
78225246	-7,5±0,1
78225738	-7,5±0,1
86222797	-7,5±0,1
78225310	-7,5±0,1
78225311	-7,5±0,1
78225268	-7,5±0,3
78225661	-7,5±0,3
78224686	-7,5±0,5
78224764	-7,4±0,0
78243701	-7,4±0,0
78226053	-7,4±0,0
78225925	-7,4±0,0
78225985	-7,4±0,0
78383200	-7,4±0,0
78358549	-7,4±0,0
78225924	-7,4±0,0
78385038	-7,4±0,0
86222843	-7,4±0,0

86222965	-7,4±0,0
78225938	-7,4±0,0
78225520	-7,4±0,1
86222885	-7,4±0,1
78229144	-7,4±0,1
78229145	-7,4±0,1
78225154	-7,4±0,2
78225339	-7,4±0,2
86223060	-7,4±0,2
78358550	-7,4±0,3
78224520	-7,3±0,0
86222993	-7,3±0,0
78225752	-7,3±0,0
78225937	-7,3±0,0
78225518	-7,3±0,0
78225611	-7,3±0,0
78225928	-7,3±0,0
78364797	-7,3±0,0
86222779	-7,3±0,0
78225704	-7,3±0,0
78225276	-7,3±0,1
86222799	-7,3±0,1

78243697	-7,3±0,1
78384975	-7,3±0,1
78385577	-7,3±0,1
78225651	-7,3±0,1
78225650	-7,3±0,1
78225307	-7,3±0,1
78225997	-7,3±0,4
78225541	-7,3±0,6
78224856	-7,2±0,0
78225454	-7,2±0,0
78226063	-7,2±0,0
86222853	-7,2±0,0
78226052	-7,2±0,0
78358548	-7,2±0,0
78225538	-7,2±0,0
86222907	-7,2±0,0
78225972	-7,2±0,0
86222609	-7,2±0,0
78225312	-7,2±0,0
78358513	-7,2±0,0
78225187	-7,2±0,0
86222608	-7,2±0,0
78225837	-7,2±0,0

78225517	-7,2±0,0
78224519	-7,2±0,1
78225546	-7,2±0,1
78225275	-7,2±0,1
78237927	-7,2±0,1
78225247	-7,2±0,1
78225461	-7,2±0,1
78225282	-7,2±0,1
78225519	-7,2±0,1
78358518	-7,2±0,2
78373811	-7,2±0,4
78224857	-7,1±0,0
78383920	-7,1±0,0
78364278	-7,1±0,0
78358551	-7,1±0,0
86222862	-7,1±0,0
78380623	-7,1±0,0
78384350	-7,1±0,0
78225697	-7,1±0,0
78358495	-7,1±0,0
78358490	-7,1±0,0
78358499	-7,1±0,0

78225297	-7,1±0,0
86223001	-7,1±0,0
78226064	-7,1±0,0
78358486	-7,1±0,0
86222847	-7,1±0,0
78224430	-7,1±0,1
78225464	-7,1±0,1
78225168	-7,1±0,1
78225169	-7,1±0,1
78358497	-7,1±0,1
78236468	-7,1±0,1
78225294	-7,1±0,1
78224436	-7,0±0,0
78358527	-7,0±0,0
78225390	-7,0±0,0
86222772	-7,0±0,0
86222834	-7,0±0,0
78225215	-7,0±0,0
78226059	-7,0±0,0
78358536	-7,0±0,0
78225174	-7,0±0,0
78384853	-7,0±0,0
78225132	-7,0±0,0

78225951	-7,0±0,0
86222836	-7,0±0,0
78225508	-7,0±0,0
78225416	-7,0±0,1
78358546	-7,0±0,1
78358498	-7,0±0,1
78236451	-7,0±0,1
78225930	-7,0±0,1
86222746	-7,0±0,1
78358514	-7,0±0,1
78225564	-7,0±0,1
78358487	-7,0±0,2
86222983	-7,0±0,2
78226013	-7,0±0,3
78383605	-7,0±0,3
78225943	-7,0±0,4
78224763	-6,9±0,0
78225847	-6,9±0,0
78358535	-6,9±0,0
86222607	-6,9±0,0
78365847	-6,9±0,0
78378665	-6,9±0,0

78225186	-6,9±0,0
86223093	-6,9±0,0
78225586	-6,9±0,0
86222848	-6,9±0,0
78225565	-6,9±0,0
86223069	-6,9±0,0
78385798	-6,9±0,0
86222764	-6,9±0,0
78225061	-6,9±0,1
78358533	-6,9±0,1
86222884	-6,9±0,1
86222846	-6,9±0,1
78358554	-6,9±0,1
78225287	-6,9±0,1
78225973	-6,9±0,2
78225580	-6,9±0,3
86222789	-6,9±0,3
78224597	-6,8±0,0
78225936	-6,8±0,0
78225161	-6,8±0,0
78358522	-6,8±0,0
86222780	-6,8±0,0
78358488	-6,8±0,0

78225481	-6,8±0,0
78225404	-6,8±0,1
78225652	-6,8±0,1
78225057	-6,8±0,2
86223091	-6,8±0,3
78224439	-6,7±0,0
86222838	-6,7±0,0
86222837	-6,7±0,0
78224974	-6,7±0,0
78225906	-6,7±0,0
78224936	-6,7±0,0
86222886	-6,7±0,0
78225935	-6,7±0,0
78224779	-6,7±0,0
78225824	-6,7±0,0
86222788	-6,7±0,0
78225535	-6,7±0,0
86222929	-6,7±0,0
86222875	-6,7±0,0
78358553	-6,7±0,0
78225156	-6,7±0,1
78358516	-6,7±0,1

78385700	-6,7±0,1
86222787	-6,7±0,1
78358511	-6,7±0,1
78358510	-6,7±0,1
86222596	-6,7±0,1
78225695	-6,7±0,1
78363914	-6,7±0,1
78225440	-6,7±0,2
78382131	-6,7±0,2
78224434	-6,6±0,0
78358503	-6,6±0,0
86222835	-6,6±0,0
86222778	-6,6±0,0
86222989	-6,6±0,0
86222781	-6,6±0,0
86222803	-6,6±0,0
86222860	-6,6±0,0
78225975	-6,6±0,0
86222813	-6,6±0,1
78385598	-6,6±0,1
78358544	-6,6±0,1
78382123	-6,6±0,1
78384821	-6,6±0,1

78225426	-6,6±0,3
78358531	-6,6±0,3
78239772	-6,6±0,3
78224542	-6,5±0,0
78358542	-6,5±0,0
78224435	-6,5±0,0
86222861	-6,5±0,0
86222878	-6,5±0,0
86222896	-6,5±0,0
86223011	-6,5±0,0
78385250	-6,5±0,0
78224843	-6,5±0,0
78225419	-6,5±0,0
78358524	-6,5±0,0
78225786	-6,5±0,0
86222887	-6,5±0,0
78225901	-6,5±0,0
86222917	-6,5±0,0
78225581	-6,5±0,0
86222855	-6,5±0,0
86222842	-6,5±0,0
78225891	-6,5±0,0

78225162	-6,5±0,1
78224935	-6,5±0,1
78225630	-6,5±0,1
78385586	-6,5±0,1
78225902	-6,5±0,2
86223061	-6,5±0,2
78226032	-6,5±0,2
86222912	-6,5±0,2
78224440	-6,5±0,3
78225991	-6,5±0,3
78224543	-6,4±0,0
78358541	-6,4±0,0
78358529	-6,4±0,0
86222879	-6,4±0,0
78225856	-6,4±0,0
86222809	-6,4±0,0
86222841	-6,4±0,0
86222824	-6,4±0,0
78225354	-6,4±0,0
78383931	-6,4±0,0
78382151	-6,4±0,0
78226071	-6,4±0,0
86222987	-6,4±0,0

78225418	-6,4±0,0
86222888	-6,4±0,0
86222919	-6,4±0,0
86222816	-6,4±0,0
86222832	-6,4±0,0
86222807	-6,4±0,0
78225566	-6,4±0,1
86223066	-6,4±0,1
78236146	-6,4±0,1
78383933	-6,4±0,1
86222932	-6,4±0,1
78382159	-6,4±0,1
78224481	-6,4±0,2
78358519	-6,4±0,2
86222890	-6,4±0,2
78225946	-6,3±0,0
78225947	-6,3±0,0
86222822	-6,3±0,0
86222874	-6,3±0,0
86222849	-6,3±0,0
86222918	-6,3±0,0
86222873	-6,3±0,0

86222920	-6,3±0,0
78224806	-6,3±0,1
78225559	-6,3±0,1
78226017	-6,3±0,1
78225929	-6,3±0,2
78383950	-6,3±0,3
78225036	-6,2±0,0
78225298	-6,2±0,0
86222776	-6,2±0,0
86222872	-6,2±0,0
78225377	-6,2±0,0
86222770	-6,2±0,0
86222775	-6,2±0,0
86222713	-6,2±0,0
86222831	-6,2±0,0
86222812	-6,2±0,0
78225035	-6,2±0,1
78380446	-6,2±0,1
78383977	-6,2±0,1
78383926	-6,2±0,1
86222889	-6,2±0,1
78243358	-6,2±0,1
78225545	-6,2±0,1

86222674	-6,2±0,1
78358552	-6,2±0,2
78224487	-6,1±0,0
86222845	-6,1±0,0
78383929	-6,1±0,0
78225284	-6,1±0,0
78382120	-6,1±0,0
86223090	-6,1±0,0
78382160	-6,1±0,0
78224516	-6,1±0,1
78383968	-6,1±0,1
78358500	-6,1±0,1
78225283	-6,1±0,1
78225509	-6,1±0,2
78225628	-6,0±0,0
78225912	-6,0±0,0
78225989	-6,0±0,0
78225677	-6,0±0,0
78385142	-6,0±0,0
86222808	-6,0±0,0
86222930	-6,0±0,0
78224805	-6,0±0,1

78225698	-6,0±0,1
78225532	-6,0±0,1
78225165	-5,9±0,0
78382190	-5,9±0,0
86222871	-5,9±0,0
86222785	-5,9±0,0
86222810	-5,9±0,0
78371642	-5,9±0,0
78225988	-5,9±0,0
78383927	-5,9±0,0
78225854	-5,9±0,0
86222701	-5,9±0,0
86222854	-5,9±0,0
78225627	-5,9±0,0
78224595	-5,9±0,1
78225810	-5,9±0,1
78225825	-5,8±0,0
86222769	-5,8±0,0
86222811	-5,8±0,0
86222793	-5,8±0,0
78225438	-5,8±0,1
78225514	-5,8±0,1
78224596	-5,7±0,0

78225831	-5,7±0,0
78224767	-5,7±0,0
86222827	-5,7±0,0
78224694	-5,7±0,0
78225485	-5,7±0,0
78225338	-5,7±0,1
78225642	-5,7±0,1
78225533	-5,7±0,1
78225439	-5,7±0,1
78224695	-5,6±0,0
78225647	-5,6±0,0
78381329	-5,6±0,0
78225999	-5,6±0,0
78224468	-5,6±0,0
78225515	-5,6±0,1
78225708	-5,6±0,1
78225579	-5,6±0,1
78225144	-5,5±0,0
86222773	-5,5±0,0
78225337	-5,5±0,1
78386030	-5,5±0,1
78225744	-5,5±0,2

86222756	-5,4±0,0
78380836	-5,4±0,0
78385703	-5,4±0,0
78225155	-5,4±0,3
78225867	-5,3±0,0
78358525	-5,3±0,0
78225996	-5,3±0,0
78224469	-5,3±0,1
78225875	-5,3±0,1
78224807	-5,3±0,1
78225345	-5,3±0,1
78224654	-5,3±0,2
78224648	-5,2±0,0
78226023	-5,2±0,0
78226034	-5,2±0,0
78226035	-5,2±0,0
78225866	-5,2±0,2
78225490	-5,1±0,0
78225709	-5,1±0,1
78226014	-5,1±0,1
78225729	-5,1±0,1
78225941	-5,1±0,2
78224773	-5,0±0,0

78225188	-5,0±0,0
78226056	-5,0±0,0
78239743	-5,0±0,0
78384359	-5,0±0,0
78225493	-5,0±0,1
78225942	-5,0±0,1
78240521	-5,0±0,1
78225083	-4,9±0,0
78225964	-4,9±0,0
78225963	-4,9±0,0
78382185	-4,9±0,0
78225494	-4,9±0,0
86222901	-4,9±0,1
78224768	-4,8±0,0
78224772	-4,8±0,0
86222762	-4,8±0,0
86222761	-4,8±0,1
78228353	-4,7±0,0
78224769	-4,7±0,1
78224486	-4,6±0,0
86222763	-4,5±0,0
78384397	-4,5±0,0

78385857	-4,5±0,0
78224900	-4,5±0,2
78225671	-4,5±0,2
78224480	-4,4±0,0
78376327	-4,4±0,0
78225822	-4,4±0,0

78225821	-4,4±0,0
78224544	-4,3±0,0
78382664	-4,3±0,0
78224847	-3,9±0,0
78243699	-1,7±0,0

ANEXO B.

Artículo publicado en revista indexada

Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/1728/1821#f02>

Identificación *in silico* de moléculas potencialmente inhibitoras de CDK5, proteína relacionada con la enfermedad de Alzheimer

Identification in silico of potentially inhibitive molecules of CDK5, protein related with the Alzheimer´s disease

Nerlis Pájaro-Castro^I, Jesús Bustamante-Díaz^{II}, Cristhian Ibáñez-Bersinger^{III}

^ILicenciada en Química Farmacéutica. *Magister* en Ciencias Farmacéuticas, Candidata a Doctora en Toxicología Ambiental. Docente Asistente. Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Medicina. Grupo de Ciencias Médicas y Farmacéuticas. Colombia. nerlis.pajaro@unisucra.edu.co

^{II}Estudiante de Medicina. Noveno semestre. Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Medicina. Grupo de Ciencias Médicas y Farmacéuticas. Colombia. jesusdario1596@hotmail.com

^{III}Ingeniero Agroindustrial. Universidad de Sucre. Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Medicina. Grupo de Ciencias Médicas y Farmacéuticas. Colombia. cibanez.bersinger@gmail.com

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las Universidades de Sucre por facilitar espacio, recursos y tiempo de los investigadores, así como al Departamento de Investigación de la Universidad de Sucre por financiar el proyecto 082-2015.

RESUMEN

Introducción: La enfermedad de Alzheimer exhibe un compromiso neurodegenerativo e irreversible. Hoy, numerosas investigaciones promueven la inhibición de algunas quinasas para su tratamiento, de especial mención la CDK5. **Objetivo:** Identificación de nuevas moléculas con posibilidad de interactuar con la proteína quinasa dependiente de ciclina 5, CDK5, inhibiendo su función. **Material y Métodos:** Se realizó un estudio *in silico*, para lo cual se extrajeron 911 moléculas de pubchem, y mediante AutoDock Vina se hicieron acoplamientos moleculares con la proteína CDK5 extraída de Protein Data Bank y con un inhibidor conocido para la proteína. Además se realizó un acoplamiento inverso para la identificación de otros posibles blancos moleculares con los mejores ligandos seleccionados. **Resultados:** Con los resultados obtenidos fueron identificadas cinco moléculas con valores de afinidad entre -11,6 hasta -17,7 Kcal/mol que se unen en el sitio activo de la proteína, de igual forma que lo hace el inhibidor conocido de la misma, e interactúan con los residuos cisteína 83 y glutamina 81. **Conclusiones:** Las moléculas identificadas pueden interactuar con la CDK5 a nivel de su sitio activo, por lo que podrían actuar como inhibidores de esta quinasa. Esto abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Palabras claves: Acoplamiento molecular, sitio activo, Alzheimer, CDK5, *in silico*.

ABSTRACT

Introduction: The illness of Alzheimer exhibits a neurodegenerative and irreversible commitment. Today, numerous investigations promote the inhibition of some kinases to the treatment, of special mention the CDK5. **Objective:** Identification of new molecules which are able to interact with the cyclin dependent kinase protein 5, CDK5, inhibiting their function. **Material and Methods:** it was carried out a study *in silico*, for that 911 pubchem molecules were extracted, and by means of AutoDock Vina molecular joining were made with the protein CDK5 extracted from the Protein Data Bank and with a well-known inhibitor for the protein. It was also carried out an inverse joining for the identification of other possible molecular targets with the best selected ligands. **Results:** With the obtained results five molecules were identified with values of likeness among -11,6 until -17,7 Kcal/mol that joins in the active site of the protein, in the same form that makes it the well-known inhibitor of the CDK5, and interact with the residuals cysteine 83 and glutamine 81. **Conclusions:** The identified molecules can interact with the CDK5 at level of their active place, for what you/they could act as inhibitors of this quinasa. This opens a future therapeutic window in the treatment of the illness of Alzheimer.

Keywords: Molecular joining, active site, Alzheimer, CDK5, in silico.

INTRODUCCIÓN

La epidemiología global de las demencias va en aumento, en 2005, 24,4 millones de personas presentaron deterioro cognitivo y funcional en todo el mundo, se estima una prevalencia cuatro veces mayor para 2050,¹ por lo que se establece así, un problema de salud pública.

La enfermedad de Alzheimer (EA) exhibe un compromiso neurodegenerativo e irreversible, expresado en dos lesiones patognomónicas: el depósito extracelular de péptido beta-amiloide (A β) que forma placas y la acumulación intraneuronal de la proteína Tau hiperfosforilada, y produce ovillos neurofibrilares.² Además el A β puede ocasionar procesos inflamatorios y trombóticos por sí solo, puesto que, logra activar el factor XII e interaccionar con la fibrina.³ Hoy, no existe tratamiento que cure o interrumpa el curso de la enfermedad, solo se cuenta con fármacos que restablecen, por un tiempo, los procesos cognitivos y conductuales a nivel cerebral. Se usan inhibidores de la acetilcolinesterasa como donepecilo, rivastigmina y galantamina, también los antagonistas de los receptores N-metil-D-Aspartato, el único aprobado, la memantina.⁴

Nuevas terapias apuntan a tratar la enfermedad desde sus precursores causales. Actualmente, cerebrolysin ha demostrado capacidad para inducir neuroplasticidad y neuroregeneración en murinos.⁵ Otras investigaciones promueven la inhibición de algunas cinasas, puesto que son capaces de fosforilar a Tau *in vitro* en diferentes sitios. Especial mención merece en este sentido, la cinasa 5 dependiente de ciclina (CDK 5), que promueve el autoensamblaje de ovillos de filamentos rectos y helicoidales apareados,⁴⁻⁶ mediante la fosforilación anormal de TAU, esencialmente en residuos Serina-Treonina;⁷ pese a conocerse su función no ha sido ampliamente estudiada.

De hecho, los estudios recientes están enfocados en la búsqueda de moléculas que puedan detener la progresión de la enfermedad, debido a la falta de tratamientos efectivos disponibles,⁸ para lo cual han sido empleadas nuevas tecnologías, entre ellas estudios *in silico*, los cuales han sido creados para reducir costos y tiempo en el diseño de nuevos fármacos, como complementario a los métodos experimentales.⁹ El acoplamiento molecular entre una proteína y un ligando puede ser simulado si la estructura tridimensional del blanco molecular es conocida o un buen modelo

comparativo 3D (tridimensional) está disponible, siendo una excelente herramienta en la primera fase del descubrimiento de nuevos fármacos.¹⁰

OBJETIVO

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es identificar *in silico* nuevas moléculas con posibilidad de interactuar con la CDK5 inhibiendo su función.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio es una investigación de tipo computacional, enfocada en el diseño de nuevos fármacos, y se empleó *software* y páginas *web* de libre acceso. Para la realización de este estudio *in silico*, se descargaron las estructuras tridimensionales de las moléculas en formato sdf de la base de datos Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) y se extrajeron 991 ligandos que fueron subidos a este portal *web* entre marzo y noviembre de 2014. Se ingresaron al programa OpenBabel y se convirtieron al formato pdbqt [Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)].¹¹

Se descargó la estructura tridimensional de la proteína CDK5, de la base de datos Protein Data Bank (PDB) con el código 3O0G. Se minimizó la proteína utilizando las cargas parciales atómicas por el método de Kollman, que describe el potencial del sistema en términos de las posiciones de energía de los átomos, y está parametrizado para proteínas y ácidos nucleicos. Se utilizó el *software* MGLTools 1.5.0 para convertir estructuras de pdb a formato pdbqt, agregando hidrógenos polares y asignando cargas parciales de Kollman.¹¹ Se realizaron tres corridas de los ligandos seleccionados con la proteína CDK5 extraída de pdb utilizando AutoDock Vina para determinar posibles sitios de unión entre estos. El sitio de acoplamiento para los ligandos en la proteína CDK5 se definió estableciendo un cubo con una dimensión suficiente para cubrir la proteína completa, con un espaciado de punto de rejilla de 1 Å. Para cada carrera se guardó la mejor pose. Finalmente, el promedio del valor de afinidad en Kcal/mol para la mejor pose fue aceptado como el valor de afinidad de unión para un complejo particular.⁷ Posteriormente se organizaron las moléculas con respecto a su valor de afinidad con CDK5 de mayor a menor, y se seleccionaron los ligandos con mayor puntuación.¹¹ Para comprobar la predictibilidad del método utilizado se realizó el acoplamiento molecular con un inhibidor conocido para la proteína evaluada,¹¹ el cual es 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona,¹² empleando AutoDock Vina. Además se evaluó la capacidad de los ligandos estudiados de unirse al mismo sitio activo en el que se une el inhibidor en la proteína, para poder inferir la actividad inhibitoria de los mismos. La identificación de residuos proteicos que

interaccionan con los ligandos que poseen las mayores afinidades se llevó a cabo con LigandScout 3.0. Este programa desarrolla farmacóforos para proponer el número y el tipo de las interacciones primarias existentes de ligando-residuo en el sitio activo de la proteína.¹¹ Para la identificación de otros posibles blancos se realizó un acoplamiento inverso empleando la página web "*Alzheimer's disease target prediction*" (<http://nps.jnu.edu.cn>), la cual es una página web de libre acceso y combina métodos basados en la estructura y en el ligando para identificar blancos moleculares en una librería de 519 sitios activos de 29 blancos contra la EA, generando resultados de puntuación en Kcal/mol.¹³

RESULTADOS

En la [Tabla 1](#) se muestran los mejores valores de acoplamientos moleculares de complejos proteína-ligando; de estos últimos se expone el nombre químico, los ligandos que exhibieron mayores valores de afinidad por CDK5 fueron 15,16-Ethenohexabenzos [bc, ef,hi,kl,no,qr] coronene y (3-methyl-8,13-dioxo-4aH-naphtho [2,3-a]phenoxazin-7-yl) 4-methoxybenzoate, con resultados de -17,7 Kcal/mol y -12,0 Kcal/mol respectivamente. La estructura tridimensional y el sitio de unión de estos ligandos, con la proteína CDK5 se pueden observar en la [figura 1](#), así como los aminoácidos involucrados en la interacción proteína-ligando (Figura 1A-E). La figura 1F-J, muestra que los cinco ligandos son capaces de unirse al sitio activo de la proteína, de la misma forma que lo hace el inhibidor, por lo que estos podrían actuar como inhibidores.

La [Figura 2](#) presenta la estructura bidimensional de los ligandos con mejores valores de afinidad identificados en el presente estudio. Los valores de acoplamiento inverso realizado entre los ligandos seleccionados en esta investigación y otros blancos de estudio de la enfermedad de Alzheimer se exponen en la [Tabla 2](#), dentro de las proteínas que obtuvieron interacción molecular con todos los ligandos seleccionados se encuentran: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, Mitogen-activated protein kinase 14, y cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase.

Tabla 1. Afinidad del acoplamiento molecular de los mejores complejos proteína CDK5-ligando

NOMBRE	CÓDIGO	AFINIDAD (Kcal/mol)
15,16-Ethenohexabenzob[bc,ef,hi,kl,no,qr]coronene	86223021	-17,7±0,0
(3-methyl-8, 13-dioxo-4aH-naphtho[2,3-a]phenoxazin-7-yl) 4-methoxybenzoate	78369689	-12,0±0,0
N8,N10-dicycloheptyl-1,2,3,4,4a,6,7,11,12,13a-decahydrobenzo[d]bis([1,2,3]triazolo)[5,1-b:1',5'-f][1,3,6]thiadiazepine-8,10-dicarboxamide	78235921	-11,8±0,0
---	78225453	-11,8±0,0
2-[8-(1,3-benzothiazol-2-ylidiazenyl)naphthalen-2-yl]-5-(4-phenylbutyl)-1,3-thiazole-4-carboxylic acid	78225395	-11,6±0,0

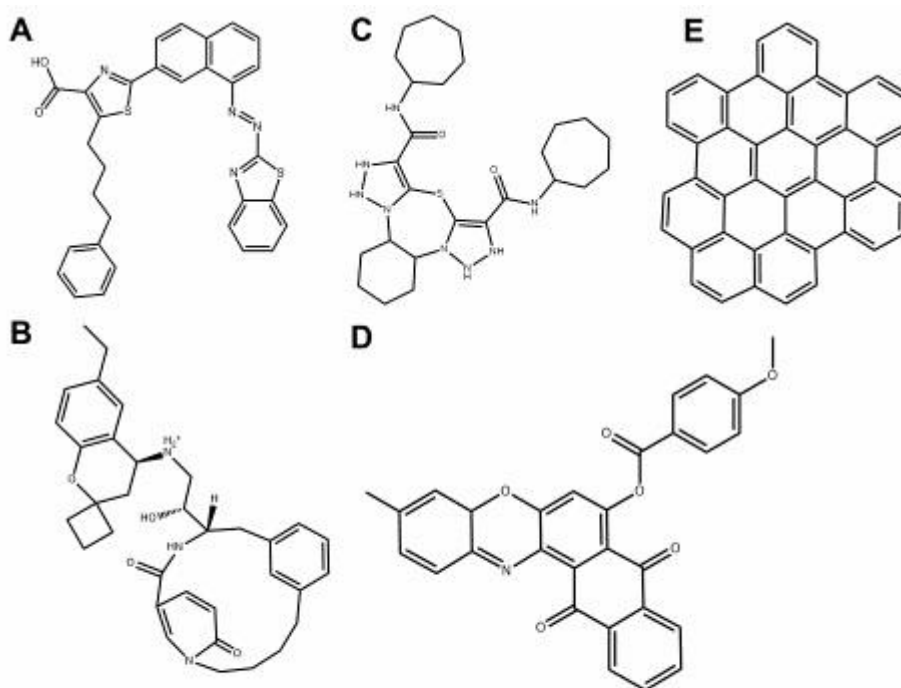


Figura 2. Estructura 2D (Bidimensional) de las moléculas con posibilidad de interacción con CDK5 identificadas. A. 78225395, B. 78225453, C. 78235921, D. 78369689, E. 86223021.

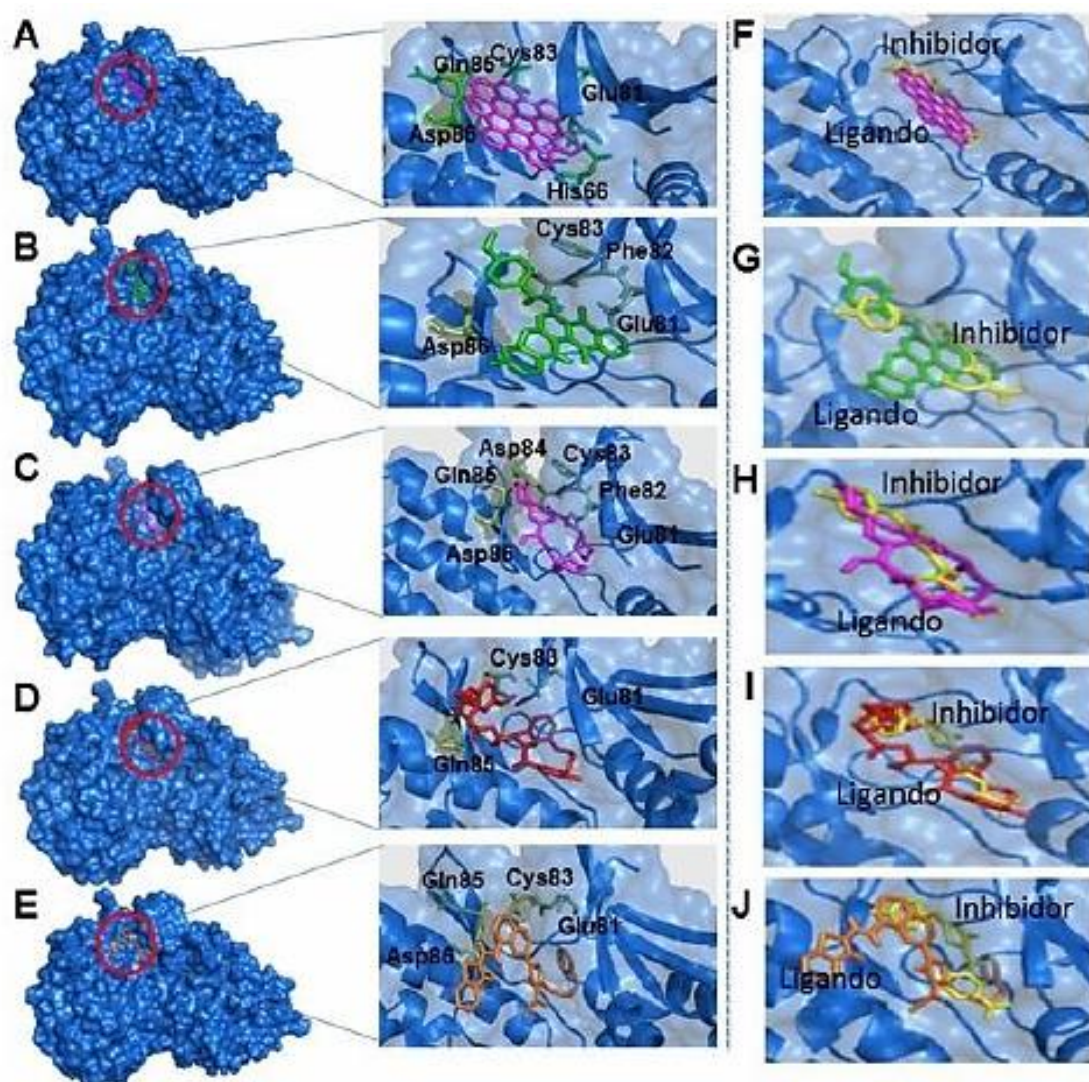


Figura 1. Vista tridimensional de los complejos proteína-ligando, residuos interaccionantes (A-E) de la proteína CDK5 con los ligandos con mejores valores de afinidad y complejos proteína-ligando-inhibidor (F-J). A. Complejo CDK5- 86223021. B. Complejo CDK5- 78369689. C. Complejo CDK5- 78235921. D. Complejo CDK5- 78225453. E. Complejo CDK5- 78225395. F. Complejo CDK5- 86223021- Inhibidor* (amarillo). G. Complejo CDK5- 78369689- Inhibidor. H. Complejo CDK5- 78235921- Inhibidor. I. Complejo CDK5- 78225453- Inhibidor. J. Complejo CDK5- 78225395- Inhibidor.

- 4-amino-2-[(4-clorofenil) amino]-1,3-thiazol- 5-il} (3-nitrofenil) metanona.

Tabla 2. Acoplamiento de los ligandos estudiados con otras proteínas relacionadas con la enfermedad de Alzheimer

Ligando	Proteínas	Puntuación de acoplamiento (Dockscore) Kcal/mol
86223021	Caspase-6 (PDB: 4nbn)	9.9549
	Mitogen-activated protein kinase 14 (PDB: 3zs5)	9.1454
	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform (PDB: 4anw)	8.9352
	Serine/threonine-protein kinase GSK3B (PDB: 1q41)	8.8719
	Acetylcholinesterase (PDB: 1q83)	8.6722
	cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 2h42)	8.6378
78369689	Amine oxidase [flavin-containing] B (PDB: 4a79)	10.7461
	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform (PDB: 3oaw)	10.0817
	Beta-secretase 1 (4dpf)	9.8924
	Mitogen-activated protein kinase 14 (PDB: 3zsg)	9.7452
	cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 1udu)	9.4676
	Acetylcholinesterase (PDB: 2gyv)	9.2271
78235921	Beta-secretase 1 (PDB: 2qmd)	10.0823
	Mitogen-activated protein kinase 14 (PDB: 3zs5)	9.6702
	cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 1udu)	9.0665
	Cholinesterase (PDB: 4b0o)	8.7857
	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform (PDB: 4anx)	8.7589
	cGMP-dependent 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 4jib)	8.2192
78225453	cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 2h42)	10.4002
	Mitogen-activated protein kinase 14 (PDB: 1oz1)	10.2782
	Beta-secretase 1 (PDB: 3in3)	10.0435
	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform (PDB: 3tl5)	9.8788
	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4B (PDB: 3w5e)	8.9291
	Caspase-6 (PDB: 4nbl)	8.8752
78225395	Mitogen-activated protein kinase 14 (PDB: 4l8m)	11.0298
	High affinity cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 9A (PDB: 3dys)	11.0184
	Epidermal growth factor receptor (PDB: 2rgp)	10.7239
	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform (PDB: 3ene)	10.3381
	Cholinesterase (PDB: 4b0o)	9.2155
	cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase (PDB: 2h42)	9.0967

DISCUSIÓN

A partir de la [Figura 1](#), se identifica que los principales aminoácidos responsables de la interacción proteína ligando fueron, cisteína 83 (Cys 83) y glutamina 81 (Glu 81). Un estudio que describió nuevos inhibidores para CDK5, competitivos con ATP, y comparó sus resultados con R-roscovitine, aloisine-A e indirubin-3-oxime, inhibidores ya descritos, observó que los inhibidores evaluados interactuaban con el grupo N-H de Cys 83, con el grupo carbonilo de Cys 83 y con el grupo Carbonilo de Glu 81,¹² los mismos aminoácidos identificados en los complejos evidenciados en el presente trabajo. En este proceso experimental se describió el inhibidor {4-amino-2-[(4-chlorophenyl) amino] - 1,3-thiazol-5-yl} (3-nitrophenyl) methanone, color amarillo en la figura 1F,G,H,I,J. Los ligandos con mejores valores de afinidad identificados ([Tabla 1](#)), se unen en el mismo sitio de la proteína donde se une este inhibidor, como se observa en la [Figura 1](#) F-J, por lo que se puede pensar que estas nuevas moléculas descritas podrían actuar como inhibidores de la CDK5.

En contraste, otra investigación con moléculas derivadas de roscovitine diseñadas por aminación de Buchwald-Hartwing describe como sitio activo más importante de CDK5 al aminoácido Lys 89; sin embargo, también exhibe enlaces relevantes con los aminoácidos Gln 130 y Cys 83,¹⁴ este último, identificado en el presente estudio. Además, algunos autores confirman el enlace con Cys 83, aunque expresan que Asp 84 también es un residuo de aminoácido en el dominio catalítico del blanco estudiado,¹⁵ al igual que Lys 33.¹⁶

Los resultados de acoplamiento molecular de este estudio ([Tabla 1](#)), revelan un alto valor de afinidad si se comparan con los obtenidos de interacciones entre CDK5 y los compuestos flavonoides: sulfuretin, aureusidin, aurone glycoside, aureusidin-6-O-b-D-glucopyranoside, hovetrichoside C, the flavonoid glycoside, quercetin-3-O-b-D-galactopyranoside y Cupressuflavone; la energía de enlace prevista más alta de todas estas uniones fue de -9,60 Kcal/mol.¹⁷ Otras revisiones demuestran afinidades de -14,8 Kcal/mol entre flavonoides y la proteína blanco; sin embargo, en el presente análisis la mejor afinidad encontrada fue de -17,7 Kcal/mol,¹⁸ lo que indica una preferible capacidad inhibidora de los candidatos propuestos en este trabajo cuya estructura molecular 2D se muestra en la Figura 2. En este trabajo se intentó además, identificar otros blancos relacionados con la EA mediante acoplamiento inverso, mostrados en la Tabla 2. Las proteínas que tuvieron interacción con todos los cinco mejores ligandos seleccionados en el presente estudio fueron: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, Mitogen-activated protein kinase 14, y cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase. Nishikawa *et al.*, describieron la inmunoreactividad de Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate en el hipocampo, la corteza entorrinal y el neocortex de 5 pacientes con EA y establecieron que este lípido participa

en la degeneración de cuerpos granuvacuolares y en la formación de los ovillos neurofibrilares.¹⁹

Con respecto a la Mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14), pertenece a la superfamilia de las *proteína quinasas activadas por mitógenos*. La literatura elude estudios *in vitro* de fosforilación de Tau por estas proteínas en sitios de prolina Ser/Thr, generando así la producción de ovillos neurofibrilares,²⁰ sin embargo, al aumentar MAPK14 se disminuye la degradación autofágico-lisosómica neural se incrementan así los niveles de BACE1 y se favorece la producción de placas amiloides.²¹

Acerca de la enzima cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase, se sabe que actúa por inactivación metabólica bloqueando la señalización de nucleóticos cíclicos implicados en la regulación de la plasticidad sináptica, su sitio activo contiene un residuo de glutamina que contribuye a la unión con cGMP por medio de un doble enlace de hidrógeno. Se maneja la hipótesis de "Glutamine Switch", la cual plantea que los enlaces de hidrógeno alrededor de glutamina sirven para bloquearla en una conformación fija o producir cambio conformacional.²²

Desde la perspectiva de la funcionalidad biológica de estas proteínas identificadas por acoplamiento inverso, se infiere la capacidad de los ligandos registrados en este trabajo para interferir con la progresión de diferentes puntos blancos implicados en la enfermedad de Alzheimer.

pesar de que las moléculas seleccionadas mediante estrategias *in silico* tienen características de hidrofobicidad, de coordinación y capacidad de yodación adecuadas para su aplicación como agentes terapéuticos en la enfermedad de Alzheimer,²³ se requiere la realización de estudios *in vivo* de los ligandos identificados para definir su utilidad farmacológica.

CONCLUSIONES

Se concluye que los cinco ligandos identificados virtualmente pueden interactuar con la enzima CDK5 y podrían actuar como inhibidores de la misma, lo que abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la EA. Además, se evidenció que estas moléculas no solo pueden interactuar con CDK5, sino que también podrían hacerlo con otros blancos moleculares implicados en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer, lo que permite argumentar la posible utilización de estas en el tratamiento de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2014 Consultado: 2016 Ago 02; 88: 640–651. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24398425>
2. Bernardi R. Neurobiological mechanisms of Alzheimer's disease. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr* [Internet]. 2005 Consultado: 2016 Ago 02]. 43(2):123-132 Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272005000200005
3. Zamolodchikov D, Strickland S. A possible new role for A β in vascular and inflammatory dysfunction in Alzheimer's disease. *Thromb Res* [Internet]. 2016 May Consultado: 2016 Ago 04; 141(2):59–61 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207427>
4. López O. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. *Arch Med Interna* [Internet]. 2015 Consultado: 2016 Ago 06; 37(1):61-67. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-423X2015000200003
5. Sharma HS, Muresanu DF, Sharma A. Alzheimer's disease: cerebrolysin and nanotechnology as a therapeutic strategy. *Neurodegener Dis Manag* [Internet]. 2016 Dic Consultado: 2016 Ago 10; 6(6):453-456. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27827552>
6. Herrera M, Hernández M, Manzo J, Aranda G. Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. *Rev Neurol* [Internet]. 2010 Consultado: 2016 Ago 15; 51(3): 153-164 Disponible en: <http://www.neurologia.com/pdf/Web/5103/be030153.pdf>
7. Maccioni C, Arzola M, Mujica L, Maccion R. Nuevos paradigmas en el estudio de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. *Rev. chil. neuro-psiquiatr* [Internet]. 2003 Consultado: 2017 Abr 15; 41(supl 2):33-46.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272003041200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
8. Williams P, Sorribas A, Howes MJ. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Nat Prod Rep* [Internet]. 2011 Consultado: 2017 Abr 15; 28(1):48-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21072430>
9. Li H, Zheng M, Luo X, Zhu W, Jiang H. Computational approaches in drug discovery and development. *Wiley encyclopedia of chemical biology* [Internet]. 2008 Consultado: 2017 Abr 15]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470048672.webc098/abstract;jses>

[sionid=F09909716C68BF68B8AE25FC83E1BD3D.f01t01?systemMessage=Pay+Per+View+on+Wiley+Online+Library+will+be+unavailable+on+Saturday+15th+April+from+12%3A00-09%3A00+EDT+for+essential+maintenance.+Apologies+for+the+inconvenience.&userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20433957)

10. Pierri C, Parisi G, Porcelli V. Computational approaches for protein function prediction: A combined strategy from multiple sequence alignment to molecular docking-based virtual screening. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2010 Consultado: 2017 Abr 15; 1804(9):1695-712. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20433957>

11. Pájaro N, Flechas M, Ocazonez R, Stashenko E, Olivero J. Potential interaction of components from essential oils with dengue virus proteins. *Bol Latin Carib Plant Medic Aromát* [Internet]. 2015 Consultado: 2016 Sep 03; 14(3):141-155. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85638535001>

12. Ahn JS, Radhakrishnan ML, Mapelli M, Choi S, Tidor B, Cuny GD, *et al.* Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. *Chem Biol* [Internet]. 2005 Consultado: 2016 Sep 18; 12:811-23. Disponible en: [http://www.cell.com/cbio/abstract/S1074-5521\(05\)00157-2](http://www.cell.com/cbio/abstract/S1074-5521(05)00157-2)

13. Gao-keng X, Hao G, Xin-sheng Y. Alzheimer's Disease target prediction Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, China. [Internet]. Consultado: 2016 Nov 05]. Disponible en: <http://nps.jnu.edu.cn>

14. Demange L, Abdellah FN, Lozach O, Ferandin Y, Gresh N, Meijer L, *et al.* Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2013 Consultado: 2016 Oct 15; 23:125-31. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23218601>

15. Chatterjee A, Cutler SJ, Doerksen RJ, Khan IA, Williamson JS. Discovery of thienoquinolone derivatives as selective and ATP non-competitive CDK5/p25 inhibitors by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2014 Consultado: 2016 Oct 22; 22(22):6409-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Discovery+of+thienoquinolone+derivatives+as+selective+and+ATP+non-competitive+CDK5%2Fp25+inhibitors+by+structure-based+virtual+screening>.

16. Dong K, Wang X, Yang X, Zhu X. Binding mechanism of CDK5 with roscovitine derivatives based on molecular dynamicssimulations and MM/PBSA methods. *J Mol Graph Model* [Internet]. 2016 Consultado: 2016 Nov

02;68:57-67. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Binding+Mechanism+of+CDK5+with+Roscovitine+Derivatives+Based+on+Molecular+Dynamics+Simulations+and+MM%2FPBSA+Methods>.

17. Shrestha S, Natarajan S, Park JH, Lee DY, Cho JG, Kim GS, *et al.* Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from *Rhus parviflora*. *Bioorg Med Chem Lett.*[Internet]. 2013;23(18):5150-4. Consultado: 2016 Nov 11; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+neuroprotective+flavonoid-based+inhibitors+of+CDK5%2Fp25+from+Rhus+parviflora>.

18. Mascayano C, Carolina L. Síntesis de derivados de 1-bencilisoquinolinas como posibles inhibidores de CDK5 y estudio de las interacciones en el sitio de unión de ATP. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. [Internet]. 2006. Consultado: 2016 Nov 11]. Disponible en: <http://dspace2.conicyt.cl/handle/10533/15016>

19. Nishikawa T, Takahashi T, Nakamori M, Yamazaki Y, Kurashige T, Nagano Y, *et al.* Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulo vacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles. *Neuropathol Appl Neurobiol* [Internet]. 2014 Jun;40(4):489-501. Consultado: 2016 Nov 24; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Phosphatidylinositol-4%2C5-bisphosphate+is+enriched+in+granulo+vacuolar+degeneration+bodies+and+neurofibrillary+tangles>.

20. Haddad J. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention? *Prog Neurobiol* [Internet]. 2004 Ago;73(5):359-77. Consultado: 2016 Nov 28; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Mitogen-activated+protein+kinases+and+the+evolution+of+Alzheimer%E2%80%99s%3A+a+revolutionary+neurogenetic+axis+for+therapeutic+intervention%3F%2C>

21. Alam J, Scheper W. Targeting neuronal MAPK14/p38 activity to modulate autophagy in the Alzheimer disease brain. *Autophagy* [Internet]. 2016 Dic;12(12):2516-20. Consultado: 2016 Dic 03; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Targeting+neuronal+MAPK14%2Fp38%CE%B1+activity+to+modulate+autophagy+in+the+Alzheimer+disease+brain>

22. Bales K, Plath N, Svenstrup N, Menniti F. Phosphodiesterase inhibition to target the synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Top Med Chem* [Internet]. 2010 Ago;6:57-90. Consultado: 2016 Dic 10; Disponible en: http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F7355_2010_8

23. Rodríguez C, Rimola A, Alí J, González P, Sodupe M. Estrategias *in silico* para el diseño y selección de compuestos con potencial aplicación en la enfermedad de Alzheimer. FarmaEspaña Ind [Internet]. 2011 Nov-Dec Consultado: 2017 Abr 15; 1:66-8. Disponible en: <http://www.xrqtc.com/wp-content/uploads/2014/07/alzheimer.pdf>

ANEXO C.

Certificado en calidad de expositor en el XXVIII congreso estudiantil colombiano de investigación médica.

ZONA C FELSOCEM

CECIM
CURSO REGIONAL ZONA C FELSOCEM

XXVIII
NEUROLOGÍA E INFECTOLOGÍA
CONGRESO ESTUDIANTIL COLOMBIANO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

CERTIFICA QUE:

Jesús Darío Bustamante Díaz identificado(a) con C.C N° 1102873549 participó en calidad de expositor(a) del trabajo titulado "BÚSQUEDA IN SILICO DE PEQUEÑAS MOLÉCULAS QUE INTERACCIONEN CON LA PROTEÍNA QUINASA DEPENDIENTE DE CYCLINA 5, COMO UN POSIBLE TRATAMIENTO PARA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER" en el XXVIII Congreso Estudiantil Colombiano de Investigación Médica (CECIM) Neurología e Infectología y Curso Regional de Zona C FELSOCEM

Realizado los días 24 al 27 de mayo de 2017 en el municipio de Villa de Leyva, Boyacá, Colombia y organizado por la Asociación Científica de Estudiantes de Medicina de la UPTC (**ACEMED UPTC**), en nombre de la Asociación de Sociedades Científicas de Estudiantes de Medicina de Colombia (**ASCEMCO**), con el apoyo de la Escuela de Medicina de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

LEONEL VEGA USECHE
DIRECTOR CECIM

GABRIEL MOJICA PUERTO
DIRECTOR ESCUELA DE MEDICINA UPTC

ALFONSO RODRIGUEZ MORALES
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE MEDICINA DEL VIAJERO, ASOCIACIÓN PANAMERICANA DE INFECTOLOGÍA

LIDIZ MORA MARQUEZ
CONSEJERA ZONA C FELSOCEM

JUAN MANUEL JARAMILLO MEJIA
PRESIDENTE ASCEMCO

Uptc Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

ASOCIACIÓN INSTITUCIONAL DE ALTA CALIDAD DE UPTC

FELSOCEM

ASCEMCO

ASOCIACIÓN PANAMERICANA DE INFECTOLOGÍA

CECIM UPTC

Escuela Medicina

WelchAlllyn

Grupo CTO

ISC