



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Estudio in silico de derivados de guanidinobenzotiazoles  
como posibles inhibidores de la actividad de AChE,  
BACE1 y la agregación del péptido amiloide”

# T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNOSTICA

PRESENTA

ANA PAOLA ANAYA GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS: D. en C. MARTHA  
CECILIA ROSALES HERNANDEZ

CO-ASESORA: M. en C. DIANA RAMÍREZ  
HERNÁNDEZ

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN



ASUNTO: VOTO APROBATORIO

UNAM

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERAMA BRAVO

Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional**

**Estudio in silico de derivados de guanidinobenzotiazoles como posibles inhibidores de la actividad de AChE, BACE-1 y la agregación del péptico amiloide.**

Que presenta la pasante: **Ana Paola Anaya García**

Con número de cuenta: **315238165** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 15 de Febrero de 2023.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Azucena Lee Mendoza	
<b>VOCAL</b>	Dra. Jazmín Flores Monroy	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Diana Ramírez Hernández	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Esp. F.H. Elisa Pedraza Vázquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga\*

## Publicación de uso de obra

Universidad Nacional Autónoma de México

P r e s e n t e

Bajo protesta de decir verdad el que suscribe **Ana Paola Anaya García**, manifiesto ser autor (a) y titular de los derechos morales y patrimoniales de la obra titulada “Estudio in silico de derivados de guanidinobenzotiazoles como posibles inhibidores de la actividad de AChE, BACE1 y la agregación del péptido amiloide”, en adelante “La tesis” y de la cual se adjunta copia para efecto de cumplir con los requerimientos establecidos por la UNAM para la modalidad de titulación por opción de réplica oral (Tesis y examen profesional) por lo que por medio de la presente y con fundamento en el artículo 27 de la Ley Federal del Derecho de Autor, se prohíbe el uso y/o explotación de “La Tesis” en las formas y medios descritos en el fundamento legal citado, en virtud de que cualquier utilización por una persona física o moral distinta del autor o director de tesis puede afectar o violar derechos autorales, industriales, secretos industriales, convenios, o contratos de confidencialidad o en general cualquier derecho de propiedad intelectual de terceros distintos al autor de “La Tesis”

En virtud de lo anterior, “La UNAM” deberá reconocer en todo momento mi calidad de autor de “La Tesis” y limitarse a su uso en la forma arriba señalada.

Atentamente

Ana Paola Anaya García

## Dedicatorias

**A mamá.** Gracias mamá por tu tiempo, tu dedicación y esfuerzo. Por creer en mí y no desistir; por ayudarme a levantarme y seguir adelante. Gracias por amarme cuando ni yo misma podía. Te quiero hoy, mañana y siempre. Tal vez algún día logré ser la mitad de la maravillosa mujer que eres. Te amo.

**A papá.** Papá; he aprendido tanto de ti que las palabras sobran cuando ambos somos uno; eres mi sangre, parte de mi alma y uno de mis grandes motivos. Gracias por criarme, gracias por el cariño, por la comida, por mi primer libro, pero sobre todo por acompañarme. Te amo.

**Al Ing. José de Jesús Anaya.** Hermano. Eres mi recuerdo más bonito de la infancia, mi mejor amigo y fuente de inspiración. Hemos crecido juntos, llorado, reído y compartido; gracias por enseñarme a soñar, por estar en los días duros y en los buenos. Estoy orgullosa de ti, te admiro y respeto eternamente. Te amo.

**A la Dra. Daniela Itzel Anaya.** Hermana. Siempre he estado orgullosa de la gran persona que eres, nunca dejes de soñar, sigue trabajando duro, sigue esforzándote. No tengas miedo y arriésgate. Mantente firme cuando el mundo se venga abajo, abraza y besa a los tuyos. Vive, ríe y ama tanto como te amo a ti.

**A Dios.** “Libérame de este mundo. No pertenezco aquí, fue un error aprisionar mi alma. ¿Puedes liberarme?”

**A la Dra. Leticia Fragoso Morales.** Dra. Muchas gracias por abrirme las puertas, por ser parte de este proceso y trabajo. Merece todo lo bonito del mundo, infinitas gracias a bebé y a usted.

**A la Dra. Martha Cecilia Rosales Hernández.** Dra. Gracias por acogerme, acompañarme, por brindarme la confianza y sobre todo por enseñarme. Gracias por su hermosa labor y dedicación. Tiene todo mi respeto y cariño.

**A la Dra. Diana Ramírez Hernández.** Dra. Gracias por acompañarme durante este proceso y creer en este trabajo, por la confianza y el apoyo.

**A mis profesores.** A cada uno de ustedes que sembró en mi conocimiento, por su dedicación y esfuerzo, gracias. Malú, un abrazo en donde estes, profesora Angelica gracias por creer en mí y darme la fortaleza para continuar, al Dr. Julio por ser mi tutor y amigo, a María Esther, a Mayela, a todos los profesores que me enseñaron que enseñar es un arte y acto de amor. Los llevó en mi corazón.

**A ti.** “Todo lo que necesitaba era la última cosa que quería, sentarme sola en un cuarto y decirlo todo en voz alta. Cada momento, cada segundo, cada traspaso, cada cosa horrible, cada sueño roto.”

† **A Baxter.** “Nuestra niña se ha ido, Dios bendiga su pequeña alma.”

A una amiga†, a un viejo amor, y a los que se fueron. Gracias.

“Todos tenemos nuestra máquina del tiempo ¿no? Las que nos llevan hacia atrás, son recuerdos; las que nos llevan hacia adelante, son sueños.” -H. G Wells.

## Agradecimientos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi Alma Mater y acompañarme durante mi formación académica y personal, por brindarme las herramientas necesarias para continuar con todos los aprendizajes de maestros que siempre llevaré presentes a lo largo de mi vida.

A la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional por brindarme el espacio y recursos para desarrollar este trabajo en el Laboratorio de Biofísica y Biocatálisis, así como a los proyectos SIP-IPN Multidisciplinario 2140-2021; a CONACYT CB proyecto 319355-2022.

# Índice

Abreviaturas.....	5
Resumen .....	6
1. Introducción.....	7
2. Antecedentes .....	10
2.1 Fisiopatología de la EA.....	10
2.2 Incidencia de la EA .....	12
2.3 Factores de riesgo de la EA.....	13
2.4 Proteínas involucradas en la EA.....	14
2.4.1 Péptido beta amiloide ( $\beta$ A).....	14
2.5 Importancia de BACE1 en EA .....	17
2.6 Papel de la Acetilcolinesterasa (AChE) en EA.....	18
2.7 Tratamientos farmacológicos para EA .....	20
2.8 Curcumina inhibe la agregación del $\beta$ A .....	20
2.8.1 Propuesta farmacológica de posibles inhibidores de BACE1 .....	23
2.8.2 Inhibidores de AChE para el tratamiento de la EA .....	26
2.9 Compuestos multitarget empleados en EA.....	27
2.10 Derivados de guanidinas y benzotiazoles para el tratamiento de la EA .....	28
2.11 Estudios in silico y Docking molecular .....	29
3. Propuesta .....	31
4. Planteamiento del problema .....	32
5. Justificación.....	32
6. Hipótesis .....	33
7. Objetivo general.....	33
Objetivos particulares .....	33
8. Metodología.....	34
8.1 Selección de proteínas ACHE, BACE1 y $\beta$ A en sus tres conformaciones.....	34
8.2 Dibujar y optimizar los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	34
8.3 Preparación de ACHE, BACE1 y $\beta$ A .....	34
8.4 Acoplamiento molecular entre ACHE, BACE1 y $\beta$ A y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	35
8.5 Análisis del acoplamiento molecular entre AChE, BACE1 y $\beta$ A con los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	35

8.6 Visualización de las interacciones entre AChE, BACE1 y $\beta$ A y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	36
9. Resultados .....	36
9.1 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas del DC y DD entre el $\beta$ A <sub>1-42</sub> y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	36
9.2 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas durante DC y DD entre AChE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles.....	40
9.3 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas durante DC y DD entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles .....	43
10. Discusión.....	49
11. Conclusiones .....	51
12. Perspectivas del trabajo.....	51
11. Referencias .....	52
12. Anexos.....	57

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Fisiopatología de la EA .....	10
<b>Figura 2.</b> Incidencia de la EA .....	13
<b>Figura 3.</b> Estructura 3D de BACE1.....	18
<b>Figura 4.</b> Sitios Activos de AChE.....	19
<b>Figura 5.</b> Estructura de la Curcumina.....	21
<b>Figura 6.</b> Estructuras de los posibles inhibidores de BACE1 .....	25
<b>Figura 7.</b> Estructura de Galantamina.....	26
<b>Figura 8.</b> Estructura de Guanidina y Benzotiazol.....	28
<b>Figura 9.</b> Estructura química de 26 derivados de 2-Guanidinobenzotiazoles a evaluar ...	31
<b>Figura 10.</b> Valores de $\Delta G$ del $\beta A_{1-42}$ en sus tres conformaciones con los 26 compuestos derivados de guanidinobenzotiazoles en DC y DD. ....	37
<b>Figura 11.</b> Interacciones obtenidas en Discovery Studio Visualizer durante el DD con $\beta A_{1-42}$ en conformación $\alpha$ -hélice .....	39
<b>Figura 12.</b> Valores de $\Delta G$ de los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles con la enzima AChE en DC y DD. ....	40
<b>Figura 13.</b> Interacciones de ACHE durante el DD. ....	43
<b>Figura 14.</b> Valores de $\Delta G$ de los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles con la enzima BACE1 en DC y DD.....	44
<b>Figura 15.</b> Interacciones obtenidas en Discovery Studio Visualizer durante el DD en BACE1 .....	46
<b>Figura 16.</b> Interacciones de los controles en DD en la proteína BACE1. ....	48

## Índice de Tablas

Tabla 1. Estructuras y funciones de las conformaciones del.....	16
Tabla 2. Valores de $\Delta G$ de los mejores compuestos y curcumina durante el DC y DD en la conformación $\alpha$ -hélice del $\beta A_{1-42}$ .....	38
Tabla 3. Resultados de $\Delta G$ de los mejores compuestos y galantamina durante el DC y DD con AChE.....	41
Tabla 4. Valores de $\Delta G$ de los mejores compuestos durante el DC y DD con BACE1.....	45
Tabla 5. Valores de $\Delta G$ del DC y DD entre los controles y BACE1.....	47
Tabla 6. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el $\beta A$ 1-42 conformación Alfa hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	57
Tabla 7. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el $\beta A$ 1-42 conformación Alfa hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	58
Tabla 8. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el $\beta A$ 1-42 conformación Hoja beta plegada hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	59
Tabla 9. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el $\beta A$ 1-42 conformación hoja beta plegada y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	60
Tabla 10. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el $\beta A$ 1-42 conformación Random Coil y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	61
Tabla 11. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el $\beta A$ 1-42 conformación Random Coil y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	62
Tabla 12. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre ACHE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	63
Tabla 13. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre ACHE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	64
Tabla 14. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	65
Tabla 15. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking dirigido entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å.....	67

## Abreviaturas

$\Delta G$	Delta G
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$ -secretasa	Gamma secretasa
ACHE	Acetilcolinesterasa
APOE-4	Apolipoproteína E-4
APP	Proteína Precursora Amiloide
BA	Beta Amiloide
BACE	Beta Secretasa
DC	Docking Ciego
DD	Docking Dirigido
DMLs	Multitarget-directed Ligands
EA	Enfermedad de Alzheimer
EO-FAD	Early-onset familial Alzheimer's disease
FCDs	Fixed Dose Combination
ISRS	Inhibidor Selectivo en la captación de Serotonina
LO-SAD	Low-Onset Sporadic Alzheimer's Disease
PSEN1	Presenilina-1
PSEN2	Resenilina2
sAPP $\beta$	Subunidad de la proteína precursora Amiloide
TBI	Traumatic Brain Injury (Lesión Cerebral Traumática)
TCE	Traumatismo Craneoencefálico

## Resumen

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa de riesgo entre adultos mayores, presenta pérdida de memoria, problemas de lenguaje, alteración del estado anímico y/o de conducta debido a la neurodegeneración ocasionada principalmente por la producción del péptido beta amiloide ( $\beta$ A) y la hiperfosforilación de la proteína TAU. Los fármacos que se han utilizado para el tratamiento de la EA son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), sin embargo, en la actualidad se han propuesto algunos derivados de guanidinas y benzotiazoles como posible tratamiento en la EA, los derivados de guanidina actúan principalmente como inhibidores de la enzima beta secretasa (BACE1) y los benzotiazoles como inhibidores de la agregación del  $\beta$ A. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar si 26 derivados de guanidinobenzotiazoles podrían mediante estudios in silico interaccionar con AChE, BACE1 y el  $\beta$ A<sub>1-42</sub> y así evaluar si alguno de ellos tiene actividad multitarget. Los estudios in silico se llevaron a cabo mediante un estudio de acoplamiento molecular (Autodock, PyMOL) Los resultados obtenidos muestran que los compuestos 20, 22, 23 y 26 interaccionan en el sitio de agregación del  $\beta$ A<sub>1-42</sub> y además con el sitio activo de AChE y BACE1, teniendo mejor  $\Delta$ G los derivados de guanidinobenzotiazoles compuesto 20 (DD  $\Delta$ G -8.51) que curcumina ( $\Delta$ G -5.5), incluso el compuesto 20 interacciona con E22 y D23 del  $\beta$ A<sub>1-42</sub> en conformación alfa hélice. Para AChE se empleó galantamina como control y los mejores compuestos fueron el compuesto 20 (DD: -8.41), 22 (DD: -7.42) y 23 (DD: -7.68), presentando interacciones en el subsitio de unión periférico, el subsitio oxianión y el subsitio de unión acilo. Para BACE1 los mejores compuestos son el 20 (DD: -9.89), 22 (DD: -9.29) y 26 (DD: -11.35) hay interacciones con D289 y D93 siendo el compuesto 26 mejor que los controles Atabecestat (DD: -8.11), Elenbecestat (DD: -10.87), Lanabecestat (DD: -8.99), LY3202626 (DD: -10.29), Umibecestat (DD: -8.13) y Verubecestat (DD: -8.72). Por lo tanto, se puede concluir que los compuestos 20 y 26 cumplen con características multitarget, al lograr generar interacciones durante el DD en todas las proteínas propuestas.

## 1. Introducción

Se define como Enfermedad de Alzheimer (EA) a un tipo de demencia que genera la afección neurodegenerativa que produce deterioro en las neuronas y ocasiona pérdida de memoria. De acuerdo con el World Alzheimer Report (1) se estimó que en el año 2015 habían más de 800,000 personas con demencia en México, de las cuales mujeres (64%) son las que en mayor proporción sufren este padecimiento ya que, generalmente, tienen una vida más larga. Se espera que, en el país para el año 2030, el número de personas con demencia aumente a poco más de 1.5 millones. Durante la fisiopatología de la EA se encuentran involucradas diversas biomoléculas como el péptido beta amiloide ( $\beta A$ ), este péptido puede tener diferente cantidad de residuos de aminoácidos siendo el más neurotóxico y propenso a agregarse el de 42 aminoácidos ( $\beta A_{1-42}$ ). El  $\beta A_{1-42}$  genera mayormente los depósitos amiloides que forman placas neuríticas y esto se debe a su cambio de conformación al liberarse de la membrana y pasar a un ambiente más hidrofílico en el cual adquiere una conformación beta plegada diferente a la de alfa hélice que mantenía en la membrana, pasando por una conformación de Random Coil (Aleatoria). Es debido a lo anterior que el diseño de fármacos ha puesto gran interés en evitar esos cambios conformacionales en el  $\beta A_{1-42}$  para de esta forma evitar que se oligomerice y cause daño a las neuronas. A la fecha, se han evaluado compuestos derivados de curcumina, los cuales, evitan el cambio conformacional del  $\beta A_{1-42}$ . Además, se ha propuesto inhibir la producción del  $\beta A_{1-42}$  mediante la inhibición de la enzima BACE1, la cual se encarga de hidrolizar a la proteína precursora Amiloide (APP) en la vía amiloidogénica que conduce a una mayor producción de  $\beta A_{1-42}$ . Compuestos como Atabecestat, Elenbecestat, Lanabecestat, LY3202626, Umibecestat y Verubecestat han llegado a evaluaciones de fase clínica, sin embargo, no han tenido éxito debido a efectos adversos o a que no se observa mejora en la memoria. Por lo tanto, continuar la búsqueda de fármacos que puedan actuar sobre estos blancos terapéuticos en la vía amiloidogénica resulta fundamental para un posible tratamiento de la EA.

Actualmente se ha optado por inhibidores de Acetilcolinesterasa (AChE), enzima encargada de hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina (ACh) como tratamiento disponible para la EA. Uno de los fármacos más empleados es la galantamina, entre los 5 fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento de la EA. Debido a que el tratamiento de la enfermedad está basado en el uso sólo de esos 5 fármacos (Aducanumab, Donepezilo, Rivastigmina, Memantina y Galantamina), empleados para controlar los síntomas sin lograr detener el curso de la enfermedad, resulta importante estudiar nuevas moléculas que pudieran tener actividad sobre varios blancos involucrados en la misma. En este sentido, se ha reportado que el uso de Tiazoles inhibe la fosforilación de Tau, protege las células neuronales de los estímulos apoptóticos e inhibe la neurodegeneración mediada por  $\beta A_{1-42}$ , mientras que las guanidinas mejoran la actividad adyuvante incrementando la capacidad de penetración y solubilidad de los compuestos permitiendo una mejor actividad farmacológica.

El grupo químico benzotiazol pertenece a una clase de sistema de dos anillos heterocíclicos, estos consisten en un anillo de benceno acoplado con un resto de tiazol. Desde el punto de vista fisicoquímico, el fragmento de benzotiazol es planar, aromático sin enlaces rotatorios, por lo que es capaz de interactuar con varias proteínas como aceptor de enlaces de hidrógeno y al mismo tiempo como aceptor de densidad de electrones dentro de los complejos  $\pi - \pi$  no enlazantes. Presenta diversas actividades biológicas como antitumorales, antidiabéticas, antituberculosas, antibacterianas, etc. (2, 3).

Los compuestos de benzotiazol tienen potencial anti-EA, debido a la similitud con el colorante de tioflavina T, la mayoría de ellos se utilizan como herramientas de diagnóstico para detectar  $\beta A$ . Hay publicaciones en las cuales moléculas anti-EA que contienen benzotiazol han sido diseñadas como moduladores alcohol deshidrogenasa de unión a amiloide (también llamados moduladores ABAD), otras como compuestos multidiana que afectan las vías colinérgica y amiloide simultáneamente (2, 3, 4).

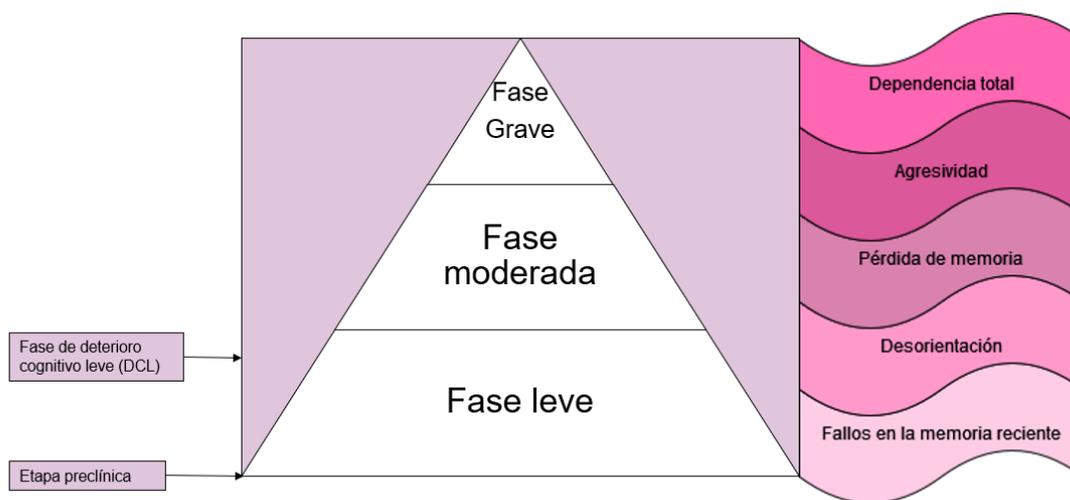
Inhibir el paso inicial de la agregación del  $\beta$ A podría ser un mecanismo crucial para el diseño de nuevos fármacos anti-EA en donde los benzotiazoles podría tener un papel importante para evitar la unión de  $\beta$ A a las membranas celulares y en consecuencia, reducir la agregación de  $\beta$ A, ya que diversos estudios han mostraron que la modificación de las estructuras iniciales de  $\alpha$  hélice y/o Random Coil a una lámina  $\beta$  podrían conducir a una disminución en la capacidad del monómero  $\beta$ A para unirse a las membranas celulares (5).

Por lo tanto, en este trabajo se propuso el estudio *in silico* de 26 compuestos derivados de guanidinobenzotiazoles, con el fin de evaluarlos en tres blancos terapéuticos involucradas en la EA; AChE, BACE1 y  $\beta$ A<sub>1-42</sub>, para con ello determinar si alguno podría actuar como fármacos multitarget, es decir que puedan actuar sobre los tres blancos farmacológicos. Cabe señalar que estos derivados tienen en su estructura química biciclos (anillo bencénico y anillo tiazólico), lo que podría favorecer la interacción con más de un blanco terapéutico (6).

## 2. Antecedentes

### 2.1 Fisiopatología de la EA.

En 1906, Alois Alzheimer describió los correlatos patológicos de la demencia presenil a partir de lo observado en su paciente Augusta D. (51 años) ingresada al hospital de Frankfurt con un cuadro clínico severo producto de la EA fue la primera paciente en ser diagnosticada con la EA. La evaluación *post-mortem* de su cerebro demostró la presencia de ovillos neurofibrilares, acúmulos extra neuronales (placas) y una alteración en la corteza cerebral en la que se observaba la presencia de atrofia. Emil Kraepelin fue quien describió la EA como una enfermedad insólita de la corteza cerebral, que causaba pérdida de memoria, desorientación seguida de depresión y alucinaciones.



**Figura 1.** Fisiopatología de la EA

Hoy en día se reconoce a la EA como el tipo más habitual de demencia, debido a que representa del 60 al 80 por ciento de todas las demencias. Entre los síntomas de la EA se encuentran la pérdida de memoria denominada agnosia, dificultad para realizar tareas diarias, desorientación, cambios conductuales, problemas de lenguaje, incapacidad de retención de nueva información o de recordar eventos

recientes y eventos pasados; relacionados con el daño a la corteza cerebral la cuál sufre de una reducción de su espesor en ciertas zonas relacionadas a atrofiaciones corticales, principalmente en los hemisferios. De igual forma las circunvalaciones del órgano y surcos se observan aumentados lo cual tiende a generar una mayor profundidad en los valles demostrando daños en el área parietal la cual está íntimamente relacionada a la zonas sensoriales y motora generando un aumento en el volumen ventricular provocando daños en la sustancia blanca; principalmente en los axones (7).

Al realizar evaluaciones microscópicas de tejido obtenido *post mortem* en un enfermo con EA, es común observar la existencia de placas seniles y ovillos neurofibrilares. Durante la formación de las placas seniles del  $\beta A$ , el fragmento que tiene mayor importancia es el  $\beta A_{1-42}$  ya que éste tiende a generar una mayor agregación y formación de placas. El  $\beta A$  es producido por la enzima BACE1, de ahí radica su importancia farmacológica al buscar inhibir esta enzima en etapas tempranas a la enfermedad y evitar la formación del  $\beta A_{1-42}$ . Es importante resaltar que el péptido  $\beta A$ , posee distintas conformaciones, siendo de gran importancia la alfa hélice ( $\alpha$ ), ya que esta antecede a la conformación Random Coil y posteriormente a hoja beta plegada. Al evitar el cambio de conformación de alfa hélice a hoja beta se evitaría el aumento del péptido beta amiloide y con ello la formación de las placas seniles producidas durante el proceso de la enfermedad (8).

Otros componentes de las placas neuríticas se conforman principalmente de alfa sinucleína, ubiquitina, presenilinas, apolipoproteína E, mientras que los ovillos neurofibrilares son inclusiones que llenan el soma y la dendrita apical y se relacionan directamente con la hiperfosforilación de la proteína TAU, además de la vía amiloidogénica (9).

Por lo tanto, BACE1 es un objetivo farmacológico principal para disminuir la producción de  $\beta A_{1-42}$  en las primeras etapas de la EA. Además de la vía amiloidogénica, BACE1 tiene otros sustratos que pueden ser importantes para la plasticidad sináptica y la homeostasis sináptica, al interaccionar con la proteína

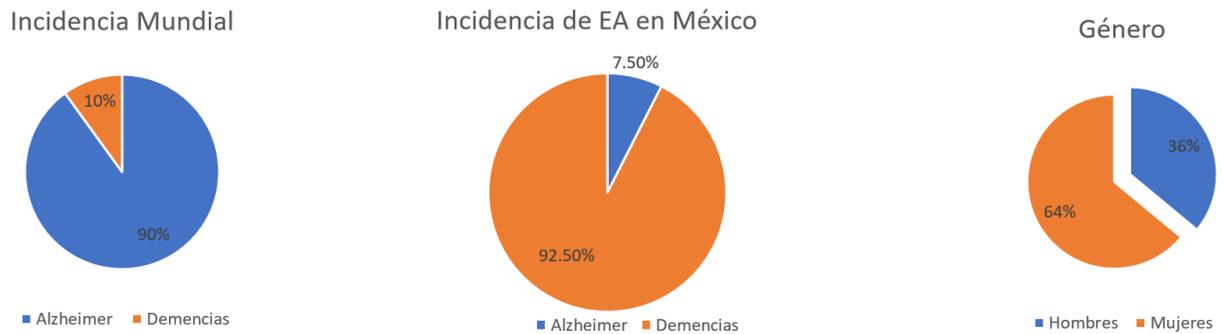
precursora amiloide (APP) y generar un anclaje permitiendo la liberación de la subunidad de la proteína precursora del  $\beta$ A (sAPP $\beta$ ) mientras que un fragmento de 99 aminoácidos (CTF $\beta$ ) queda anclado a la membrana para posteriormente con ayuda de la gamma secretasa, liberar el  $\beta$ A<sub>1-42</sub>, y el dominio intracelular de la proteína precursora de amiloide (AICD) relacionada con la transcripción de genes y apoptosis neuronal (10).

Actualmente se define a la EA como un trastorno neurodegenerativo progresivo que finalmente conduce a la muerte. Si bien los exámenes neurológicos y psiquiátricos brindan una evaluación del deterioro, el diagnóstico definitivo sólo se llega a través de la necropsia. En el nivel del comportamiento observable las personas afectadas por la EA, desarrollan síntomas gradualmente, generalmente después de los sesenta y cinco años (Figura 1). Sin embargo, también se sabe que la enfermedad se puede desarrollar en individuos más jóvenes y tiene un inicio más rápido.

## **2.2 Incidencia de la EA**

La incidencia de la EA, así como de la demencia vascular (formas más comunes de demencia), es de hasta el 90% de los casos de demencia mundiales (11).

México se convertirá en un país con una cantidad mayor de personas mayores que infantes menores de 5 años. Se prevé que para el año 2050, la proporción de las y los menores de 15 años en la población total disminuirá de 30.0% a 17.4%. De esta forma, el incremento en la población de personas adultas mayores aumentará con el uso de los servicios de salud destinados a la atención de enfermedades exclusivas del envejecimiento como las demencias. Estudios en nuestro país revelan que aproximadamente el 7.5% de los adultos mayores tienen EA (Figura 2).



**Figura 2.** Incidencia de la EA (11)

### 2.3 Factores de riesgo de la EA

Diversas investigaciones sugieren que en la edad media de la vida, los factores de riesgo de enfermedades vasculares, como hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus (DM), hábito de fumar, dislipidemia, obesidad, síndrome metabólico (SM) y cardiopatía isquémica (CI), predisponen tanto a la EA como a las demencias vasculares por diversos mecanismos que incluyen: el daño vascular, producción por el tejido adiposo de sustancias que son importantes durante el metabolismo de (adipocinas), la inflamación (citocinas), la resistencia periférica a la insulina y la hiperinsulinemia. De acuerdo a la clasificación genética la EA se clasifica en familiar y esporádica, la EA esporádica de inicio tardío, es un trastorno multifactorial en el que se producen cambios relacionados con la edad, factores de riesgo genéticos, como la variación alélica de la apolipoproteína E (ApoE) y muchos otros genes, enfermedad vascular, traumatismo craneoencefálico (TCE) y factores asociados con la dieta, el sistema inmunológico, la función mitocondrial y la exposición a metales. Estos factores de riesgo pueden actuar colectivamente para causar patología de la EA:

- 1) Al promover la liberación de radicales libres de oxígeno con el envejecimiento
- 2) A través del estrés ambiental que actúa sobre los genes

3) Por el aumento de la “carga alostática” (capacidad que posee el cerebro de recuperarse después de sufrir un episodio de estrés) acumulada en el cuerpo a lo largo de la vida.

Como consecuencia, los cambios en el estilo de vida que reducen el impacto de estos factores pueden ser necesarios para reducir el riesgo de EA (12). Estudios genómicos han confirmado que es el alelo  $\epsilon 4$  de ApoE, el factor genético más importante para producir EA (13). La ApoE regula el metabolismo lipídico, mediando el transporte de un tejido o célula a otra. En los tejidos periféricos se produce en mayor medida por medio del hígado y los macrófagos, mientras que en el sistema nervioso central se produce por los astrocitos, así mismo transporta el colesterol a las neuronas mediante receptores de ApoE, miembros de los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (14).

## **2.4 Proteínas involucradas en la EA**

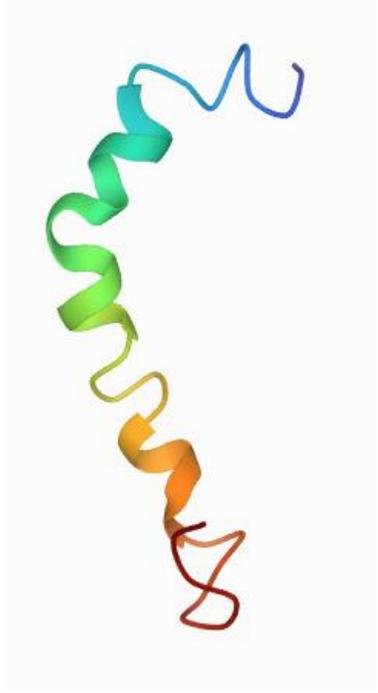
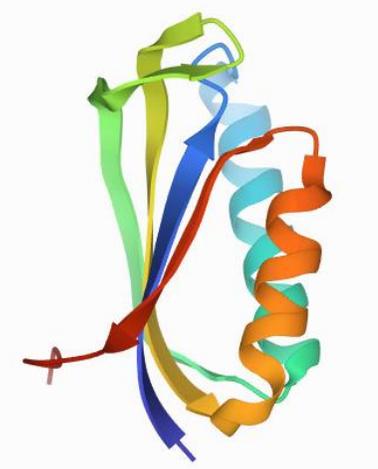
### **2.4.1 Péptido beta amiloide ( $\beta A$ )**

Se ha propuesto que la EA puede ser resultado de un exceso de formación o falta de eliminación del péptido beta amiloide ( $\beta A$ ). Los depósitos amiloideos forman placas seniles, puede originar muerte neuronal. El  $\beta A$  compone principalmente a las placas seniles y de los depósitos amiloideos perivasculares. Procede de una proteína de mayor tamaño, la proteína precursora de amiloide (APP) que es codificada por el brazo largo del cromosoma 21. La APP se escinde secuencialmente por dos endoproteasas unidas a la membrana, la  $\beta$  y la  $\gamma$ -secretasa. BACE1 primero escinde la APP para liberar un gran derivado secretado, sAPP $\beta$ . Un fragmento de 99 aminoácidos (CTF $\beta$ , que comienza con el residuo aspartato N-terminal de  $\beta A$ ) permanece unido a la membrana y, a su vez, se escinde rápidamente por la  $\gamma$ -secretasa para generar  $\beta A_{1-42}$ . La escisión por  $\gamma$ -secretasa es algo impreciso, lo que da como resultado una heterogeneidad C-terminal de la población de péptidos resultante. Por lo tanto, existen numerosas especies de  $\beta A$  diferentes, pero las que

terminan en la posición 40 ( $\beta A_{1-40}$ ) son las más abundantes (80-90%), seguidas de 42 ( $\beta A_{1-42}$ , ~ 5-10%). Las formas ligeramente más largas de  $\beta A$ , particularmente  $\beta A_{1-42}$ , son más hidrófobas y fibrilogénicas, y son las principales especies depositadas en el cerebro. La actividad de la BACE1 es el paso limitante de la velocidad en la vía amiloidogénica y procesa aproximadamente el 10% de la APP celular total. La APP restante, cercana al 90%, es escindida constitutivamente por la  $\alpha$ -secretasa (una colección de enzimas metaloproteasas), generando sAPP $\alpha$  y los 83 aminoácidos CTF $\alpha$ . La posterior escisión de la  $\gamma$ -secretasa de CTF $\alpha$  produce el fragmento p3 más benigno en lugar de  $\beta A$ . La escisión de la  $\gamma$ -secretasa de cualquier CTF unido a la membrana también genera un elemento citosólico, AICD (dominio intracelular de APP, a veces denominado CTF $\gamma$ ), que puede desempeñar un papel en la transducción de señales (10, 11). Debido a su papel esencial en la generación de  $\beta A_{1-42}$ , se considera que tanto la  $\beta$  como la  $\gamma$ -secretasa son los principales objetivos para el desarrollo de fármacos anti-EA (15).

La agregación de  $\beta A_{1-42}$  es un proceso complicado, en el cual se involucra más de una sencilla conversión de monómeros solubles en fibras.  $\beta A$  es principalmente una estructura  $\alpha$ -hélice o "Random Coil" (Tabla 1), pero puede plegarse en estructuras  $\beta$ -plegadas, como se muestra en la tabla 1, las cuáles son más comunes a agregarse en forma de oligómeros tóxicos y en fibrillas amiloides insolubles (16).

Tabla 1. Estructuras y funciones de las conformaciones del  $\beta A_{1-42}$ .

Conformación	Estructura	Función
$\alpha$ -hélice		<p>El <math>\beta A_{1-42}</math> helicoidal podría inducir la formación de canales de membrana, lo que permite la penetración de sustancias (iones metálicos) que pueden causar la muerte neuronal (17). Es importante identificar el plegamiento anómalo de proteína (hélice alfa <math>\rightarrow</math> lámina beta) en fases muy tempranas de la EA, para tener una mejor respuesta al tratamiento farmacológico. En la EA los agregados de <math>\beta A_{1-42}</math> surgen como resultado de cambios conformacionales en los monómeros predominantemente alfa-helicoidal a una mezcla de plegamiento intermedio ricos en estructuras beta que conducen a la agregación de monómeros y consecuentemente la formación de fibrillas (18).</p>
Random Coil		<p>Es necesaria la transición del <math>\beta A_{1-42}</math> de una forma soluble monomérica a una insoluble o fibrilar para que sean tóxicos a la célula y esto es el resultado de un cambio al azar en su estructura secundaria (Random Coil) y <math>\alpha</math>-hélice a una de lámina <math>\beta</math> (19). La agregación va acompañada de una estructura Random Coil reversible, puede ser descrito en términos de un modelo no cooperativo o un modelo cooperativo de cooperatividad moderada. Este equilibrio puede ser modulado por pH y por pequeñas</p>

		alteraciones en la estructura química (20).
Hoja Beta plegada		El mecanismo del plegamiento incorrecto del péptido $\beta A$ hacia estructuras $\beta$ -plegadas ocurre por el plegamiento de los aminoácidos de las posiciones 16-23 y 28-35 para formar esta estructura de lámina beta plegada. Una vez formada, esta estructura tiende a agregarse, y esto por mecanismos que los investigadores denominan nucleación favorece a que las demás formas del péptido $\beta A$ sufran esta modificación y empiecen a formar dímeros, oligómeros y finalmente las fibrillas maduras (21).

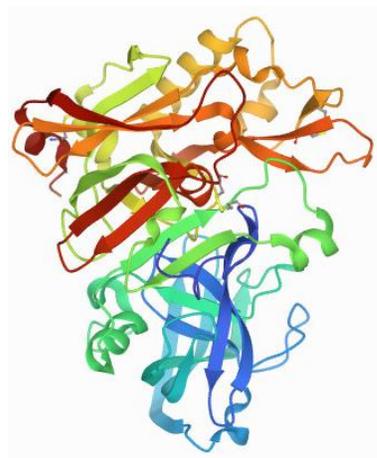
La EA familiar puede surgir de diversas mutaciones dentro de la secuencia de  $\beta A_{1-42}$  (22). Se han identificado más de diez mutaciones de  $\beta A_{1-42}$ , la mayoría de las cuales son enfermedades que causan alteraciones de un solo aminoácido. Sorprendentemente, a partir de esas mutaciones, cuatro variantes aceleradoras de EA se posicionan en un aminoácido específico, E22, que identifica el residuo como particularmente importante en el contexto de la neurotoxicidad de  $\beta A_{1-42}$ . En las fibrillas maduras, el compañero de unión del  $\beta A_{1-42}$  es el D23. Esta interacción diferencia a  $\beta A_{1-40}$  del  $\beta A_{1-42}$  más tóxico, donde el compañero de unión de K28 es el carboxilato C-terminal (23).

## 2.5 Importancia de BACE1 en EA

BACE1 es un enzima ácido aspártico endopeptidasa transmembrana, responsable del procesamiento proteolítico de APP. Las escisiones en el límite N-terminal de la secuencia del péptido  $\beta A_{1-42}$  entre los residuos 671 a 672 de APP que conducen a la generación y liberación extracelular de APP soluble escindida en beta, y una porción C-terminal asociado a la célula correspondiente que luego se libera por

gamma-secretasa, siendo los componentes del sitio activo la denominada díada catalítica D32 y D228 (24).

La actividad de la enzima BACE1 (Figura 3) sobre el dominio extracelular de APP genera al  $\beta A_{1-42}$ . Dada la importancia de BACE1 como objetivo farmacológico para la EA, muchas compañías farmacéuticas gastaron una gran cantidad de recursos en la búsqueda de inhibidores efectivos de BACE1, como Lanabecestat, Verubecestat, Elenbecestat, Atabecestat y Umibecestat (Fig. 6). Sin embargo, lamentablemente todos estos inhibidores de BACE1 fallaron en diferentes etapas de ensayos clínicos de alto perfil (25).



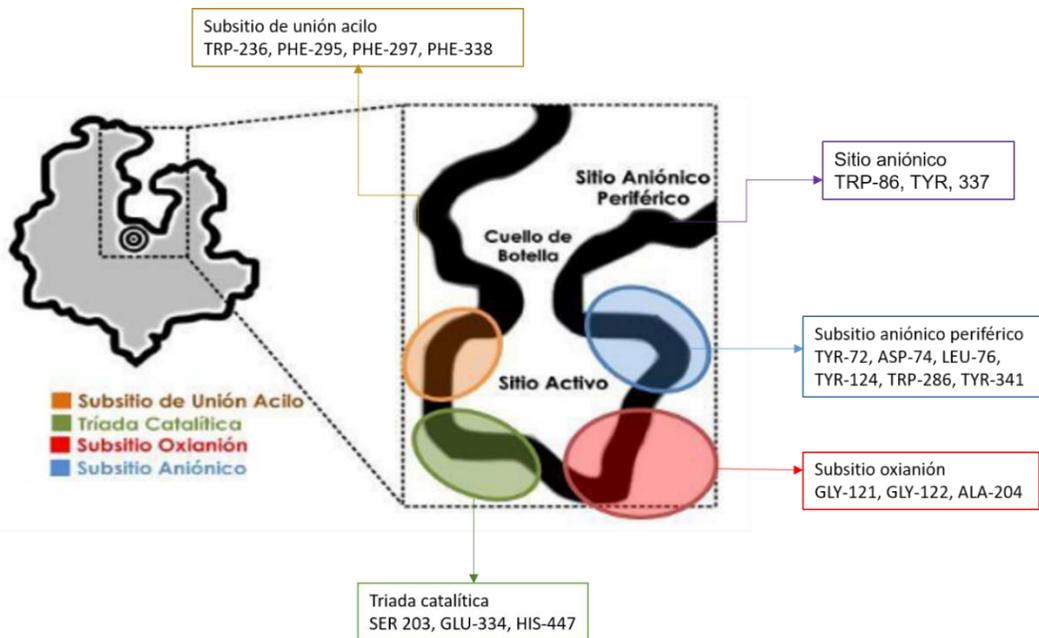
**Figura 3.** Estructura 3D de BACE1 (26).

## **2.6 Papel de la Acetilcolinesterasa (AChE) en EA**

La ACh es de gran importancia ya que es un neurotransmisor relacionado con la memoria, aprendizaje y concentración (observándose una reducción de este neurotransmisor en pacientes con EA), AChE es una enzima hidrolasa de serina, su proceso catalítico incluye acilación y desacilación en el residuo de serina de la triada catalítica localizada en el sitio activo de la enzima. De igual forma, la AChE presenta más lugares adicionales de unión con acetilcolina (ACh) y otros compuestos cuaternarios, también llamados sitios aniónicos periféricos que se localizan en la entrada de la cavidad del sitio activo. El centro activo participa en

uniones con proteínas heterólogas que ocurren durante la sinaptogénesis o en la neurodegeneración (27, 28).

La función de AchE es la hidrólisis rápida de acetilcolina en las sinapsis colinérgicas. El proceso de hidrólisis sucede por ataque nucleófilo al grupo carbonilo, acilación de la enzima y finalmente con la liberación de colina. Después, se hidroliza la enzima acilada dando ácido acético, regenerándose la AChE. Los inhibidores que actúan sobre el sitio activo de la enzima bloquean la unión de una molécula de sustrato o su hidrólisis, mediante el bloqueo del sitio por su alta actividad reaccionando irreversiblemente con la serina próxima al centro catalítico (29).



**Figura 4.** Sitios Activos de AChE (29, 30).

La figura 4 muestra los sitios activos de la enzima, la hidrólisis catalítica del sustrato se lleva a cabo en el sitio esterático, que incluye la tríada S203, E334 e H447. El bolsillo de acilo (W236, F295, F297, F338) y el agujero de oxianión (G121, G122, A204) el cual proporciona especificidad de sustrato. El sitio aniónico se une a la parte del sustrato que contiene nitrógeno cuaternario (W86, Y337). El sitio aniónico periférico asegura la orientación del sustrato hacia el sitio activo y contiene los siguientes residuos de aminoácidos clave: Y72, D74, L76, Y124, W286 y Y341 (31).

## **2.7 Tratamientos farmacológicos para EA**

El desarrollo de fármacos específicos en los últimos diez años para el tratamiento farmacológico de la EA junto con el interés aumentado en el conocimiento y en el manejo de la demencia debido al progresivo envejecimiento de la población, ha ocasionado un cambio en el planteamiento terapéutico de los pacientes con deterioro cognitivo. En las fases leve y moderada de la EA con o sin afectación cerebro vascular, los fármacos anticolinesterásicos están recomendados, dichos fármacos también pueden ser empleados en otros tipos de demencia. Actualmente existen fármacos como la galantamina, rivastigmina, donepezilo que funcionan como inhibidores de la colinesterasa generalmente usados en etapas leves y moderadas de la EA. La rivastigmina en específico evita la descomposición de la colina y de la butirilcolina. Otro de los fármacos empleados es la memantina, la cual funciona como un antagonista del receptor NMDA generalmente utilizado para el tratamiento en fases moderada a severa (32). Los psicofármacos, en específico los antipsicóticos mejoran los trastornos psiquiátricos y de conducta. La utilización de fármacos tanto para el control de los síntomas cognitivos como los no cognitivos son en general útiles, el objetivo fundamental debe ser mejorar la calidad de vida de estos pacientes y la de sus cuidadores (33).

Actualmente no existe un tratamiento conocido para la EA, y las medidas de prevención están siendo activamente discutidas. En la actualidad, las tasas de desarrollo clínico en medicamentos para la EA son bajas y la investigación médica se dirige principalmente a retrasar la progresión, no a curar a los pacientes. Esto relacionado con la fisiopatología aún no completamente conocida y las características subyacentes y la heterogeneidad de la enfermedad (34).

## **2.8 Curcumina inhibe la agregación del $\beta$ A**

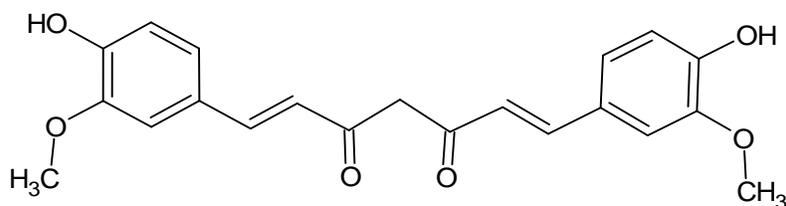
El  $\beta$ A existe de manera normal en el organismo por lo que la presencia de él no es la causa de la neurodegeneración en EA,  $\beta$ A lleva a cabo una serie de cambios conformacionales y de plegamiento erróneo resultando en la formación de

agregados, los cuales se depositan en el cerebro, y estos son los que principalmente causan neurotoxicidad (21).

La acumulación de péptido  $\beta$ A es esencial para desarrollar déficits sinápticos y cognitivos en la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, las funciones fisiológicas de  $\beta$ A, así como los mecanismos primarios que inician las primeras disfunciones sinápticas mediadas por  $\beta$ A, siguen siendo en gran parte desconocidos. El aumento de  $\beta$ A extracelular mediante la inhibición de su degradación mejoró la probabilidad de liberación, impulsando la actividad en curso en la red del hipocampo. Se encontró que la mejora presináptica mediada por  $\beta$ A depende de la historia de la activación sináptica, con menor impacto a tasas de activación más altas. En particular, tanto la elevación como la reducción en los niveles de  $\beta$ A atenuaron la facilitación sináptica a corto plazo durante las ráfagas en las conexiones sinápticas excitatorias (35).

Por lo anterior que un enfoque lógico para la búsqueda de tratamientos farmacológicos para la EA sería el uso de inhibidores de la agregación de  $\beta$ A; y es en este sentido donde se han buscado inhibidores de fuentes variadas que van desde los productos naturales hasta los basados en peptidomiméticos.

La curcumina (Figura 5) se usa ampliamente en las cocinas china e india, pero solo recientemente se ha reconocido como un remedio natural con propiedades farmacológicas comprobadas (36).



**Figura 5.** Estructura de la Curcumina.

La curcumina tiene un importante potencial terapéutico, posee una diversidad de moléculas diana sobre las que puede actuar en diversas patologías. Debido a que

es una molécula altamente pleiotrópica o pluripotente, la curcumina presenta diferente actividad biológica dependiendo del nivel estructural. Actúa directamente y modula la actividad de moléculas diana, o regular indirectamente determinadas funciones (37).

Hay datos sustanciales *in vitro* que indican que la curcumina tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y actividad anti-amiloide. Además, los estudios en modelos animales de la EA indican un efecto directo de la curcumina en la disminución de la patología amiloide. Como el uso generalizado de la curcumina como aditivo alimentario y estudios a corto plazo relativamente pequeños en humanos sugieren seguridad, la curcumina es un agente prometedor en el tratamiento y/o prevención de la EA (38).

Los estudios *in vitro* han demostrado que la curcumina y su análogo, el ácido rosmarínico, tienen propiedades antiamiloidogénicas, inhibiendo de forma dependiente de la dosis la formación y extensión de fibrillas de  $\beta A_{1-42}$  neurotóxicas a partir de  $\beta A$  fresco, y desestabilizando las fibrillas de  $\beta A_{1-42}$  preformadas para regenerar los monómeros de  $\beta A$  (39).

La inhibición de la formación de fibrillas de  $\beta A$  representa una estrategia terapéutica atractiva para el tratamiento de la EA; por lo tanto, dado su efecto principal sobre la fibrilización de  $\beta A$ , la curcumina es un agente prometedor para su uso en el tratamiento y/o prevención de la EA. Aunque el mecanismo antiamiloidogénico preciso de la curcumina no está claro, se ha sugerido que la estructura compacta y simétrica de la curcumina, que tiene dos anillos de 3,4-metoxihidroxifenilo unidos por una cadena corta de carbohidratos, podría ser capaz de unirse específicamente a  $\beta A$  libre, y posteriormente inhibiendo la polimerización de  $\beta A$  en fibrillas de  $\beta A_{1-42}$  (40).

Alternativamente, la curcumina puede unirse específicamente a las fibrillas  $\beta A$  y posteriormente desestabilizar la conformación rica en hojas  $\beta$  de  $\beta A$  en las fibrillas  $\beta A_{1-42}$  (41).

### 2.8.1 Propuesta farmacológica de posibles inhibidores de BACE1

La intervención temprana con un inhibidor de BACE1 podría ser un enfoque terapéutico prometedor para el progreso lento de la EA, particularmente en la etapa preclínica cuando se va dando la acumulación de  $\beta A_{1-42}$ . Varios inhibidores de BACE1 han llegado a ensayos clínicos de fase III, como Verubecestat, Atabecestat, Lanabecestat, LY3202626 y Umibecestat (Figura 6) pero estos fármacos han fallado debido a la falta de eficacia y a que no existe mejora en la función cognitiva en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y EA de leve a moderada. El último inhibidor de BACE1, Elenbecestat, se suspendió en los ensayos de fase III porque mostró una relación riesgo/beneficio desfavorable en la EA temprana (41, 42).

Atabecestat (Figura 6A), un inhibidor oral no selectivo de BACE1 y BACE-2, fue desarrollado por Janssen Research & Development LLC y Shionogi and Co Ltd. Para el tratamiento de la EA. El Atabecestat demostró reducciones medianas significativas del  $\beta A$  desde el inicio del estudio (promediadas durante 24 horas, en estado estacionario) en líquido cefalorraquídeo (LCR)  $\beta A_{1-40}$  empleando dosis de aproximadamente 52 % y 84 % en dosis de 5 mg y 25 mg diarios, respectivamente. El ensayo de registro confirmatorio de fase 2b/3 se llevó a cabo para evaluar la eficacia y la seguridad de Atabecestat para ralentizar el deterioro cognitivo en la EA preclínica (43).

Elenbecestat (Figura 6B) un inhibidor oral de BACE1 que ha demostrado reducir los niveles de  $\beta A$  en el líquido cefalorraquídeo, se investigó en dos estudios globales de fase 3 en la EA temprana (44). La Junta de Supervisión de la Seguridad de los Datos del programa recomendó la terminación anticipada de los estudios en septiembre de 2019, luego de un perfil de riesgo-beneficio desfavorable de Elenbecestat. En el momento de la terminación, aproximadamente 959 sujetos habían alcanzado los 12 meses de tratamiento (500 con placebo, 459 con Elenbecestat). No hubo evidencia de eficacia potencial y el perfil de eventos adversos fue peor que el del placebo. En ese momento, Elenbecestat era el único programa de inhibidores de BACE1 en curso, luego de resultados similares con

estudios de inhibidores de BACE1 con Verubecestat, Lanabecestat, Atabecestat y Umibecestat (45, 46).

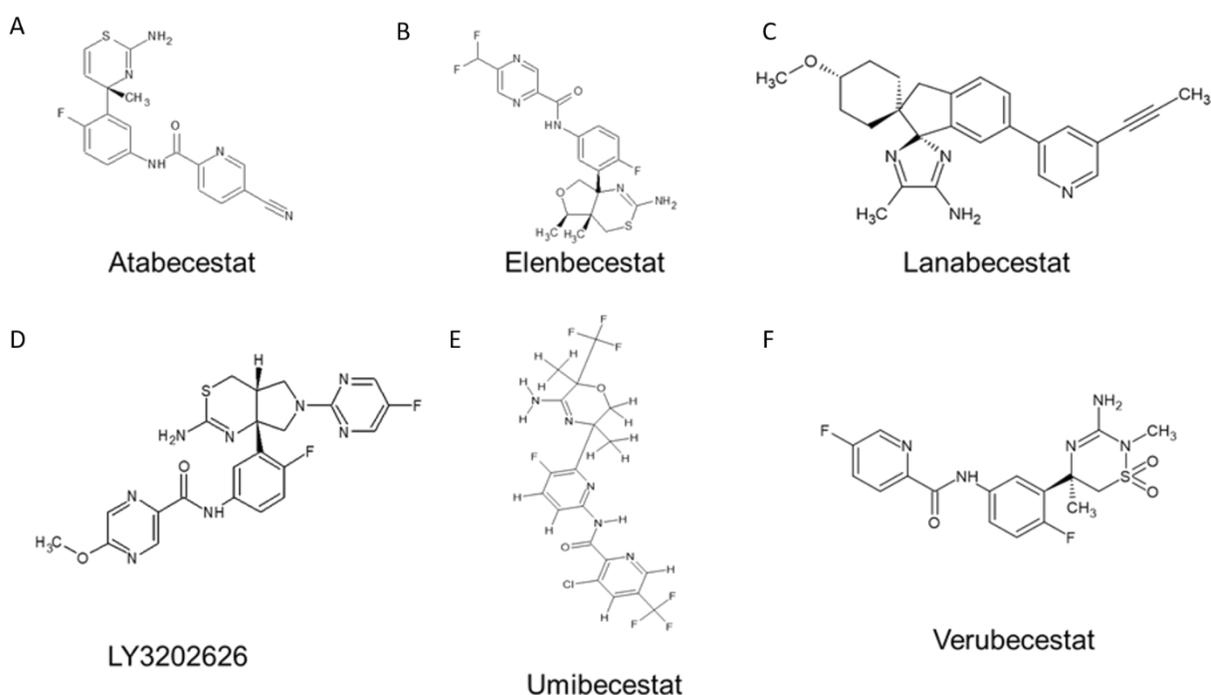
Lanabecestat (Figura 6C) es un inhibidor permeable al cerebro de BACE1 humano (no selectivo para BACE1 frente a BACE-2) que ha demostrado reducir los niveles de  $\beta A_{1-40}$  y  $\beta A_{1-42}$ , en el cerebro, LCR y plasma en varios modelos animales, así como en LCR y plasmas humanos (47, 48, 49).

LY3202626 (Figura 6D) es un inhibidor de BACE1 no selectivo de molécula pequeña. LY3202626 fue bien tolerado por pacientes sanos (n=92) y pacientes con EA (n=2) en todas las dosis. En pacientes sanos, las concentraciones plasmáticas máximas de LY3202626 (C<sub>max</sub>) se observaron aproximadamente 3 horas después de la dosis. La vida media terminal fue de alrededor de 21 horas, y los parámetros farmacocinéticos fueron generalmente proporcional a la dosis. LY3202626 penetró libremente la barrera hematoencefálica, con una C<sub>max</sub> (Concentración máxima) en LCR aproximadamente 6 horas después de la dosis. El estado estacionario del plasma se alcanzó en 8 a 10 días. Después de dosis únicas, LY3202626 produjo reducciones dependientes de la dosis en plasma y LCR  $\beta A_{1-40}$  y  $\beta A_{1-42}$ . En el estado estacionario,  $\beta A_{1-40}$  en LCR se redujo en aproximadamente un 50 %, 75 % y >90 % con dosis diarias de 1, 6 o 26 mg, respectivamente (50).

Umibecestat (Figura 6E), un inhibidor de BACE1 activo por vía oral, reduce la producción del péptido  $\beta A$  que se acumula en el cerebro de los pacientes con EA. La farmacocinética de Umibecestat en humanos fue informada por Neumann et al., 2018. Después de una sola dosis, Umibecestat mostró una tasa de absorción moderada tiempo de concentración máxima (T<sub>máx.</sub>) dentro de 1 a 8 horas después de la dosis) y la eliminación terminal media fue de 61,3 a 83,8 horas en participantes adultos sanos y 81.4–109 horas en participantes  $\geq 60$  años de edad, sugiriendo que Umibecestat era adecuado para la dosificación una vez al día en humanos. La C<sub>max</sub> y el área bajo la curva (AUC) aumentaron aproximadamente en proporción a las dosis siguientes ya sea en dosis únicas o repetidas, con una relación de acumulación de hasta cinco veces más. Tras la dosificación diaria, los niveles plasmáticos de Umibecestat aumentaron en el primer mes de administración en

sujetos  $\geq 60$  años, y luego se mantuvo estable durante 2 meses de dosificación. En sangre, Umibecestat distribuido principalmente a la fracción plasmática (relación de concentración en sangre a concentración en plasma = 0.739), con alto valor proteico (95,9%). Umibecestat mostró una buena penetración a través de la barrera hematoencefálica (51).

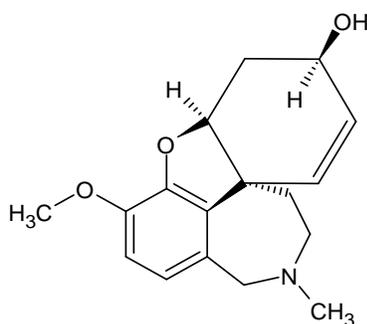
Verubecestat (Figura 6F) fue el primer inhibidor de BACE1 en alcanzar ensayos clínicos de última etapa en pacientes con EA también es un inhibidor de BACE2. En un ensayo clínico de fase 3 (EPOCH), las dosis de Verubecestat de 12 mg y 40 mg fueron ineficaces para disminuir la tasa de deterioro cognitivo o funcional durante 78 semanas en participantes con EA de leve a moderada, a pesar de reducir los niveles de  $\beta$ A en LCR por 63 a 81% (52). Aunque el resultado de EPOCH fue desalentador, la inhibición de BACE1 requiere más estudio; la administración más temprana en el proceso de EA, la alteración de las estrategias de dosificación y el uso en terapias combinadas son posibles aplicaciones futuras de los inhibidores de BACE1. El uso futuro de los inhibidores de BACE1 requiere una comprensión clara del perfil de riesgo/beneficio asociado con un tratamiento experimental (53).



**Figura 6.** Estructuras de los posibles inhibidores de BACE1

## 2.8.2 Inhibidores de AChE para el tratamiento de la EA

La galantamina (Figura 7) actúa como inhibidor reversible, competitivo y selectivo de la enzima AChE produciendo además una modulación alostérica de los receptores nicotínicos, entre los presinápticos como postsinápticos, de ACh incrementando la afinidad de ésta por los receptores, lo cual ha probado que da lugar a una protección de las neuronas frente a la acumulación del péptido  $\beta$ A y la toxicidad del E, hechos específicos de la enfermedad (54). Estos dos efectos, producen un aumento de la neurotransmisión colinérgica en el cerebro. Por ello, ha demostrado ser efectiva en el tratamiento sintomático de EA (55).



**Figura 7.** Estructura de Galantamina.

Como compuestos multidiana se encuentran actualmente fármacos combinados de memantina y donepezilo el cual bloquea la toxicidad del glutamato y previene la degradación de acetilcolina (56).

Las dosis son variables de acuerdo a las características y necesidades de cada individuo a tratar, usualmente la presentación farmacológica se encuentra por vía oral por medio de tabletas, comprimidos o cápsulas de liberación prolongada (57, 58).

## 2.9 Compuestos multitarget empleados en EA

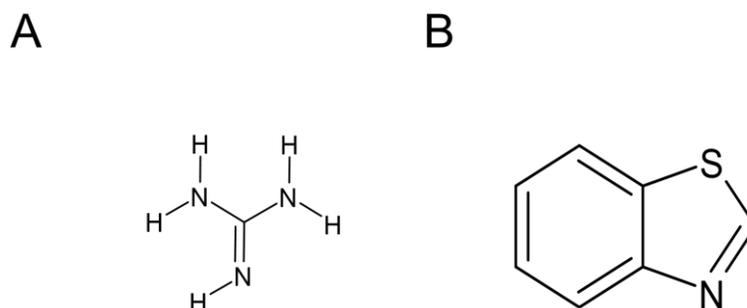
Se denomina DMLs a los fármacos multidiana (Multitarget-directed Ligands), estos son de gran importancia en el horizonte farmacológico ya que permiten generar terapias más eficaces en las que se atacan de manera simultánea a las moléculas y/o residuos que causan la afección. Se conocen dos métodos de búsqueda de DMLs; descritos como el método de screening y el método de diseño racional, tras obtenerse el compuesto generalmente se realizan optimizaciones en las que se busca conseguir el balance sobre la actividad metabólica de las dianas a atacar, además de requerirse una especificidad para evitar interacciones no deseadas en los estudios *in vitro* (59).

La EA ha sido reconocida como una enfermedad multifactorial que deriva de una cascada de eventos que provoca una alteración en los procesos neurocelulares generando la patología. Actualmente existen diversas terapias multidiana, sin embargo, no han mostrado una mejoría notoria en el tratamiento de la enfermedad. Entre estas terapias encontramos la administración simultánea de distintos fármacos con diversos mecanismos de acción, posteriormente se tiene a la terapia con administración de fármacos formulados simultáneamente en la misma forma farmacéutica; también denominados FDCs (Fixed Dose Combination) (60).

Es común que entre las afecciones de los individuos con EA se sufra ansiedad, depresión, paranoia y/o psicosis por lo que se han anexado a las terapias el uso de fármacos antidepresivos como la fluoxetina el cual es un inhibidor selectivo en la captación de la serotonina (ISRS), el uso de antipsicóticos como la risperidona el cual es el único fármaco autorizado en el tratamiento a corto plazo en la demencia por E.A , mientras que el haloperidol solo se usa de manera urgente al presentarse una agitación en adultos mayores y buscar un calmante rápido, los ansiolíticos como el lorazepam, buspirona y oxazepam son tranquilizantes, sin embargo pueden aumentar el estado de confusión y alterar el equilibrio del consumidor; de igual forma fármacos neuroprotectores como el inhibidor de la monoamino oxidasa B (IMAO-B) se emplean en conjunto a otros fármacos para la terapia multitarget (61).

## 2.10 Derivados de guanidinas y benzotiazoles para el tratamiento de la EA

Se han propuesto diversas estructuras derivadas de guanidinas (Figura 8A) como inhibidores de BACE1, recientemente se reportaron 13 estructuras, las cuales interaccionaron en el sitio activo de BACE1 con los residuos de aspartato (4).



**Figura 8.** Estructura de Guanidina y Benzotiazol

El benzotiazol (Figura 8B) tiene especial afinidad hacia las placas amiloides por lo que es capaz de reconocerlas y de unirse a ellas de forma significativa. Se sitúa en una región del beta amiloide, que incluye la región amiloidogénica y el sitio de unión a metales. Ambas regiones juegan un papel crucial en la agregación proteica del péptido  $\beta$ A. (62).

Los derivados del benzotiazol (Figura 8B) han mostrado buena actividad como inhibidores de la acetilcolinesterasa potencialmente útiles en la EA por lo que se sintetizaron una serie de benzimidazoles y benzotiazoles para determinar su actividad como inhibidores de la AChE. En el 2008, se propusieron Benzotiazoles heteroaril con la finalidad de obtener imágenes de los depósitos amiloides en pacientes vivos, sus composiciones, métodos de uso y procesos para hacer tales compuestos. Más específicamente, la presente invención se relaciona con un

método de obtener imágenes de los depósitos amiloides en el cerebro *in vivo* para permitir el diagnóstico *antemortem* de la EA (63).

En el artículo “Síntesis y evaluación de nuevos derivados de benzotiazol basados en la estructura de bitiofeno como radiotrazadores potenciales para placas de  $\beta$ -amiloide en la EA” se desarrollaron seis nuevos derivados de benzotiazol basados en la estructura de bitiofeno como posibles sondas de  $\beta$ A. Los estudios de unión *in vitro* usando agregados de  $\beta$ A mostraron que todos ellos demostraron altas afinidades de unión, los resultados de tinción fluorescente *in vitro* mostraron que estos compuestos pueden teñir intensamente las placas de  $\beta$ A dentro de las secciones del cerebro de ratones transgénicos APP/PS1 (64).

## 2.11 Estudios *in silico* y Docking molecular

Los estudios *in silico* nos permiten obtener simulaciones o modelos experimentales empleando algoritmos de simulación y predicción computacional además de permitirnos acelerar el descubrimiento de nuevos fármacos reduciendo exponencialmente los gastos y tiempo que conlleva el trabajo experimental. Se denomina Docking molecular a la técnica de mecánica cuántica que predice energías, modos y/o tipos de enlace entre las interacciones compuesto y proteína, durante estas interacciones se obtienen valores de interacción denominados  $\Delta G$ , los valores de  $\Delta G$  son puntajes obtenidos durante el análisis del acoplamiento molecular en donde al tener resultados (bajos) indican un sistema estable.

Para el año 2019, fue publicada una investigación de nombre “Diseño basado en estructuras y estudios de acoplamiento molecular para inhibidores de Tau fosforilados en la EA” que relaciona y muestra la importancia de las técnicas Docking en el descubrimiento de nuevos fármacos, así como un nuevo horizonte en el tratamiento de la enfermedad (3).

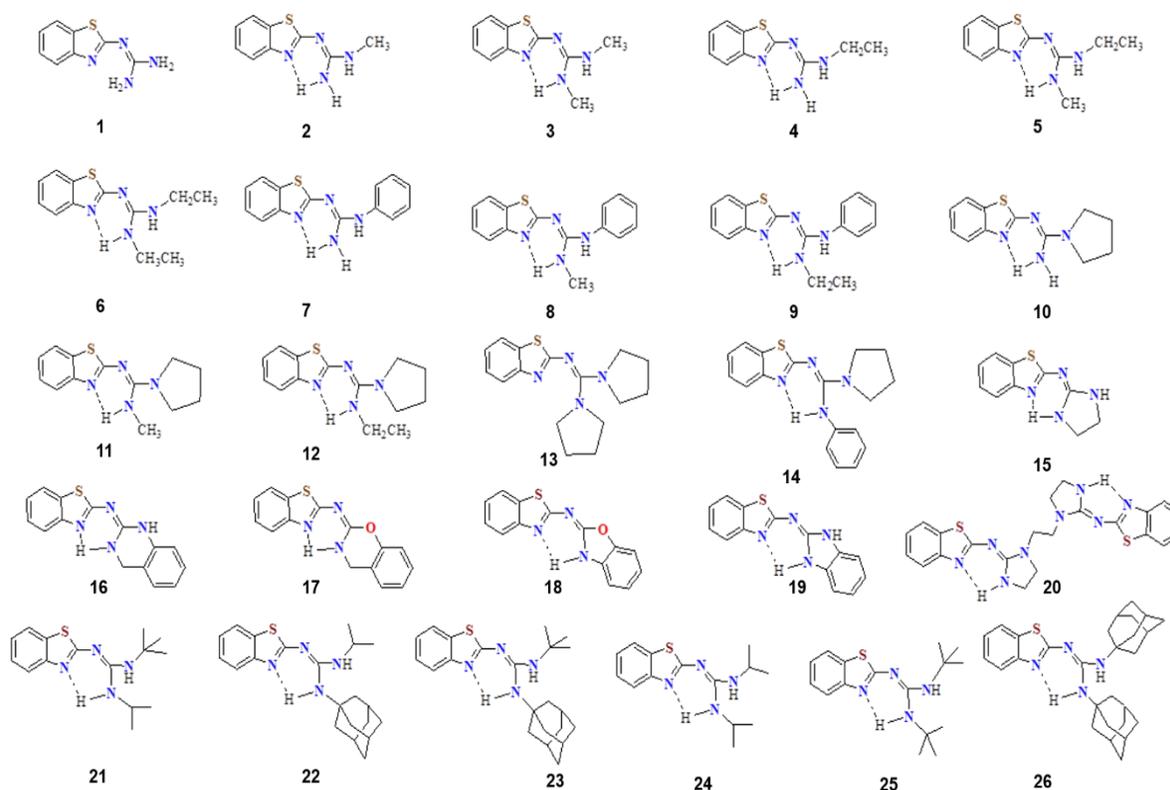
El objetivo del trabajo “Nuevos compuestos a partir de aminas heterocíclicas con actividad inhibitoria multidiana en la agregación de  $\beta$ A, AChE y BACE1 en la EA” fue desarrollar moléculas multidiana para el tratamiento de la EA. Se empleó, una familia de 64 moléculas diseñadas con base en farmacóforos capaces de inhibir la

actividad de la BACE1 y AChE, así como para evitar la oligomerización de  $\beta A_{1-42}$ . La estructura de las moléculas diseñadas consistió en un compuesto aromático trisustituido, uno de los sustituyentes era una amina heterocíclica (piperidina, morfolina, pirrolidina o N-metil pirrolidina) separados del sistema aromático por tres átomos de carbono. Los compuestos se analizaron *in silico* empleando cálculos de acoplamiento molecular. Basado en los valores de  $\Delta G$  y el modo de unión, tres de los mejores candidatos fueron seleccionados, sintetizados y evaluados *in vitro*. A pesar de que los resultados de BACE IC50 demostraron que todos los compuestos son menos potentes con respecto a los péptido-inhibidor mimético (PI-IV IC50 3.20 nM), el compuesto F3S4-m es capaz de inhibir a AChE y BACE (65).

Entre los estudios *in silico* para la inhibición de BACE1, lo cual representa un enfoque para el tratamiento de la EA. El desarrollo de un inhibidor selectivo de BACE1 es difícil debido a su sitio catalítico altamente flexible y homología con otras proteasas aspárticas, incluyendo BACE-2 y Catepsina D (CTSD). Con el objetivo de comprender mejor los factores estructurales responsables para la inhibición selectiva de BACE1, se realizaron estudios de alineación DM (Dinámica Molecular) la cual consiste en realizar estudios moleculares basados en secuencias, en estos se realizan alineamientos múltiples para determinar las correspondencias de homología a nivel de los residuos de aminoácidos, simulaciones de dinámica molecular. La MD es una técnica de simulación computacional que permite a átomos y moléculas interactuar por un lapso, esta técnica permitió una visualización del movimiento de las partículas para realizar estudios de uso con el fin de explorar el reconocimiento de cuatro inhibidores selectivos de BACE1 por aspartil proteasas. Los resultados muestran que la inhibición selectiva de BACE1 puede deberse a la formación de electrostáticos fuertes interacciones con D32 y D228 y una gran cantidad de enlaces de hidrógeno,  $\pi$ - $\pi$  e interacciones de Van der Waals interacciones con los residuos de aminoácidos ubicados dentro de la cavidad catalítica, que tiene un volumen diferente y forma en comparación con BACE2 y CTSD (66).

### 3. Propuesta

Los compuestos derivados de guanidinas y benzotiazoles han mostrado un posible efecto inhibitorio en AChE y BACE1, así como en la agregación del péptido  $\beta$ A, representando una alternativa en la búsqueda de farmacóforos para inhibir estas biomoléculas en la búsqueda del tratamiento de la EA. Por lo tanto, en este trabajo se propone la evaluación in silico de 26 compuestos derivados de guanidinobenzotiazoles (Figura 9) sobre AChE y BACE1, así como en las conformaciones del  $\beta$ A<sub>1-42</sub>. Si consideramos en conjunto las dos moléculas (guanidina y el benzotiazol) podrían funcionar como moléculas multitarget, por lo cual, podrían tener potencial en el tratamiento de la EA.



**Figura 9.** Estructura química de 26 derivados de 2-Guanidinobenzotiazoles a evaluar

## **4. Planteamiento del problema**

La EA es actualmente el tipo de demencia más común de acuerdo al World Alzheimer Report (1), el cuál describe que en el año 2015 existían más de 800,000 personas con EA en México y se prevé que para el año 2050 el país tendrá una población mayor de adultos mayores que de infantes. Cifras de la Encuesta Nacional sobre Salud y Envejecimiento en México (ENASEM) realizadas en el año 2018 describen la elevada incidencia de la EA entre la población, por lo que representa un problema en el sector salud, la mayor problemática de la enfermedad es su duración; ya que al no tener cura es progresiva y eventualmente fatal.

La EA representa un problema para la población de edad adulta en México y el mundo, por lo que es necesario la implementación de nuevos fármacos y el uso de nuevas terapias (entre ellas la multidisciplinaria) para atacar a la enfermedad y generar una menor incidencia, así como evitar muertes relacionadas a esta afección neurodegenerativa.

## **5. Justificación**

Al ser la EA una enfermedad para la cual no existe cura y cuya incidencia irá en aumento debido al envejecimiento de la población. El presente trabajo se enfocará en el estudio de 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, debido a la escasez de tratamientos eficaces contra la EA, permitirá mostrar la utilidad de derivados de guanidinobenzotiazoles, evaluar su posible actividad biológica además de ofrecer una nueva alternativa en el tratamiento de la EA, así como brindar apoyo al sector salud a pacientes con EA, y dar pauta a nuevas investigaciones en un futuro con derivados de guanidinobenzotiazoles con la finalidad de reducir la incidencia de la enfermedad en los próximos años.

## 6. Objetivo general

Realizar el estudio *in silico* de moléculas derivadas de guanidinobenzotiazoles con cada una de las conformaciones del péptido  $\beta$ A, y las enzimas AChE y BACE1, para evaluar su interacción en su sitio de agregación y sitios activos respectivamente comparando a estos con resultados de fármacos/ compuestos usados o propuestos actualmente en el tratamiento de la EA (Curcumina, Galantamina, Atabecestat, Elenbecestat, Lanabecestat Verubecestat LY322626 y Umibecestat).

### Objetivos particulares

- Dibujar y optimizar los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles empleando herramientas computacionales con la finalidad de generar DC y DD.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular compuesto-proteína (Docking) ciego y dirigido de los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles con cada una de las enzimas BACE1, AChE y el péptido  $\beta$ A en sus tres conformaciones Alfa hélice, Hoja beta y Random Coil.
- Analizar y obtener la energía de acoplamiento ( $\Delta G$ ) y las interacciones entre los derivados de guanidinobenzotiazoles con cada una de las enzimas BACE1, AChE y el péptido  $\beta$ A en sus tres conformaciones Alfa hélice, Hoja beta y Random Coil y comparar los resultados con fármacos/ compuestos usados o propuestos actualmente en el tratamiento de la EA y seleccionar los 3 mejores derivados de guanidinobenzotiazoles sobre BACE1, AChE y el péptido  $\beta$ A.

## 7. Hipótesis

Se ha estudiado que derivados de guanidina y benzotiazoles son buenos interaccionando en el sitio activo de la enzima BACE1 y con el  $\beta$ A, respectivamente. Por lo tanto, es posible que los derivados de guanidinobenzotiazoles propuestos tengan actividad multitarget al compartir BACE1, AChE y la agregación de péptido  $\beta$ A, los mismos aminoácidos en el sitio activo, comparando sus interacciones con

las de fármacos/ compuestos actuales en el tratamiento de la EA empleando técnicas *in silico* y de Docking Molecular.

## **8. Metodología**

### **8.1 Selección de proteínas ACHE, BACE1 y $\beta$ A en sus tres conformaciones**

Se emplearon los códigos del Protein Data Bank (PDB) a partir de estudios previos realizados (67). Para AChE (PDB: 4PQE), BACE1 (PDB: 2QP8) y el péptido  $\beta$ A en las conformaciones Alfa hélice (PDB: 1z0q) y Beta plegada (PDB: 2BEG), para la conformación Random Coil se emplearon los resultados previos (68).

Posteriormente, se realiza el proceso de alineamiento entre la secuencia FASTA del cristal PDB: 2QP8 y la secuencia 2QP8 sin H<sub>2</sub>O de BACE1. Se observó un desplazamiento entre los aminoácidos de interés (D289 D93) que corresponderían a la posición D228, D32.

### **8.2. Dibujar y optimizar los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles**

Se empleó el software ACD/ChemSketch (69), para dibujar la estructura de los compuestos en 2D y se guardan en extensión MDL Molfiles (.mol). A estas moléculas se les adicionan los hidrógenos no polares con el software GaussView (70) y se realizan los cálculos en Gaussian calculation setup, trabajando en tipo de optimización, empleando el método semi-empírico en AM1. Se guardó con una extensión (.pdb). Al continuar con el diseño molecular tridimensional, se empleó el software Avogadro (71) y se trabajaron con las estructuras previas con extensión (.pdb), se realizó una auto-optimización, a 4 pasos por actualización con una dE=0 y un número límite=0, se guardó el archivo con la extensión (.pdb)

### **8.3 Preparación de ACHE, BACE1 y $\beta$ A**

Se empleó el software Auto Dock (72) y se comenzó a trabajar con los archivos previos en formato (.pdb), se anexaron cargas de Kollman y se agregaron los hidrógenos polares, se guardó en formato (.pdbqt). Dentro de la sesión previa

abierta de Autodock, se abrió el compuesto en formato (.pdb), se seleccionó la opción de salida y se guardó en formato (.pdbqt)

#### **8.4 Acoplamiento molecular entre ACHE, BACE1 y $\beta$ A y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles**

Para realizar el acoplamiento se trabajaron con los formatos .pdbqt de la proteína y el compuesto. Se establecieron los tipos de mapas en elección al compuesto, en el DC se procedió a realizar una Grid Box a 126X126X126 Å

En el DD se usó una Grid Box de 60x60x60 Å con las siguientes coordenadas: Alfa: X (2.282), Y (5.061), Z (-6.757); Beta: X (2.937), Y (4.619), Z (-1.241); R.C: X (9.387), Y (-4.642), Z (-1.241); BACE1: X (23.9), Y (6.041), Z (25.515); ACHE: X (-25.93), Y (30.821), Z (-6.062). Para los DC y DD se anexaron los parámetros DAT, y se obtuvieron las biomoléculas con extensión .gpf. Se realizaron modificaciones en los parámetros de búsqueda en el algoritmo genético se manejó un número de 100, una población de tamaño: 100 a un número máximo de evaluaciones a 10, 000, 000 a 100 como número de generaciones, cuando ha finalizado se obtuvo la extensión (.dpf)

#### **8.5 Análisis del acoplamiento molecular entre AChE, BACE1 y $\beta$ A con los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles**

Se empleó el software Autodock (73), al analizar las conformaciones se seleccionó la de menor valor de  $\Delta G$ . Se empleó PyMOL (74) para visualizar y analizar las interacciones se trabajó con el formato previo (.pdb) del compuesto y proteína. Se visualizaron a los residuos que estuvieran a una distancia menor de 5 Å, siendo los aminoácidos de interés: para las conformaciones Alfa, Random Coil y Beta del  $\beta$ A<sub>1-42</sub> el E22 y D93, para AChE Y337, H447, S203 de la triada catalítica y todos aquellos involucrados en el reconocimiento del compuesto y para BACE1: D289 y D93.

## **8.6 Visualización de las interacciones entre AChE, BACE1 y $\beta$ A y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles**

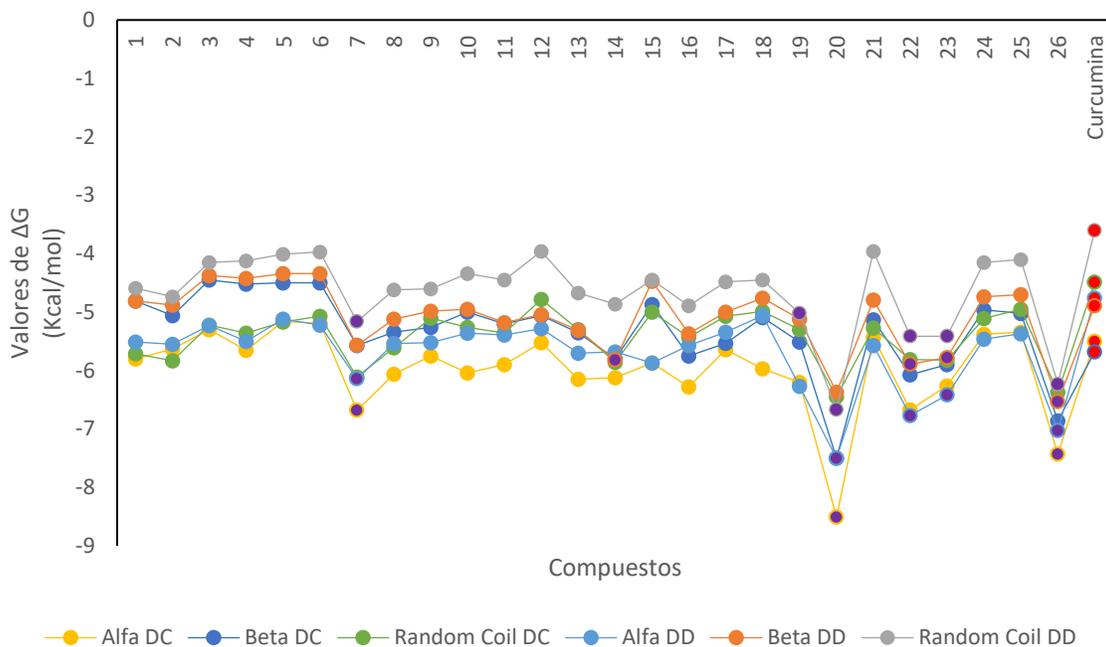
Se empleó el software BIOVIA Discovery Studio Visualizer (75), en donde se abrió el complejo proteína-compuesto .pdb. Se seleccionó la opción Receptor-Ligand, y en la barra izquierda se selecciona ligand interactions, dentro de esta opción de seleccionó expand y show distances, para poder visualizarlas fue necesario oprimir en mostrar diagrama en 2D, el cual se guardó en formato .png para mantener el registro de las interacciones obtenidas.

## **9. Resultados**

Se llevó a cabo el estudio de acoplamiento molecular compuesto-proteína con las proteínas de interés. Estos acoplamientos moleculares se realizaron sin dirigir al compuesto a un aminoácido del sitio catalítico, es decir se llevó a cabo un Docking ciego (DC) y posteriormente se llevó a cabo el acoplamiento molecular dirigido llevando al compuesto a un aminoácido del sitio catalítico, conocido como Docking dirigido (DD).

### **9.1 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas del DC y DD entre el $\beta A_{1-42}$ y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles**

En la Figura 10 se muestran los valores de  $\Delta G$  obtenidos del DC y DD en las tres conformaciones del  $\beta A_{1-42}$  con los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, los cuales se compararon con el valor obtenido de  $\Delta G$  de la curcumina.



**Figura 10.** Valores de  $\Delta G$  del  $\beta A_{1-42}$  en sus tres conformaciones con los 26 compuestos derivados de guanidinobenzotiazoles en DC y DD.

Como se observa en la figura 8 en el DC el  $\Delta G$  de los compuestos fue mejor en la conformación de  $\alpha$ -hélice del  $\beta A_{1-42}$  en comparación con la conformación de hoja beta y Random Coil e incluso varios de los compuestos propuestos mostraron mejor  $\Delta G$  que curcumina. Como se muestra en las tablas 2 y 3, fueron de notable interés los compuestos 7, 14, 20, 22 y 26 durante el DC, en donde se observa que estos compuestos tuvieron mejor  $\Delta G$  que curcumina y este fue mejor en la conformación de  $\alpha$ -hélice. Por lo tanto, se obtuvieron los residuos de aminoácidos de interacción entre el  $\beta A_{1-42}$  y estos compuestos en donde se buscó la interacción con los aminoácidos E22 y D23.

Tabla 2. Valores de  $\Delta G$  de los mejores compuestos y curcumina durante el DC y DD en la conformación  $\alpha$ -hélice del  $\beta A_{1-42}$ .

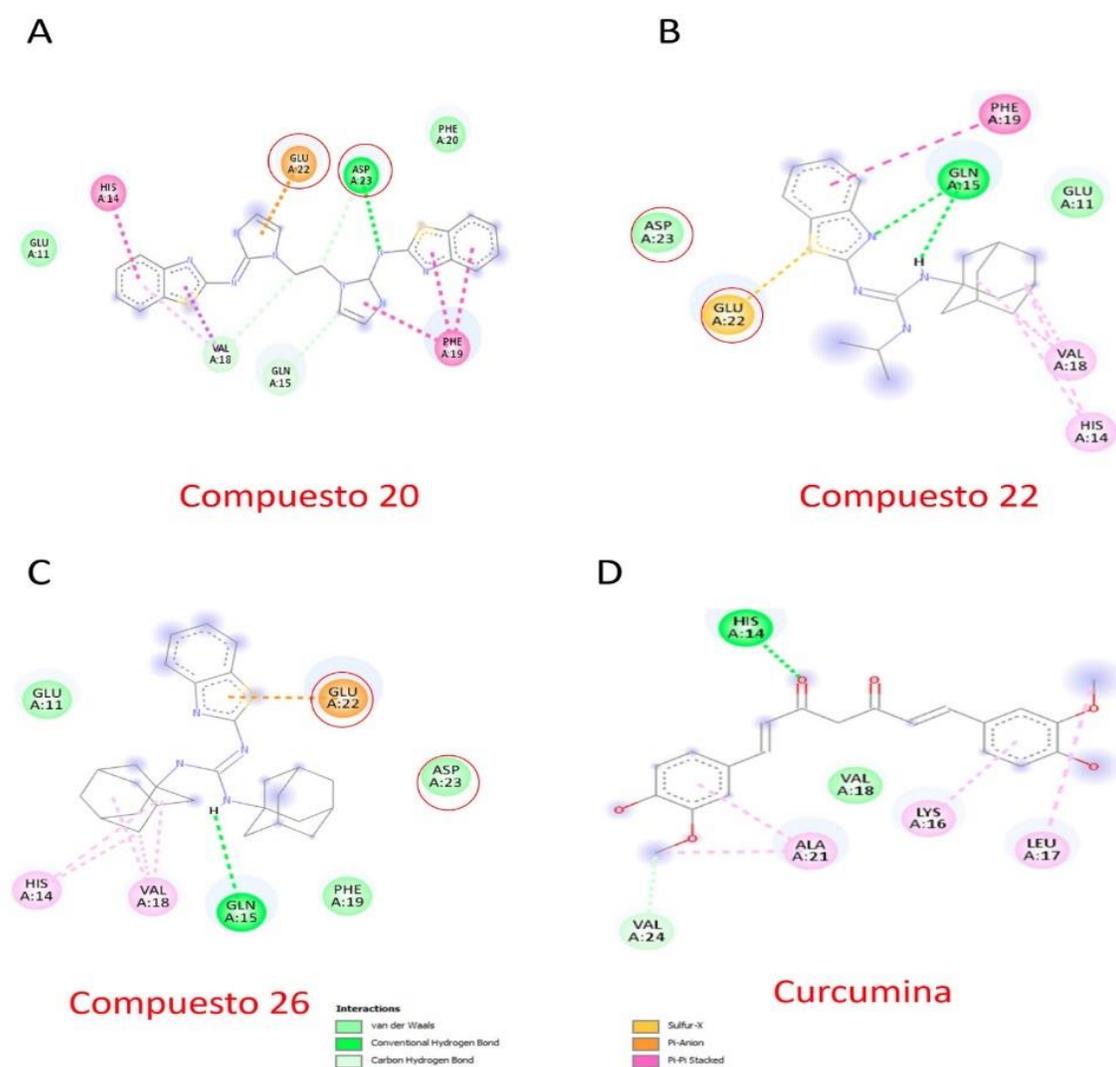
Molécula	$\Delta G$ (kcal/mol)	<b>Docking ciego (residuos de aminoácidos)</b>
Curcumina	-5.50	F19, K16, L17, Q15, V18, H14, H13, V12, E11, Y10, D7
7	-6.68	D7, Y10, E11, H14, Q15, V18, F19, <b>E22</b>
14	-6.12	<b>E22</b> , V18, F19, Q15, K16, H14, H13, V12, E11, Y10, V12, F14
20	-8.51	H14, V12, E11, Y10, D7, F4, E3, F4, A2, H6
22	-6.67	F19, V18, Q15, H14, V12, E11, Y10, D7, E3
26	-7.43	H13, Y10, E11, D7, H6, Q15, H14, V18
<b>Docking Dirigido (residuos de aminoácidos)</b>		
Curcumina	-4.76	H13, H14, K16, L17, V18, A21, <b>E22</b> , V24, G25, SER26
19	-6.27	Y10, V12, H14, Q15, E11, F19, V18, <b>E22</b> , <b>D23</b> , N27
20	-7.5	N27, <b>D23</b> , <b>E22</b> , F19, F20 V18, Q15, H14, E11, V12
22	-6.77	N27, <b>D23</b> , F19, <b>E22</b> , V18, Q15, V12, H14, E11, D7, F20
23	-6.42	N27, <b>D23</b> , <b>E22</b> , F20, F19, Q15, H14, V12, E11
26	-7.03	N27, <b>D23</b> , F20, <b>E22</b> , F19, V18, Q15, H14, E11

\*Se remarcan en color rojo a los aminoácidos de interés

La tabla 2 muestra que el compuesto 7 obtuvo un valor de -6.68 (kcal/mol) al igual que el compuesto 14 con un valor de -6.12 (kcal/mol) muestran una interacción con E22, los compuestos 20, 22 y 26 no lograron interactuar con ningún aminoácido de interés a pesar de tener mejores valores de  $\Delta G$  en comparación con el control (curcumina), quien en DC tampoco hace interacción con los aminoácidos de interés.

En la tabla 2 se observa que durante el DD en la conformación  $\alpha$ -hélice curcumina sólo presenta interacción con E22. Se observa que los compuestos 19, 20, 22, 23 y 26 hacen interacción con D23 y E22, con mejores valores de  $\Delta G$  en relación con curcumina. Al observarse mejores resultados para estos compuestos que para curcumina en etapas previas al cambio de conformación del  $\beta A_{1-42}$  a hoja beta plegada, se deduce que posiblemente estos compuestos puedan evitar el cambio de conformación del  $\beta A_{1-42}$  y con ello su agregación.

En la figura 11 se observan las interacciones para los compuestos con mejores valores de  $\Delta G$  durante el DD, compuesto 20 (A), compuesto 22 (B) y Compuesto 26 (C) los cuales hacen interacción con ambos aminoácidos E22 y D23, sin embargo, el control no logró estas interacciones en ninguno de los dockings realizados. En la figura 9A y 9C los compuestos 20 y 26, generan interacciones  $\pi$ -anión, con E22, mientras que el 20 genera puentes de hidrógeno con D23. En la figura 9B E22 genera interacción con el átomo de azufre.

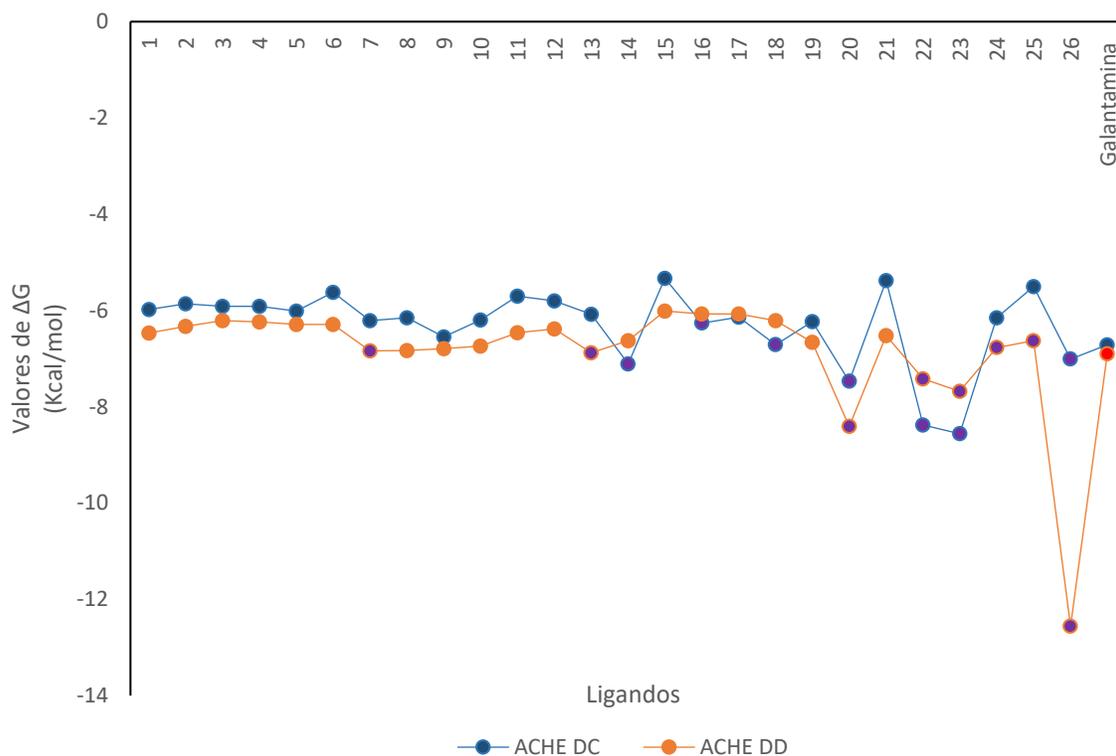


**Figura 11.** Interacciones obtenidas en Discovery Studio Visualizer durante el DD con  $\beta A_{1.42}$  en conformación  $\alpha$ -hélice

A) Compuesto 20, B) Compuesto 22, C) Compuesto 26 y D) Curcumina

## 9.2 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas durante DC y DD entre AChE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles

En la figura 12 se muestran los valores de  $\Delta G$  obtenidos durante el DC y DD con la enzima AChE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, cabe mencionar que los compuestos mostraron buena afinidad por la AChE, por lo tanto, se seleccionaron 7 de los mejores compuestos durante el DC y DD. En donde es posible observar que en el DC los compuestos con mejores resultados son 20, 22 y 23



**Figura 12.** Valores de  $\Delta G$  de los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles con la enzima AChE en DC y DD.

En la tabla 3 se observa que los compuestos 20, 22, 23 y 26 durante el DC, hacen interacción en el sitio activo de la AChE. Se remarcaron en azul a los aminoácidos pertenecientes al sitio aniónico periférico: W86, Y337, al subsitio aniónico los cuales son: W28, Y72, D74, y Y124, en amarillo los componentes del subsitio de unión acilo: Y236, F338, F295 y F297, por otro lado, no se encontraron interacciones con el subsitio oxianión ni con el subsitio catalítico. Sin embargo, las interacciones encontradas son relevantes porque los compuestos hacen interacción en los sitios aniónicos periféricos, estos se localizan en la entrada del sitio activo lo que demuestra que los compuestos 20, 22, 23 y 26 logran entrar en el sitio previo al catalítico. Son de interés las moléculas 20 y 26 por sus resultados previos durante el DC y DD con el  $\beta A_{1-42}$  evidenciando posibles propiedades duales hasta el momento.

Tabla 3. Resultados de  $\Delta G$  de los mejores compuestos y galantamina durante el DC y DD con AChE.

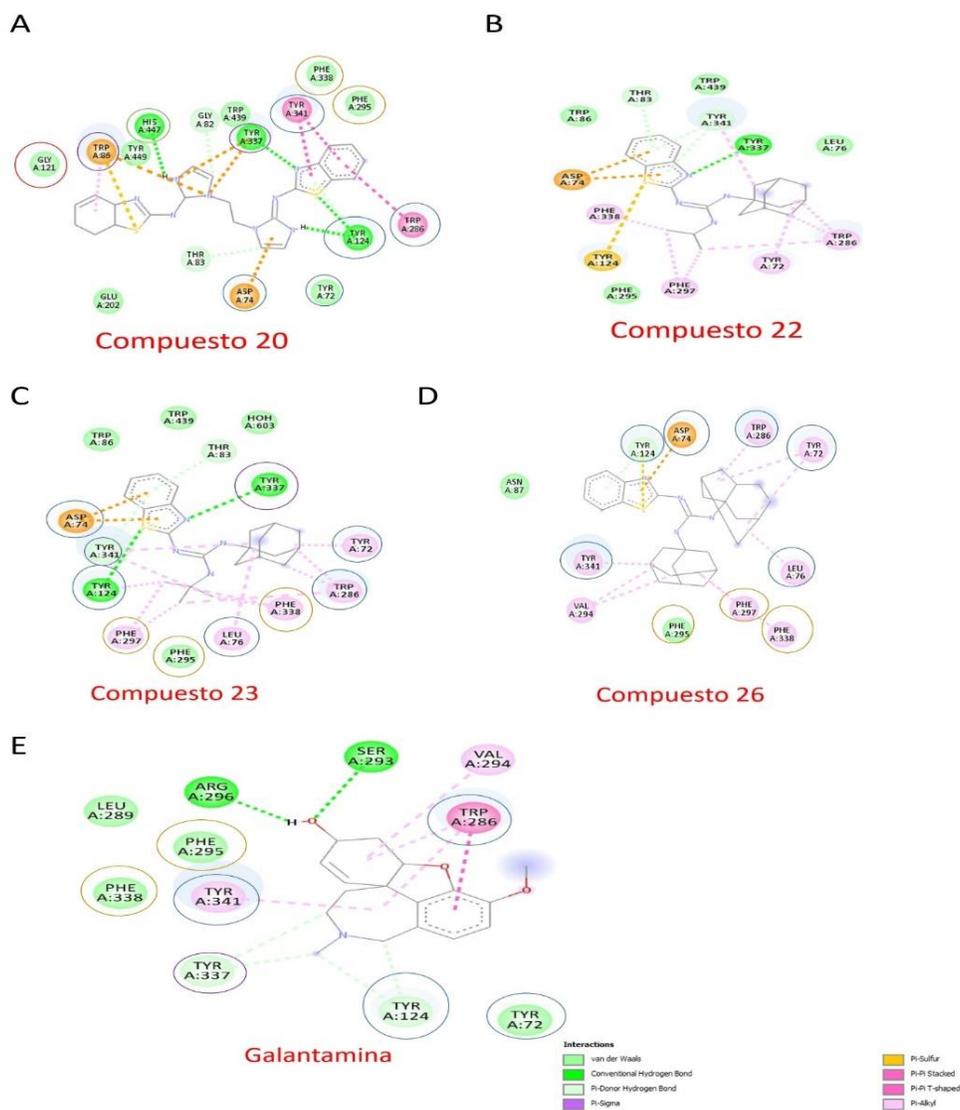
Molécula	$\Delta G$ Kcal/mol	<b>Docking ciego</b> (residuos de aminoácidos)
Galantamina	-6.71	S293, V294, F295, R296, D74, F338, Y341
20	-7.47	L289, W286, F297, Y124, Y72, R296, S293, F295, V294, G342, Y341, F338, Y337, L76, D74
22	-8.38	S293, R296, V294, F295, F297, W286, Y124, S125, Y72, Q71, G126, V73, W86, N87, P88, D74, L76, T83, F338, Y341, Y337
23	-8.55	Y337, F338, Y341, V294, F295, S293, R296, F297, W286, Y124, S125, Y72, Q71, V72, N87, D74, W86, L76, T83
26	-7.01	Y337, F338, F295, V294, V340, Y341, G342, L76, S293, R296, F297, Y124, L289, W286, H287
<b>Docking Dirigido (residuos de aminoácidos)</b>		
Galantamina	-6.9	Y341, S293, V294, F295, R296, F297
20	-8.41	G82, T83, W439, D74, Y72, P446, Y337, Y341, F338, V294, F295, F297, H447, Y124, S203, G121, G120, E202, S203, S125, G448, G126, I451, Y449, Y133, W286
22	-7.42	Y337, F338, Y341, V294, F295, R296, W286, F297, Y124, Y72, D74, W86, N87, E84, T83, L76, G82
23	-7.68	F338, Y341, Y337, L76, V294, F295, R296, W286, F297, Y124, Y72, N87, W86, D74, E84, T83, G82
26	-12.56	S293, V294, R296, F295, F297, W286, Y341, F338, Y337, Y124, S125, G126, W86, N87, T83, Q71, Y72, D74, V73, L76

\*Se une al sitio aniónico periférico/ \*Se une al subsitio aniónico periférico/ \*Se une al subsitio de unión acilo/ \*Se une al subsitio oxianión/ \*Se une a la triada catalítica.

\*La grid box empleada para este Docking dirigido fue de 126 Å<sup>3</sup>

En la tabla 3 es posible observar los resultados de  $\Delta G$  y aminoácidos de interacción obtenidos durante el DD, entre AChE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, en donde se marcan en azul los aminoácidos del sitio aniónico periférico y en dorado a aquellos que se unen al subsitio de unión acilo en donde previamente se obtuvo una buena actividad durante el DC. El compuesto 20 tiene un mejor  $\Delta G$  que galantamina ya que logra llegar al subsitio oxianión y de manera más relevante a dos componentes de la triada catalítica (S203, H447)

En el compuesto 20 (figura 13A) las uniones al subsitio aniónico periférico son del tipo  $\pi$ - $\pi$  y  $\pi$ -sulfuro durante el DD, repitiéndose el comportamiento en el compuesto 20 durante el DD así como la presencia de puentes de hidrógeno. En el compuesto 22 (figura 13B) prevalecen las interacciones  $\pi$ - $\pi$  y la formación de puentes de hidrogeno durante el DD. En el compuesto 23 (figura 13C) se observan interacciones por puentes de hidrogeno y uniones  $\pi$ - $\pi$ . Mientras que el compuesto 26 (figura 13D) forma interacciones  $\pi$ - $\pi$  y  $\pi$ -sulfuro, así como puentes de hidrogeno. Observándose mejores resultados en los compuestos en comparación con el control galantamina (figura 13E).



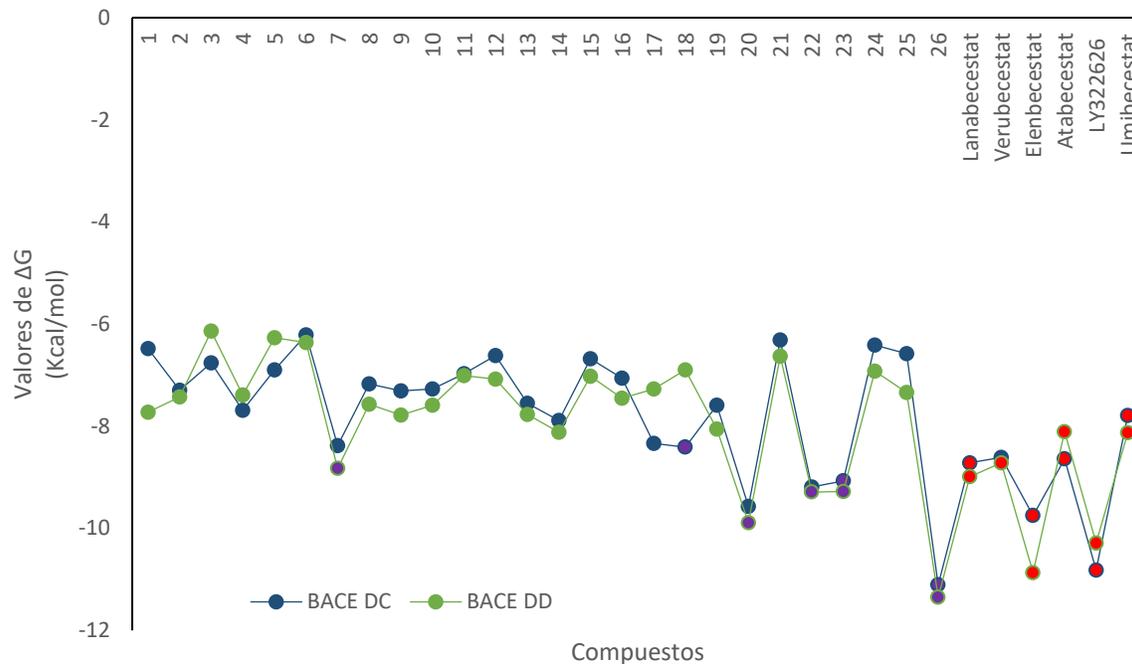
**Figura 13.** Interacciones de ACHE durante el DD.

a) Compuesto 20 b) Compuesto 22 c) Compuesto 23 d) Compuesto 26 e) Control Galantamina. Se marcaron en círculos las interacciones de acuerdo al sitio de unión \*Se une al sitio aniónico periférico/ \*Se une al subsitio aniónico periférico/ \*Se une al subsitio de unión acilo/ \*Se une al subsitio oxanión/ \*Se une a la triada catalítica

### 9.3 Valores de $\Delta G$ e interacciones obtenidas durante DC y DD entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles

La figura 14 muestra los valores de  $\Delta G$  de cada uno de los compuestos con la enzima BACE1 obtenidos mediante DC y DD, en donde, es posible observar que en DC los compuestos con mejores resultados son el 20, 22, 23 y 26 marcados en

morado. Sin embargo, estos valores no son mejores que los obtenidos con los controles LY3202626 y Elenbecestat. Solamente el compuesto 26 logro superar el  $\Delta G$  en relación con los controles.



**Figura 14.** Valores de  $\Delta G$  de los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles con la enzima BACE1 en DC y DD

Se observan mejores valores de  $\Delta G$  en los compuestos 20, 22 y 26, sin embargo, estos no superaron los valores de  $\Delta G$  de algunos de los controles (Marcados en rojo), sólo el compuesto 26.

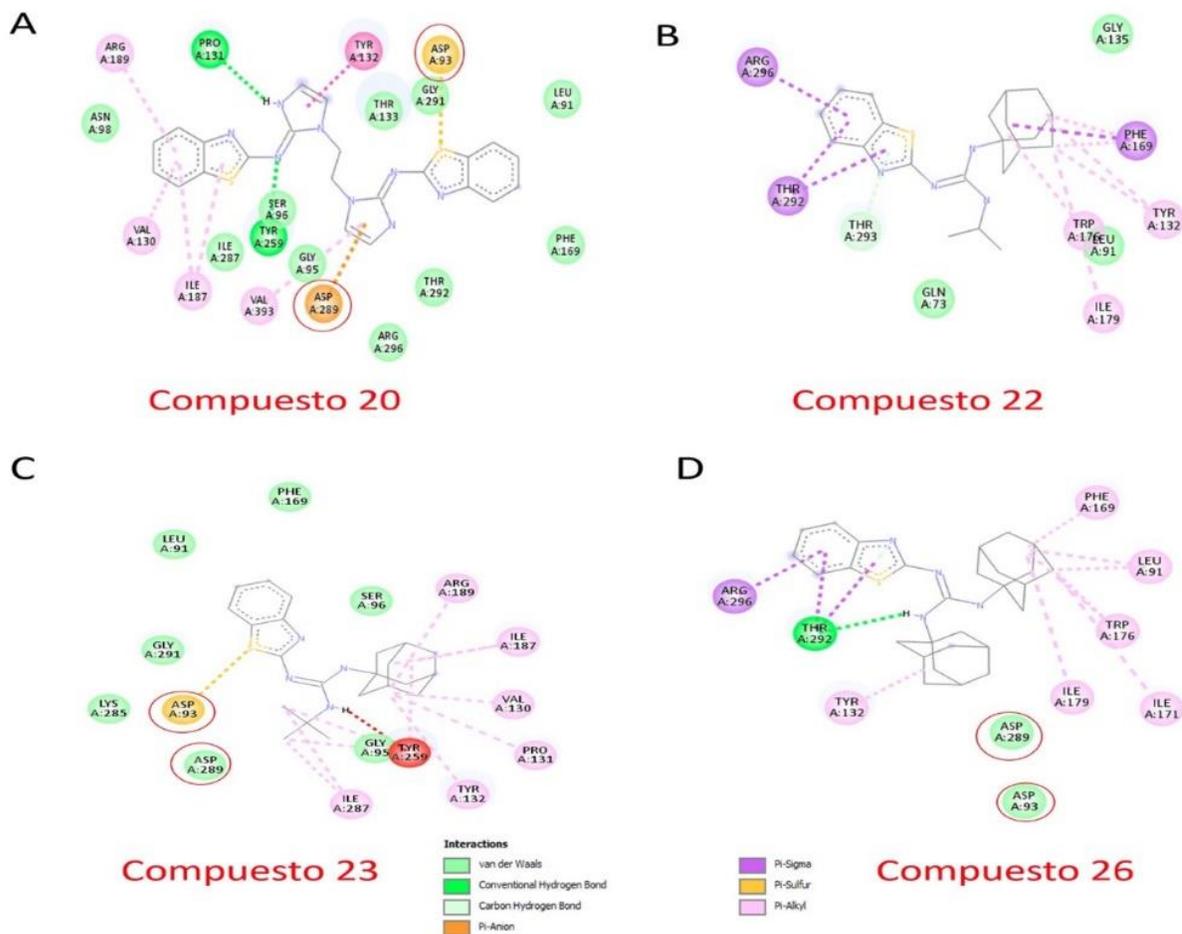
Tabla 4. Valores de  $\Delta G$  de los mejores compuestos durante el DC y DD con BACE1

Molécula	$\Delta G$ Kcal/mol	Docking ciego (residuos de aminoácidos)
20	-9.57	Y259, S97, N98, I187, R189, G95, <b>D93</b> , <b>D289</b> , L91, G291, T292, T293, R296, V130, P131, Y132, T133, F169, G135, Q134, K168, I171, F170, W176
22	-9.19	<b>D93</b> , S290, G291, T292, R296, G74, T293, N294, S71, Y75, Q73, S386, G72, I171, K168, Q134, F169, G135, W176, L91
23	-9.07	I187, R189, S97, Y259, S96, G95, I179, I287, <b>D93</b> , L91, <b>D289</b> , G291, V130, P131, Y132, T133, Q134
26	-11.11	D192, S193, K126, L194, E195, L124, L141, N159, T142, A158, R157, S200, K203, Q204
Docking Dirigido		
20	-9.89	K285, T390, I287, V393, R296, Y259, I187, A188, R189, S97, S96, G95, <b>D289</b> , N98, V130, P131, Y132, <b>D93</b> , T133, G291, T292, Q134, G135, L91, I179
22	-9.29	Y132, <b>D93</b> , S290, G291, Q134, T292, Q134, ASN296, S386, N294, T293, S71 GLY72, Y75, G74, Q73, G135, I179, L91, F169, K168, W176, I171
23	-9.28	K285, T390, I287, R296, Y259, I187, A188, R189, S97, S96, G95, <b>D289</b> , T133, G291, T292, Q134, G135, L91, I179, F169, N98, V130
26	-11.35	S96, G95, I287, <b>D289</b> , Y132, G291, T292, T133, T293, N294, R296, S386, Q134, G135, F169, I171, K168, W176, I179, L92, <b>D93</b>

\*Se remarcan en color rojo a los aminoácidos de interés

En la tabla 4 se muestran interacciones relevantes mediante DC de los compuestos 20, 22 y 23 con BACE1, de los cuales sólo las moléculas 20 y 23 logran interactuar con los aminoácidos de la diada catalítica de BACE 1 (D289 y D93).

En la tabla 4 se muestran interacciones obtenidas del DD entre BACE1 y los compuestos 20, 22, 23 y 26 de los cuales todos logran interactuar con al menos un aminoácido de interés, superando a Elenbecestat, Lanabecestat y LY32026 los cuales no interactúan con ninguno de ellos (Tabla 5). Además de que el compuesto 26 supera los valores de  $\Delta G$  de todos los controles durante el DD.



**Figura 15.** Interacciones obtenidas en Discovery Studio Visualizer durante el DD en BACE1

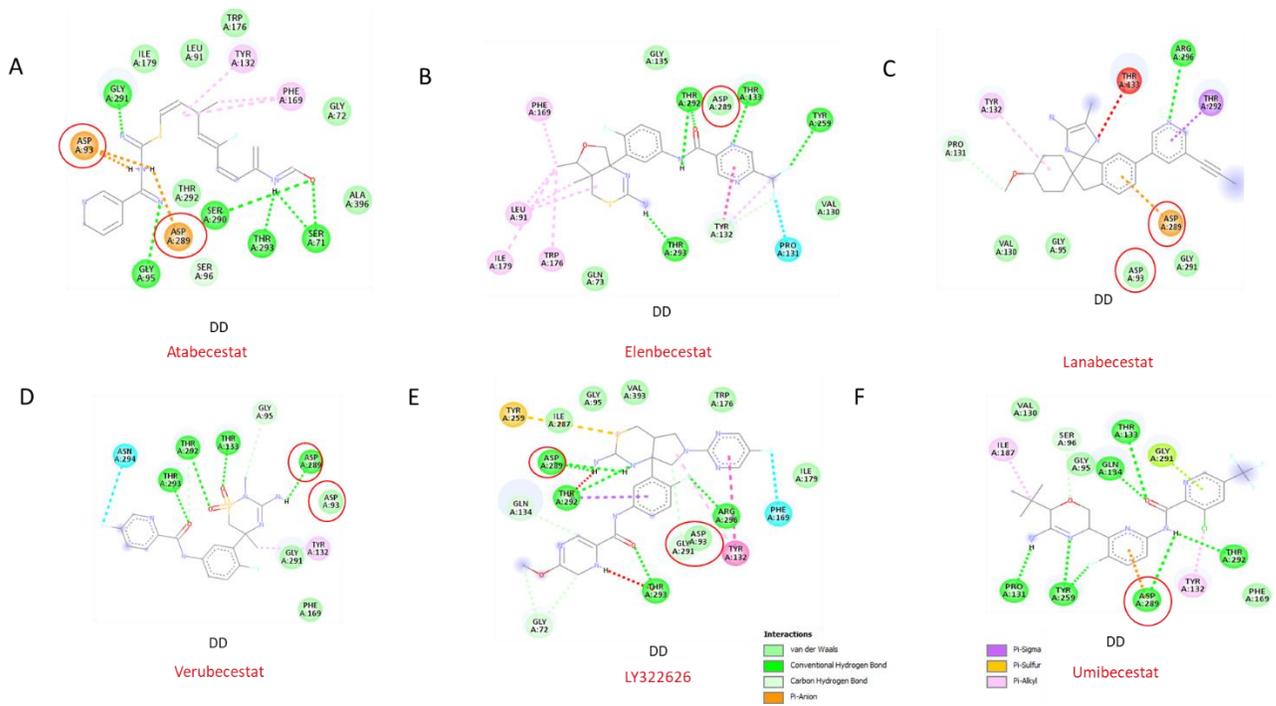
A) Compuesto 20, B) Compuesto 22, C) Compuesto 23 d) Compuesto 26

En la figura 15 se colocaron a los 3 mejores compuestos, tanto el compuesto 20 (Figura 15A), el compuesto 23 (Figura 15B) y el compuesto 26 (Figura 15D) lograron interacciones con D93 y D289 durante el DC, las cuales se mantienen constantes durante el DD lo que indica una buena actividad de nuestros compuestos. Finalmente, en el compuesto 26 durante el DC, se visualizan interacciones del tipo van der Waals.

Tabla 5. Valores de  $\Delta G$  del DC y DD entre los controles y BACE1.

BACE	Delta G Kcal/mol	Docking ciego (residuos de aminoácidos)
Atabecestat	-8.64	V130, P131, R189, A188, I187, G95, S96, S97, T133, N98, Y132, Q134, F169, F170, G291, T292
Elenbecestat	-9.75	P253, E441, D442, M440 D439, M349, T353 E351, G350, V352, N354, L438, Q355, T437, D439
Lanabecestat	-8.72	V130, P131, Q134, Y132, T133, S96, T292, G95
Ly3202626	-10.82	D372, CYS380, E371, T375, P369, D379, Q377, P221, F220, G219, H423, D424
Umibecestat	-7.79	D289, D93, K285, G95, G29, L91, T292, T293, Y259, S96, S97, I187, N98, A188, R189, V130, P131, Y132, T133, Q134, F170, F169, G135, K168, I171, W176
Verubecestat	-8.61	T133, Y132, Q134, S96, G95, T292, G291, D93, K168, F169, F170, I171
<b>Docking dirigido (residuos de aminoácidos)</b>		
Atabecestat	-8.11	F169, G135, Y132, Q134, T133, S96, I179, I171, W176, L91, D93, V92, Q73, G74, Y75, Y259, T390, K285, I287, T292, S290, D289, T293, A396, G72, S71
Elenbecestat	-10.87	F169, G135, I179, Q134, L91, T292, G291, S290, T293, D289, R296, V393, I187, G95, S96, T133, Y132, P131, T293
Lanabecestat	-8.99	V130, P131, S96, G95, Y132, T133, T292, T293
Ly3202626	-10.29	G95, V393, G291, T292, T293, G72, F169, Q134, T133, Y132
Umibecestat	-8.13	V130, P131, R189, A188, N98, I187, S97, S96, Y132, T133, I179, Q134, G135, F169, PHF170, K168, I171, W176, L91, Y259, G95, D93, L91, G291, T292, Q73, D289, I287, T293,
Verubecestat	-8.72	S96, G95, D93, D289, G291, T292, T293, N294, G72, Q134, T133, Y132

\*Se remarcan en color rojo a los aminoácidos de interés



**Figura 16.** Interacciones de los controles en DD en la proteína BACE1.

A) Atabecestat, B) Elenbecestat, C) Lanabecestat 23, D) Verubecestat E) LY322626, F) Umibecestat

La figura 16 muestra que el control Atabecestat (16A) durante DC y DD logró interactuar con D93 y D289 por medio de interacciones  $\pi$ -Anión, Elenbecestat (16B), durante ambos Dockings sólo interacciona con el aminoácido D289 por fuerzas de Van Der Waals, mientras que Lanabecestat (16C) no presenta ninguna interacción de interés en el DC, pero logró ambas en el DD empleando enlaces  $\pi$ -anión con D289 y fuerzas del tipo Van Der Waals con D93. Por su parte Verubecestat (16D) por medio de fuerzas de Van Der Waals interacciona con D93 y puentes de hidrógeno con D289 repitiéndose el mismo comportamiento con LY3202626 (16E). Por su parte Umibecestat (16F) logró ambas interacciones en ambos Dockings por lo que este sería el mejor control para la proteína BACE1 además de obtener los valores más óptimos de  $\Delta G$  durante el DD. De acuerdo a estudios previos es posible concluir que las propiedades biológicas de los compuestos con benzotiazoles, junto con su capacidad para penetrar en el SNC y

aliviar la amnesia inducida por escopolamina en modelos de roedores con EA de manera similar a la tacrina, resaltan esta nueva clase de compuestos y confirman que el enfoque ("dos mejor que uno") para diseñar nuevos compuestos de acción múltiple es una buena estrategia para enfrentar la EA (76).

## 10. Discusión

La EA es multifactorial por lo cual es de relevancia obtener fármacos multitarget con la finalidad de obtener resultados potenciales en el tratamiento de la enfermedad. Al realizar estudios *in silico* de derivados de guanidinobenzotiazoles se obtuvo que los compuestos 20, 23 y 26 podrían tener una actividad multitarget al actuar sobre la agregación del  $\beta A_{1-42}$ , AChE y BACE. Estos compuestos además de tener mejores valores de  $\Delta G$  que los controles reportados en la literatura, logran interaccionar con los aminoácidos del sitio activo de cada proteína y/o conformación, lo cual abre una posible opción farmacológica viable en tratamiento de la EA, al mostrar una actividad superior a Curcumina, Galantamina, Atabecestat, Elenbecestat, Lanabecestat, LY3202626, Umibecestat y Verubecestat.

El control curcumina de acuerdo a ensayos de dinámica molecular muestra que forma interacciones de mayor duración con los residuos F4, Y10, L17, F19, I31 y M35 como puntos de unión de la curcumina en el péptido  $\beta A_{1-42}$ .(76) esto en comparativa con los guanidinobenzotiazoles demuestran una menor actividad del control, ya que los compuestos 20 y 26, logran llegar al sitio de agregación (D23, E22) del péptido.

Por su parte al emplear en AChE al control galantamina estudios de simulación muestran que la molécula interactúa estrechamente con estos residuos Tyr337, Phe338 y Tyr341. La mayor distancia entre los residuos de la tríada catalítica (S203, E334 e H447) se ven interrumpidos por el salto de protones y, en consecuencia, afectaría el proceso de degradación de la ACh. Este proceso, a su vez, mejoraría el nivel de concentración de acetilcolina en el cerebro controlando la hidrólisis resultando en una menor interrupción de la neurotransmisión (77), siendo uno de los tres fármacos aprobados por la FDA. Por su parte los derivados de guanidinobenzotiazol no sólo logran llegar a la tríada catalítica durante los estudios

en Docking, interactúan en el sitio de unión periférico, subsitio aniónico y el subsitio de unión acilo de la enzima AChE además de tener mejores valores de  $\Delta G$  que la molécula de Galantamina.

Se han propuesto posibles inhibidores de BACE1, tales como Atabecestat, Lanabecestat, LY3202626, Umibecestat y Verubecestat, sin embargo no lograron llegar a ensayos clínicos de fase 3 por no mostrar mejorías en pacientes con EA y relacionarse con neurotoxicidad. Al no tener actualmente un fármaco control para la inhibición de BACE1, los derivados de guanidinobenzotiazoles podrían ser una opción viable puesto que durante el DD muestran interacciones en la díada catalítica de BACE1, así como valores de  $\Delta G$  que superan a los controles.

Los resultados muestran que durante el DD el compuesto 20 tiene un valor de  $\Delta G$  en  $\alpha$ : -7.5 (kcal/mol) haciendo interacciones con D23 y E22, en AChE: -8.41 haciendo interacción con H447 y BACE1: -9.89 (kcal/mol) interactúa con D93 y D289. El compuesto 26 interactúa con  $\alpha$ : -7.03 (kcal/mol) con D23 y E22; AChE: -12.56 y BACE1: -11.35 (kcal/mol) en comparación con los controles; curcumina ( $\alpha$ : -4.76 kcal/mol), galantamina (-6.9 kcal/mol) y los controles de BACE1 Lanabecestat (-8.99 kcal/mol), Verubecestat (-8.72 kcal/mol), Elenbecestat (-10.87kcal/mol), Atabecestat (-8.11 kcal/mol), LY322626 (-10.29 kcal/mol) y Umibecestat (-8.13 kcal/mol). Los compuestos 20 y 26 en todas las conformaciones de la proteína amiloide, en AChE y BACE1 presentaron mejor afinidad que los controles, por lo tanto, estos derivados de guanidinobenzotiazoles podrían ser útiles en el tratamiento de la EA, presentando actividad multitarget.

## **11. Conclusiones**

Se realizó el dibujado y optimizado de 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, con los que se realizaron estudios *in silico* con las conformaciones Alfa hélice, Random Coil y hoja beta plegada del péptido  $\beta$ A y las enzimas AChE y BACE1, donde se observaron interacciones con los sitios activos y de agregación de las proteínas durante el DD, presentando valores óptimos de  $\Delta G$  en comparativa con los controles (Curcumina, Galantamina, Lanabecestat, Atabecestat, Elenbecestat, Verubecestat, Umibecestat, LY3202626). Por esta razón se concluye que los compuestos 20, 23 y 26 podrían presentar actividad multitarget.

## **12. Perspectivas del trabajo**

Las perspectivas de este trabajo es continuar con estudios *in vitro* de estos nuevos derivados, con el fin de evaluar la actividad de cada compuesto y determinar la concentración necesaria para la inhibición de proteínas relacionadas con EA.

## 11. Referencias

- 1) World Alzheimer Report 2022: Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support. (2022). <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2022/>
- 2) L. Hroch, L. Aitken, O. Benek, M. Dolezal, K. Kuca, F. Gunn-Moore, K. Musilek. (2015). Benzothiazoles -Scaffold of Interest for CNS Targeted Drugs, *Curr. Med. Chem.* 22(6) 730–747, <https://doi.org/10.2174/0929867322666141212120631>
- 3) L. Huang, T. Su, W. Shan, Z. Luo, Y. Sun, F. He, X. Li. (2012). Inhibition of Cholinesterase Activity and Amyloid Aggregation by Berberine-Phenyl-Benzoheterocyclic and Tacrine-Phenyl-Benzoheterocyclic Hybrids, *Bioorg. Med. Chem.* 20 (9) 3038–3048, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.02.059>.
- 4) R. Rajeshwari, K. Chand, E. Candeias, S.M. Cardoso, S. Chaves, M.A. Santos, New Multitarget Hybrids Bearing Tacrine and Phenylbenzothiazole Motifs as Potential Drug Candidates for Alzheimer's Disease, *Mol. Basel Switz.* 24 (3) (2019), <https://doi.org/10.3390/molecules24030587>.
- 5) L Aitken, L., Benek, O., McKelvie, B. E., Hughes, R. E., Hroch, L., Schmidt, M., Major, L. L., Vinklarova, L., Kuca, K., Smith, T. K., Musilek, K., & Gunn-Moore, F. J. (2019). Novel Benzothiazole-based Ureas as 17 $\beta$ -HSD10 Inhibitors, A Potential Alzheimer's Disease Treatment. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(15), 2757. <https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.3390/molecules24152757>
- 6) Wongrattanakamon, P., Jiaranaikulwanitch, J., Vajragupta, O., Jiranusornkul, S., Saenjurn, C., & Yoojin, W. (2021). Potential Anti-Alzheimer Agents from GuanidinyI Tryptophan Derivatives with Activities of Membrane Adhesion and Conformational Transition Inhibitions. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26164863>
- 7) Delacourte, A. (2002). Fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer. *EMC - Tratado de Medicina*, 6(4), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(02\)70234-1](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(02)70234-1)
- 8) Gomez-Nicola, D., & Boche, D. (2015). Post-mortem analysis of neuroinflammatory changes in human Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, 7(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0126-1>
- 9) Ali, S., Asad, M. H. H. B., Khan, F., Murtaza, G., Rizvanov, A. A., Iqbal, J., Babak, B., & Hussain, I. (2020). Biological EVuation of Newly Synthesized Biaryl Guanidine Derivatives to Arrest  $\beta$  -Secretase Enzymatic Activity Involved in Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, 2020, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2020/8934289>
- 10) Fuentes, P. (2003). Enfermedad de Alzheimer: una nota histórica. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 41(Supl. 2), 9-12. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272003041200002>
- 11) Mexico—Encuesta Nacional sobre Salud y Envejecimiento en México (ENASEM) 2018. (n.d.), from <https://www.inegi.org.mx/rnm/index.php/catalog/619>
- 12) Gra Menéndez, Silvia, Padrón Pérez, Noel, & Llibre Rodríguez, Juan de Jesús. (2002). Péptido beta amiloide, proteína Tau y enfermedad de Alzheimer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 21(4), 253-261. Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S086403002002000400006&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403002002000400006&lng=es&tlng=es).
- 13) Ricciarelli, R., & Fedele, E. (2017). The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: It's Time to Change Our Mind. *Current neuropharmacology*, 15(6), 926–935. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170116143743>
- 14) A Armstrong R. Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol.* 2019; 57(2):87-105. [doi: 10.5114/fn.2019.85929](https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929).
- 15) Genis-Mendoza, A. D., Martínez-Magaña, J. J., Bojórquez, C., Téllez-Martínez, J. A., Jiménez-Genchi, J., Roche, A., Bojorge, A., Chávez, M., Castañeda, C., Guzmán, R., Zapata, L., Aguilar-Méndez, D., Lanzagorta, N., Rebolledo, I., Castro-Chavira, S., Fernández, T., Orozco, L., Nicolini, H., & Martínez-Hernández, A. G. (2018). Programa de detección del alelo APOE-E4 en adultos mayores mexicanos con deterioro cognitivo. *Gaceta de México*, 154(5), 850. <https://doi.org/10.24875/GMM.18003784>
- 16) Mahley, R. W., & Rall, S. C., Jr (2000). Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annual review of genomics and human genetics*, 1, 507–537. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.1.1.507>

- 17) Gao, Y., & Pimplikar, S. W. (2001). The  $\gamma$ -secretase-cleaved C-terminal fragment of amyloid precursor protein mediates signaling to the nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(26), 14979-14984. <https://doi.org/10.1073/pnas.261463298>
- 18) Kimberly, W. T., Zheng, J. B., Guénette, S. Y., & Selkoe, D. J. (2001). The intracellular domain of the beta-amyloid precursor protein is stabilized by Fe65 and translocates to the nucleus in a notch-like manner. *The Journal of biological chemistry*, 276(43), 40288–40292. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1074/jbc.C100447200>
- 19) Bencomo-Martínez, Alberto, & Sablón-Carrazana, Marquiza, & Rivera-Marrero, Suchitil, & Rodríguez-Tanty, Chryslaine, & Álvarez-Ginarte, Yoanna María, & Pupo-Meriño, Amaury (2012). Identificación y caracterización in silico de la zona de interacción entre el péptido beta-amiloide y compuestos derivados del naftaleno. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 43 (ISSN: 1015-8553).
- 20) Tomaselli, S., Esposito, V., Vangone, P., van Nuland, N. A., Bonvin, A. M., Guerrini, R., Tancredi, T., Temussi, P. A., & Picone, D. (2006). The alpha-to-beta conformational transition of Alzheimer's Abeta-(1-42) peptide in aqueous media is reversible: a step by step conformational analysis suggests the location of beta conformation seeding. *ChemBiochem: a European journal of chemical biology*, 7(2), 257–267. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/cbic.200500223>
- 21) Kaye, R., Head, E., Thompson, J. L., McIntire, T. M., Milton, S. C., Cotman, C. W., & Glabe, C. G. (2003). Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science (New York, N.Y.)*, 300(5618), 486–489. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1126/science.1079469>;
- 22) Terzi, E., Hoelzemann, G., & Seelig, J. (1994). Reversible Random Coil-.beta.-Sheet Transition of the Alzheimer .beta.-Amyloid Fragment (25-35). *Biochemistry*, 33(6), 1345-1350. <https://doi.org/10.1021/bi00172a009>
- 23) Kaye, R., Head, E., Thompson, J. L., McIntire, T. M., Milton, S. C., Cotman, C. W., & Glabe, C. G. (2003). Common Structure of Soluble Amyloid Oligomers Implies Common Mechanism of Pathogenesis. *Science*, 300(5618), 486–489. <https://doi.org/10.1126/science.1079469>
- 24) UniProt Consortium. «UniProtKB - P56817 (BACE1\_HUMAN)». UniProt.
- 25) Freitas, C. L. (2019). Efecto del tratamiento con el péptido Beta Amiloide sobre el tráfico intracelular de APP y BACE 1. <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2337868>
- 26) Bank, R. P. D. (s. f.). RCSB PDB - 2QP8: Structure of BACE Bound to SCH734723, de <https://www.rcsb.org/structure/2QP8>
- 27) Ferreira, J. P. S., Albuquerque, H. M. T., Cardoso, S. M., Silva, A. M. S., & Silva, V. L. M. (2021). Dual-target compounds for Alzheimer's disease: Natural and synthetic AChE and BACE1 dual-inhibitors and their structure-activity relationship (SAR). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 221, 113492. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113492>
- 28) Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., & Vallette, F. M. (1993). Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress in neurobiology*, 41(1), 31–91. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/0301-0082\(93\)90040-y](https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/0301-0082(93)90040-y)
- 29) Massoulié, J., Bon, S., Perrier, N., & Falasca, C. (2005). The C-terminal peptides of acetylcholinesterase: cellular trafficking, oligomerization and functional anchoring. *Chemico-biological interactions*, 157-158, 3–14. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.cbi.2005.10.002>
- 30) Rotundo R. L. (1983). Acetylcholinesterase biosynthesis and transport in tissue culture. *Methods in enzymology*, 96, 353–367. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/s0076-6879\(83\)96032-9](https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/s0076-6879(83)96032-9)
- 31) Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T., & Delon, M. R. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science (New York, N.Y.)*, 215(4537), 1237–1239. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1126/science.7058341>
- 32) Grigorev, V. Y., Rasdolsky, A. N., Grigoreva, L. D., & Tinkov, O. V. (2021). Structural Fractal AnaKis of the Active Site of Acetylcholinesterase in Complexes with Huperzine A, Galantamine, and Donepezil. *MOLECULAR INFORMATICS*, 40(11). <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/minf.202100127>.

- 33) Maragall, F. P. (s. f.). Donepezilo, rivastigmina y galantamina: Fármacos específicos para el Alzheimer. Recuperado 3 de febrero de 2022, de <https://blog.fpmaragall.org/donepezilo-rivastigmina-galantamina>
- 34) Tiwari, M. K., & Kepp, K. P. (2016).  $\beta$ -Amyloid pathogenesis: Chemical properties versus cellular levels. *Alzheimer's & Dementia*, 12(2), 184-194. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.06.1895>
- 35) Pluta, R., Furmaga-Jabłońska, W., Januszewski, S., & Czuczwar, S. J. (2022). Post-Ischemic Brain Neurodegeneration in the Form of Alzheimer's Disease Proteinopathy: Possible Therapeutic Role of Curcumin. *Nutrients*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/nu14020248>
- 36) González-Albadalejo, J., Sanz, D., Claramunt, R. M., Lavandera, J. L., Alkorta, I., & Elguero, J. (n.d.). Curcumin and curcuminoids: Chemistry, structural studies and biological properties. 33.
- 37) Ringman, J., Frautschy, S., Cole, G., Masterman, D., & Cummings, J. (2005). A Potential Role of the Curry Spice Curcumin in Alzheimers Disease. *Current Alzheimer Research*, 2(2), 131-136. <https://doi.org/10.2174/1567205053585882>.
- 38) Doroszkiewicz, J., & Mroczko, B. (2022). New Possibilities in the Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 8902-N.PAG. <https://doi.org/10.3390/ijms23168902>
- 39) Abramov, E., Dolev, I., Fogel, H., Ciccotosto, G. D., Ruff, E., & Slutsky, I. (2009). Amyloid- $\beta$  as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nature Neuroscience*, 12(12), 1567–1576. <https://doi.org/10.1038/nn.2433>
- 40) Sperling, R., Henley, D., Aisen, P. S., Raman, R., Donohue, M. C., Ernstom, K., Rafii, M. S., Streffer, J., Shi, Y., Karcher, K., Raghavan, N., Tymofyeyev, Y., Bogert, J., Brashear, H. R., Novak, G., Thippawong, J., Saad, Z. S., Kolb, H., Rofael, H., Sanga, P., ... Romano, G. (2021). Findings of Efficacy, Safety, and Biomarker Outcomes of Atabecestat in Preclinical Alzheimer Disease: A Truncated Randomized Phase 2b/3 Clinical Trial. *JAMA neurology*, 78(3), 293–301. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.4857>
- 41) Ono, K., Hasegawa, K., Naiki, H., & Yamada, M. (2004). Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Journal of neuroscience research*, 75(6), 742–750. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/jnr.20025>
- 42) Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 280–292. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.jalz.2011.03.003>
- 43) Kim, J., Lee, H. J., & Lee, K. W. (2010). Naturally occurring phytochemicals for the prevention of Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry*, 112(6), 1415–1430. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/j.1471-4159.2009.06562.x>
- 44) Timmers, M., Streffer, J. R., Russu, A., Tominaga, Y., Shimizu, H., Shiraishi, A., Tatikola, K., Smekens, P., Börjesson-Hanson, A., Andreasen, N., Matias-Guiu, J., Baquero, M., Boada, M., Tesseur, I., Tritsmans, L., Van Nueten, L., & Engelborghs, S. (2018). Pharmacodynamics of atabecestat (JNJ-54861911), an oral BACE1 inhibitor in patients with early Alzheimer's disease: randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Alzheimer's research & therapy*, 10(1), 85. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1186/s13195-018-0415-6>
- 45) Novak, G., Streffer, J. R., Timmers, M., Henley, D., Brashear, H. R., Bogert, J., Russu, A., Janssens, L., Tesseur, I., Tritsmans, L., Van Nueten, L., & Engelborghs, S. (2020). Long-term safety and tolerability of atabecestat (JNJ-54861911), an oral BACE1 inhibitor, in early Alzheimer's disease spectrum patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled study and a two-period extension study. *Alzheimer's research & therapy*, 12(1), 58. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1186/s13195-020-00614-5>
- 46) Roberts, C., Kaplow, J., Giroux, M., Krause, S., & Kanekiyo, M. (2021). Amyloid and APOE Status of Screened Subjects in the Elenbecestat MissionAD Phase 3 Program. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8(2), 218-223. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.4>
- 47) Cebers, G., Alexander, R. C., Haeberlein, S. B., Han, D., Goldwater, R., Ereshefsky, L., Olsson, T., Ye, N., Rosen, L., Russell, M., Maltby, J., Eketjäll, S., & Kugler, A. R. (2017). AZD3293: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Effects in Healthy Subjects and Patients

- with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 55(3), 1039–1053. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.3233/JAD-160701>
- 48) Eketjäll, S., Janson, J., Kaspersson, K., Bogstedt, A., Jeppsson, F., Fälting, J., Haeberlein, S. B., Kugler, A. R., Alexander, R. C., & Cebers, G. (2016). AZD3293: A Novel, Orally Active BACE1 Inhibitor with High Potency and Permeability and Markedly Slow Off-Rate Kinetics. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 50(4), 1109–1123. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.3233/JAD-150834>
  - 49) Wessels, A. M., Tariot, P. N., Zimmer, J. A., Selzler, K. J., Bragg, S. M., Andersen, S. W., Landry, J., Krull, J. H., Downing, A. M., Willis, B. A., Shcherbinin, S., Mullen, J., Barker, P., Schumi, J., Shering, C., Matthews, B. R., Stern, R. A., Vellas, B., Cohen, S., ... Sims, J. R. (2020). Efficacy and Safety of Lanabecestat for Treatment of Early and Mild Alzheimer Disease: The AMARANTH and DAYBREAK-ALZ Randomized Clinical Trials. *JAMA Neurology*, 77(2), 199-209. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.3988>
  - 50) Willis, B. A., Lowe, S. L., Daugherty, L. L., Dean, R. A., English, B., Ereshefsky, L., Gevorkyan, H., James, D. E., Jhee, S., Lin, Q., Lo, A., Mergott, D. J., Monk, S. A., Nakano, M., Zimmer, J. A., & Irizarry, M. C. (2016). P1-044: Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, Safety, and Tolerability of LY3202626, a Novel Bace1 Inhibitor, in Healthy Subjects and Patients with Alzheimer's Disease. *Alzheimer's & Dementia*, 12(7S\_Part\_8), P418-P418. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.06.791>
  - 51) Vormfelde, S. V., Pezous, N., Lefèvre, G., Kolly, C., Neumann, U., Jordaan, P., Ufer, M., & Legangneux, E. (2020). A Pooled Analysis of Three Randomized Phase I/IIa Clinical Trials Confirms Absence of a Clinically Relevant Effect on the QTc InterV by Umibecestat. *CTS: Clinical & Translational Science*, 13(6), 1316–1326. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/cts.12832>
  - 52) Egan, M. F., Kost, J., Tariot, P. N., Aisen, P. S., Cummings, J. L., Vellas, B., Sur, C., Mukai, Y., Voss, T., Furtek, C., Mahoney, E., Harper Mozley, L., Vandenberghe, R., Mo, Y., & Michelson, D. (2018). Randomized Trial of Verubecestat for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *The New England journal of medicine*, 378(18), 1691–1703. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1056/NEJMoa1706441>
  - 53) Michael F. Egan, Yuki Mukai, Tiffini Voss, James Kost, Julie Stone, Christine Furtek, Erin Mahoney, Jeffrey L. Cummings, Pierre N. Tariot, Paul S. Aisen, Bruno Vellas, Christopher Lines, & David Michelson. (2019). Further analyses of the safety of verubecestat in the phase 3 EPOCH trial of mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 11(1), 1–12. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1186/s13195-019-0520-1>
  - 54) Almiñana, I. F. (2004). Tratamiento farmacológico de la demencia. *Revista multidisciplinar de gerontología*, 14(1), 34-48.
  - 55) Hager, K., Baseman, A. S., Nye, J. S., Brashear, H. R., Han, J., Sano, M., Davis, B., & Richards, H. M. (2014). Effects of galantamine in a 2-year, randomized, placebo-controlled study in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 10, 391–401. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.2147/NDT.S57909>
  - 56) ¿Cómo se trata la enfermedad de Alzheimer? (s. f.). National Institute on Aging. Recuperado, de <http://www.nia.nih.gov/espanol/medicamentos-enfermedad-alzheimer>.
  - 57) Puig, N. M., & Giorgi, G. (s. f.). TÍTULO: Fármacos Multidiana. 20.
  - 58) Absorción de los fármacos—Farmacología clínica. (s. f.). Manual MSD versión para profesionales, de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/farmacolog%C3%ADa-cl%C3%ADnica/farmacocin%C3%A9tica/absorci%C3%B3n-de-los-f%C3%A1rmacos>
  - 59) El tipo de antidepresivo que se receta más comúnmente. (s. f.). Mayo Clinic. Recuperado 3 de febrero de 2022, de <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/depression/in-depth/ssris/art-20044825>.
  - 60) Perola, E., Walters, W. P., & Charifson, P. S. (2004). A detailed comparison of current docking and scoring methods on systems of pharmaceutical relevance. *Proteins*, 56(2), 235–249. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/prot.20088>
  - 61) Meng, E. C., Shoichet, B. K., & Kuntz, I. D. (1992). Automated docking with grid-based energy evaluation. *Journal of Computational Chemistry*, 13(4), 505-524. <https://doi.org/10.1002/jcc.540130412>

- 62) Sharma, V., Pattanaik, K. K., Jayprakash, V., Basu, A., & Mishra, N. (2009). A utility script for automating and integrating AutoDock and other associated programs for virtual screening. *Bioinformatics*, 4(2), 84–86. <https://doi.org/10.6026/97320630004084>
- 63) Lee, D., Lee, W.-S., Lim, S., Kim, Y. K., Jung, H.-Y., Das, S., Lee, J., Luo, W., Kim, K.-T., & Chung, S.-K. (2017). A guanidine-appended scyllo-inositol derivative AAD-66 enhances brain delivery and ameliorates Alzheimer's phenotypes. *Scientific Reports*, 7(1), 14125. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14559-7>.
- 64) Cui, M.-C., Li, Z.-J., Tang, R.-K., & Liu, B.-L. (2010). Synthesis and evaluation of novel benzothiazole derivatives based on the bithiophene structure as potential radiotracers for  $\beta$ -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(7), 2777-2784. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.02.002>
- 65) García Marín, I. D., Camarillo López, R. H., Martínez, O. A., Padilla-Martínez, I. I., Correa-Basurto, J., & Rosales-Hernández, M. C. (2022). New compounds from heterocyclic amines scaffold with multitarget inhibitory activity on  $A\beta$  aggregation, AChE, and BACE1 in the Alzheimer disease. *PloS one*, 17(6), e0269129. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269129>
- 66) Hernández-Rodríguez, M., Correa-Basurto, J., Gutiérrez, A., Vitorica, J., & Rosales-Hernández, M. C. (2016). Asp32 and Asp228 determine the selective inhibition of BACE1 as shown by docking and molecular dynamics simulations. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 1142-1154. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.028>
- 67) RCSB PDB: Homepage. (s. f.). <https://www.rcsb.org/>
- 68) Hernández-Rodríguez, M., Correa-Basurto, J., Benitez-Cardoza, C. G., Resendiz-Albor, A. A., & Rosales-Hernández, M. C. (2013). In silico and in vitro studies to elucidate the role of  $Cu^{2+}$  and galanthamine as the limiting step in the amyloid beta (1-42) fibrillation process. *Protein science*, 22(10), 1320–1335. <https://doi.org/10.1002/pro.2319>
- 69) ChemSketch Freeware. (s. f.). ACD/Labs, de <https://www.acdlabs.com/resources/free-chemistry-software-apps/chemsketch-freeware/>
- 70) GaussView 6 | Gaussian.com. (s. f.). Recuperado de <https://gaussian.com/gaussview6/>
- 71) Avogadro—Free cross-platform molecular editor. (s. f.). Avogadro. de <https://avogadro.cc/>
- 72) mgl-admin. (s. f.). Homepage. AutoDock. Recuperado de <https://autodock.scripps.edu/>
- 73) PyMOL | pymol.org. (s. f.), de <https://pymol.org/2/>
- 74) Systèmes, D. Free Download: BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Dassault Systèmes. <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>
- 75) Wan, Y., Guan, S., Qian, M., Huang, H., Han, F., Wang, S., & Zhang, H. (2020). Structural basis of fullerene derivatives as novel potent inhibitors of protein acetylcholinesterase without catalytic active site interaction: Insight into the inhibitory mechanism through molecular modeling studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(2), 410-425. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1576543>
- 76) Zhu, M., De Simone, A., Schenk, D., Toth, G., Dobson, C. M., & Vendruscolo, M. (2013). Identification of small-molecule binding pockets in the soluble monomeric form of the  $A\beta_{42}$  peptide. *The Journal of chemical physics*, 139(3), 035101. <https://doi.org.pbid.unam.mx:2443/10.1063/1.4811831>
- 77) Ghosh, S., Jana, K., Wakchaure, P. D., & Ganguly, B. (2022). Revealing the cholinergic inhibition mechanism of Alzheimer's by galantamine: a metadynamics simulation study. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 40(11), 5100–5111. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1867644>

## 12. Anexos

Tabla 6. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el  $\beta A$  1-42 conformación Alfa hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-5.8	E11, H14, F20, N27, Q15, V18, F19, E22, D23, N27
2	-5.63	E22, F19, V18, Q15, H14, V12, E11, D7
3	-5.3	E3, F4, D7, E11, Q15, H14, V18
4	-5.65	D7, E11, V12, Y10, H14, Q15, V18, F19, E22
5	-5.19	A2, E3, F4, D7, E11, H14, Q15, V18
6	-5.16	E3, F4, D7, E11, Q15, H14, V18
7	-6.68	D7, Y10, E11, H14, Q15, V18, F19, E22
8	-6.06	D7, Y10, E11, H14, Q15, V18, F19
9	-5.75	D7, E11, Y10, H14, Q15, V18
10	-6.04	D7, E11Y10, H14, Q15, V18
11	-5.9	D7, E11, Y10, H14, Q15, V18
12	-5.52	D7, E11, V12, H13, Y10, H14, Q15, V18
13	-6.15	D7, V12, E11, Y10, H14, Q15, V18
14	-6.12	E22, V18, F19, Q15, K16, H14, H13, V12, E11, Y10, V12, F14
15	-5.87	N27, D23, E22, F19, V18, Q15, H14, E11, V12
16	-6.28	A30, I31, L34, M35, G37, G38, V40, V39, I41, A42
17	-5.64	V36, M35, G33, L34, I32, I31, A30, G38, G37, V39, V40
18	-5.97	G33, L34, M35, I32, I31, A30, G38, G37, V39, V40
19	-6.2	E11, H14, Q15, V18, F19, E22, D23, N27
20	-8.51	H14, V12, E11, Y10, D7, F4, E3, F4, A2, H6
21	-5.43	D7, E11, Y10, V12, H14, Q15, V18
22	-6.67	F19, V18, Q15, H14, V12, E11, Y10, D7, E3
23	-6.26	F19, V18, Q15, H14, V12, E11, Y10, D7
24	-5.38	A2, E3, F4, D7, E11, H14, Q15, V18
25	-5.34	E3, D7, Y10, E11, V12, H14, Q15, V18
26	-7.43	H13, Y10, E11, D7, H6, Q15, H14, V18
Curcumina	-5.5	F19, K16, L17, Q15, V18, H14, H13, V12, E11, Y10, D7

Tabla 7. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el  $\beta A$  1-42 conformación Alfa hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-5.51	E11, H14, Q15, V18, F19, F20, V24, D23, E22, N27
2	-5.55	Q15, F19, V18, E22, D23, N27
3	-5.23	Y10, V12, H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27
4	-5.5	Q15, V18, F19, E22, D23, N27
5	-5.22	Y10, V12, H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27, S26
6	-5.12	V12, H14, E11, Q15, F20, F19, V18, D23, E22, N27, S26
7	-6.14	Q15, F20, F19, V18, D23, E22, N27, S26
8	-5.54	Y10, V12, H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27
9	-5.52	Y10, V12, H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27
10	-5.36	Y10, V12, H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27
11	-5.39	H14, Q15, E11, F19, V18, D23, E22, N27, S26
12	-5.28	H14, Q15, E11, F20, F19, V18, D23, E22, N27
13	-5.7	H13, V12, Y10, E11, H14, Q15, F20, F19, V18, D23, E22, N27
14	-5.68	V12, H14, E11, Q15, F19, V18, F20, D23, E22, N27
15	-5.87	V12, H14, Q15, E11, F19, V18, D23, E22, N27
16	-5.57	H14, Q15, E11, F19, V18, D23, E22, N27
17	-5.34	K16, L17, Q15, H14, A21, E22, V24, S26, G25
18	-5.06	V39, V40, I41, A42, M35, L34, I32, I31, A30
19	-6.27	Y10, V12, H14, Q15, E11, F19, V18, E22, D23, N27
20	-7.5	N27, D23, E22, F19, F20, V18, Q15, H14, E11, V12
21	-5.57	V12, H14, Q15, E11, F19, F20, V18, D23, E22, N27, S26
22	-6.77	N27, D23, F19, E22, V18, Q15, V12, H14, E11, D7, F20
23	-6.42	N27, D23, E22, F20, F19, Q15, H14, V12, E11
24	-5.46	V12, H14, Q15, E11, F19, F20, V18, D23, E22, N27, S26
25	-5.37	V12, H14, Q15, E11, F19, F20, V18, D23, E22, N27, S26
26	-7.03	N27, D23, F20, E22, F19, V18, Q15, H14, E11
Curcumina	-4.76	H13, H14, K16, L17, V18, A21, E22, V24, G25, S26

Tabla 8. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el  $\beta A$  1-42 conformación Hoja beta plegada hélice y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-4.81	F20, E22, D23, V24, G25
2	-5.06	L34, I32, D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29
3	-4.45	A42, I41, V40, V39 G38, G37, F19
4	-4.52	D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29, I32
5	-4.5	A42, I41, V40, V39 G38, G37, F19
6	-4.5	A42, I41, V40, V39 G38, G37, F19
7	-5.57	I32, A30, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23
8	-5.34	A42, I41, V40, V39 G38, G37, V36, L17, F19, A21
9	-5.26	A42, I41, V40, V39, G38, G37, F19, L17
10	-5	G38, V36, F19, F20, A21, E22
11	-5.2	G38, G37, V36, E22, A21, F20, F19
12	-5.06	G38, G37, V36, V18, F19, F20, A21, E22
13	-5.35	A42, I41, V40, V39, G38, G37, F19, L17, V36
14	-5.8	N 27, S 26, K 28, G29, G25, V24, D23, I31, I32, G33, L34, M35
15	-4.87	D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29, I32
16	-5.75	L34, I32, D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29
17	-5.53	F20, F19, V18, G38, L17, V39, V40, I41
18	-5.09	V36, G37, G38, V39, V40, I41, A21, F19, L17
19	-5.51	N27, K28, G29, S26, G25, V24, D23, I32, L34
20	-7.5	V36, G37, G38, V39, V40, I41, A42, F19, L17
21	-5.13	A42, I41, V40, V39, G38, G37, L17, F19
22	-6.07	V36, G37, G38, V39, V40, I41, A21, F19, L-117
23	-5.9	V36, E22, A21, F20, F19, V18, L17, V40
24	-4.96	A42, I41, V40, V39, G38, G37, F19
25	-5.02	A42, I41, V40, V39, G38, G37, F19, L17
26	-6.86	V36, G37, G38, V39, V40, I41, A242, A21, F19, L17
Curcumina	-5.68	A42, I41, V40, V39, G38, G37, V36, L17, V18, F19

Tabla 9. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el  $\beta A$  1-42 conformación hoja beta plegada y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-4.81	F20, E22, D23, V24, G25
2	-4.88	I32, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23
3	-4.37	F20, A21, E22, D23, V24
4	-4.42	I32, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23
5	-4.34	V18, E22, A21, F20, F19, V18
6	-4.34	G38, G37, V36, V18, F19, F20, A21, E22
7	-5.57	I32, A30, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23
8	-5.12	M35, L34, G33, I32, D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29
9	-4.98	F20, A21, E22, D23, V24
10	-4.95	G38, V36, F19, F20, A21, E22
11	-5.18	G38, G37, V36, F19, F20, A21, E22
12	-5.04	G38, G37, V36, V18, F19, F20, A21, E22
13	-5.31	V39, G38, G37, V36, F19, F20, A21, E22
14	-5.82	I31, I32, G33, L34, M35, G29, K28, N 27, S 26, G 25, V 24, D 23
15	-4.47	L34, F20, A21, E22, D23, V24
16	-5.37	V39, G38, G37, V36, F19, F20, A21, E22
17	-5	V36, G37, G38, V39, E22, A21, F20, F19
18	-4.76	L34, M35, V36, A21, E22, D-28, V24, G25
19	-5.12	L34, I32, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23
20	-6.37	A30, I31, I32, G33, L34, M35, V36, G29, K28, N27, S26, G25, V24, D23, E22, A21
21	-4.79	G38, G37, V36, V18, F19, F20, A21, E22
22	-5.89	K28, N27, S26, G25
23	-5.78	E22, D23, V24, G25, S26, N27, K28, G29, L34, I32
24	-4.74	G38, G37, V36, V18, F19, F20, A21, E22
25	-4.7	V36, M35, L34, I32, A21, E22, D23, V24, G25
26	-6.53	M35, L34, G33, I32, D23, V24, G25, G29, S26, N27, K28
Curcumina	-4.89	V39, G38, G37, V36, M35, L34, F19, F20, A21, E22, D23

Tabla 10. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre el  $\beta A$  1-42 conformación Random Coil y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-5.71	D7, E11, V12, V39, M35, K16, Q15, F20
2	-5.83	D7, V12, E11, K16, Q15, V39, M35, F20
3	-5.22	D7, E11, V12, V39, M35, K16, Q15, F20
4	-5.36	S8, D7, E11, V12, Q15, K16, F20, M35, V39
5	-5.17	D7, E11, V12, V39, M35, K16, Q15, F20
6	-5.07	D7, E11, V12, V39, M35, K16, Q15, F20
7	-6.11	D7, E11, V12, V39, M35, K16, Q15, F20, S8
8	-5.61	E3, D7, S8, E11, V12, K16, Q15, F20, M35
9	-5.1	F4, R5, G9, HSD6, Y10, HSD13, HSD14, V18
10	-5.26	D7, V12, E11, K16, Q15, M35, F20
11	-5.36	D7, E11, V12, Q15, K16, M35, V39, V40
12	-4.78	M35, K16, Q15, V12, E11, D7, HSD6
13	-5.3	V40, V39, M35, K16, Q15, V12, E11, D7
14	-5.86	HSD 6, Y 10, E11, V12, Q15, K16, M35, V39, V40
15	-5	M35, F20, K16, Q15, V12, E11, D7
16	-5.43	D23, F19, V18, Q15, HSD14, Y10
17	-5.07	HSD14, Y10, HSD6, E11, Q15, F19
18	-4.99	I31, A30, I32, G29, K28, G33, L34
19	-5.3	F20, K16, V12, Q15, E11, M35, V39, V40
20	-6.45	A2, E3, D7, E11, V12, Q15, K16, F20, M35, HSD6
21	-5.27	F20, K16, Q15, V12, E11, D7, M35, V39
22	-5.81	E3, A2, D7, E11, V12, M35, HSD6
23	-5.82	E3, A2, D7, E11, V12, M35, HSD6
24	-5.11	S8, D7, E11, V12, Q15, K16, F20, M35, V39
25	-4.95	HSD6, D7, E11, V12, Q15, K16, F20, M35, V39
26	-6.37	HSD6, V12, E11, V40, V39, M35, K16
Curcumina	-4.49	F4, S8, HSD6, R5, G9, Y10, HSD13, HSD14, V18

Tabla 11. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre el  $\beta A$  1-42 conformación Random Coil y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-4.59	F19, D23, V24, G25, S26, K28, N27
2	-4.74	F19, D23, V24, G25, S26, K28, N27
3	-4.15	F19, D23, V24, S26, K28, N27
4	-4.12	F19, D23, V24, G25, S26, K28, N27
5	-4.01	E22, D23, F19, V18, HSD14
6	-3.97	E22, D23, V24, S26, K28, N27
7	-5.16	F19, D23, V24, G25, S26, K28, N27
8	-4.62	HSD14, F19, V18, E22, D23
9	-4.6	E22, D23, F19, V18, HSD14
10	-4.34	G25, E22, A21, V18, L17, HSD13
11	-4.45	G25, E22, A21, V18, L17, HSD13, I31
12	-3.96	D23, E22, F19, V18, L17, HSD14
13	-4.67	K28, G29, A30, I31, I32, S26, G25, F20, A21, D23, E22, L17
14	-4.86	F19, E22, D23, V24, G25, S26, N27, K28
15	-4.45	D23, E22, F19, V18
16	-4.89	D23, E22, F19, V18
17	-4.48	HSD13, L17, V18, E22, A21, G25
18	-4.45	E22, A21, I31, G25, A30, I32, G29, S26, G33, K28
19	-5.02	S26, E22, D23, F19, V18
20	-6.67	HSD14, Q15, L17, V18, E22, D23, F19
21	-3.96	K28, G29, A30, I31, S26, G25, F20, A21, E22, L17
22	-5.41	L17, I31, A21, F20, A30, G29, G25, S26, K28, E22
23	-5.41	L17, I31, A21, F20, A30, G29, G25, S26, K28, E22
24	-4.15	G25, I31, E22, A21, V18, L17, HSD13
25	-4.1	S26, K28, G29, A30, I31, G25, A21, L17, F20, E22
26	-6.23	L17, A21, F20, E22, G25, S26, I31, A30, G29, K28
Curcumina	3.6	I31, G29, A30, L17, A21, HSD13, F20, K28, G25, N27, E22, S26, V18

Tabla 12. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre ACHE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-5.98	W286, Y341, Y337, Y124, D74, Y72, W439, Y449, G82, T83, W86, E84
2	-5.86	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
3	-5.91	F297, F295, Y124, W286, Y72, Y341, F338, Y337, Y439, G82, E84, T83, N87, W86, D74
4	-5.91	S293, V294, R296, F295, Y341, F297, W286, F338, Y337, Y124, Y72, D7, T75, T83, W86, G82, Y449, W439
5	-5.62	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
6	-6.01	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
7	-6.21	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
8	-6.15	R296, F295, V294, Y341, F338, Y337, W349, G82, T83, W86, N87, P88, D74, V73, G126, S125, Y72, Y124, W286, Q71
9	-6.55	R296, F295, V294, Y341, F338, Y337, W349, G82, T83, W86, N87, P88, D74, V73, G126, S125, Y72, Y124, W286, Q71
10	-6.2	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
11	-5.7	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
12	-5.8	Q71, Y72, W286, Y124, N87, S125, V73, D74, T75, W86, L76, Y341, T83, G82, Y337, W439
13	-6.08	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86
14	-7.11	Y337, Y31, F338, V294, F295, R296, F297, W286, Y72, S125, Y124, Q71, G82, T83, D71, W86, N87, V73
15	-5.33	Y72, W286, Y124, D74, L76, W86, T83, G82, Y449, W439, Y337, Y341
16	-6.26	Y124, V288, H287, W286, L289, Y124, F297, R296, S293, V294, F295, Y341, F338, Y337
17	-6.14	
18	-6.71	N87, W86, V73, D74, Q71, Y72, S125, Y124, W286, F297, F295, R296, V294, Y337, F338, Y341
19	-6.23	Q71, Y72, W286, Y124, N87, S125, V73, D74, W86, Y341, T83, G82, Y337, W439, F338, V294, F295, F297
20	-7.47	L289, W286, F297, Y124, Y72, R296, S293, F295, V294, G342, Y341, F338, Y337, L76, D74
21	-5.38	L289, W286, Y272, Y124, F297, R296, S293, F295, V294, Y341, F338, Y337, L76, D74
22	-8.38	S293, R296, V294, F295, F297, W286, Y124, S125, Y72, Q71, G126, V73, W86, N87, P88, D74, L76, T83, F338, Y341, Y337
23	-8.56	Y337, F338, Y341, V294, F295, S293, R296, F297, W286, Y124, S125, Y72, Q71, V72, N87, D74, W86, L76, T83
24	-6.15	W286, F297, F295, Y341, Y124, Y72, F338, S125, D74, Y337, W439, T83, G82, E84, N87, W86, Y449
25	-5.5	L289, W86, Y272, Y124, F297, R296, S293, F295, V294, Y341, F338, Y337, L76, D74, S125, N87, G82, T83
26	-7.01	Y337, F338, F295, V294, V340, Y341, G342, L76, S293, R296, F297, Y124, L289, W286, H287
Galantamina	-6.71	S293, V294, F295, R296, D74, F338, Y341

Tabla 13. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Dirigido entre ACHE y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-6.47	Y449, Y439, Y337, G82, T83, E84, Y341, W86, D74, Y72, Y124, W286
2	-6.33	W439, Y337, F338, G82, T83, E84, W86, D74, N87, Y341, F295, F297, W286, Y124, S125, Y72,
3	-6.21	Y449, Y439, G82, M-85, W86, E84, T83, N87, D74, Y124, Y72, F297, W286, Y337, F338, F295, Y-34
4	-6.24	W439, Y337, F338, Y341, F295, V294, R296, F297, Y124, W286, Y72, D74, W86, Y341, T83, G82
5	-6.29	Y449, W439, Y337, F338, Y341, F295, F297, W286, Y72, Y124, S125, D74, N87, W86, E84, M-85, T83, G82
6	-6.29	W439, Y337, F338, G82, T83, W86, E84, N87, D74, S-215, Y124, Y72, F297, Y341, F295
7	-6.84	W439, Y449, G82, T83, W86, Y337, F338, Y341, S293, V294, F295, R296, W286, F297, Y124, Y72, S125
8	-6.83	W439, G82, T83, W86, T75, D74, S125, Y72, Y124, L289, W286, F297, R296, S293, F295, V294, Y341, F338, Y337
9	-6.79	W439, G82, T83, L76, T75, D74, W86, S125, Y72, Y124, Y337, Y341, F338, V294, S293, F295, R296, F297, W286, L289
10	-6.74	W439, G82, T83, W86, D74, Y72, Y124, W286, F297, R296, S293, V294, F295, Y341, F338, Y337
11	-6.46	W439, G82, Y449, T83, Y337, F338, W86, N87, Y341, D74, V73, S125, Y72, Y124, W286, F297, R296, S293, F295, V294
12	-6.38	W439, G82, T83, W86, E84, N87, D74, V73, S125, Y72, Y124, W286, Y449, Y337, F338, Y341, V294, F295, S293, F297
13	-6.88	G82, T83, T75, W86, N87, D74, Y72, Y124, F297, W286, R296, S293, F295, V294, Y341, F338, Y337
14	-6.63	Y341, G82, T83, L76, E84, D74, N87, Y124, F297, R296, F195, V294, S293
15	-6.01	Y449, W86, G82, W439, T83, D74, Y337, Y341, Y124, Y72, W286
16	-6.07	W439, G82, E84, T83, N87, W86, Y72, S125, Y124, W286, F297, F295, R296, V294, S293, Y341, F338, Y337
17	-6.07	S125, Y124, W86, G121, G122, G120, E202, S203, H447, Y337, F-388, F295, Y341, V294, S293, R296, F297, W286
18	-6.21	Y72, Y124, D74, W86, T83, G82, G448, Y449, H447, W439, Y337, Y341, W286
19	-6.66	W286, Y124, S125, D74, W86, T83, G82, Y449, W439, Y337, F338, Y341, V294, F295, S293, R296, F297
20	-8.41	G82, T83, W439, D74, Y72, P-446, Y337, Y341, F338, V294, F295, F297, H447, G121, Y124, S203, G121, G120, E202, S203, S125, G448, G126, I451, Y449, Y133, W286.
21	-6.52	S293, V294, R296, F295, Y341, F338, Y337, W439, Y449, G82, T83, W86, N87, E84, S125, G121, Y124, G122, W286, F297
22	-7.42	Y337, F338, Y341, V294, F295, R296, W286, F297, Y124, Y72, D74, W86, N87, E84, T83, L76, G82.
23	-7.68	F338, Y341, Y337, L76, V294, F295, R296, W286, F297, Y124, Y72, N87, W86, D74, E84, T83, G82
24	-6.77	S293, V294, W286, R296, Y341, F295, F297, F338, Y337, W439, T83, G82, Y449, W86, N87, E84, D74, S125, G121, Y124
25	-6.63	V294, R296, W286, F297, Y341, F295, F338, Y337, L76, T75, D74, Y72, Y124, W439, T83, G82, E84, N87, W86, Y449
26	-12.56	S293, V294, R296, F295, F297, W286, Y341, F338, Y337, Y124, S125, G126, W86, N87, T83, Q71, Y72, D74, V73, L76
Galantamina	-6.9	Y341, S293, V294, F295, R296, F297

Tabla 14. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking Ciego entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-6.48	PHO363, Q364, Y366, Q365, V422, L367, E400, V397, R368, G219, G217, P369, A218, F220, S71, G72, PHO221, K70, Y75, L222
2	-7.3	P363, Q364, V422, H421, Q365, Y366, L367, E400, V397, G219, G217, A218, R368, P369, F220, S71, K70, L222, G72
3	-6.76	W338, V422, Q364, Q365, L367, E400, G219, V397, G217, A218, F220, R368, P369, S71, K70, P221, G72, L222
4	-7.69	C420, G401, H421, E400, V422, Q365, G217, Q364, G72, Y366, K70, A218, G219, P363, L367, R368, G72, F220, P369, L222, P221
5	-6.9	H421, V422, G401, E400, G217, A218, K70, G219, K70, Q364, Q365, V397, Y366, F220, S71, L222, P221, L367, P369, S71, G72, R368
6	-6.21	I287, D289, Y259, V393, R296, T390, G95, D93, T292, G291, D93, S96, S97, T133, Y132, I187, P131, V130, R189
7	-8.38	Y259, I287, D289, S290, T292, G95, S96, T133, D93, G291, L91, I179, W176, T133, Q134, Y132, P131, G135, F169, K168
8	-7.17	Y259, I287, K285, I187, S97, D289, D93, G95, S96, N98, S97, R189, T390, V393, D93, V130, P131, D93, Y132, T133, G291, T292, R296, S338
9	-7.31	V422, E400, C216, Q364, Q365, L367, C216, G217, A218, G219, Y75, R368, G69, K70, L222, P221, G72, E371, V370, F220, P369
10	-7.27	I171, W176, I179, L91, D93, G95, S96, Y259, I287, D289, G291, T292, Y132, T133, Q134, G135, K168, F169
11	-6.97	L222, P221, A218, C420, F220, G219, G217, V422, H421, P369, Q364, E400, Q365, K70, R368, G75, V397, L367, Y366
12	-6.62	I287, V393, K285, R296, T390, D289, D93, G291, T292, G95, Y259, S97, S96, N98, I187, A188, R189, Y132, V130, T133, P131
13	-7.55	Y259, I287, S96, G95, R296, D289, D93, I179, L91, Y132, G291, T133, T292, T293, Q134, G135, F169, W176, K168, I171
14	-7.89	E326, R296, T293, T292, D289, G291, T133, Q134, D93, Y259, S96, Y192, G135, L91, I171, W176, K168, F169, I179, G95
15	-6.68	Q364, V422, L367, Q365, R368, V397, E400, P369, G219, G217, A218, F220, K70, V370, G72, S71, P221, L222
16	-7.06	K285, I287, T390, R296, V393, Y259, D289, G95, T292, G291, D93, T133, S96, Y132, Q134, G135, L91, I179, W176, I171, K168, F169
17	-8.34	G219, P369, F220, V370, L-218, G371, P221, A218, G217, E400, S71, G72, K70, N-223, L222

18	-8.41	V370, P221, G72, L222, P369, R368, F220, S71, K70, L367, G219, V397, A218, G217, Q364, Q365, E400, V422
19	-7.59	G72, S71, V397, K70, L367, Q365, R368, P369, V370, E371, P221, L222, G217, F220, G219, V422
20	-9.57	Y259, S97, N98, I187, R189, G95, D93, D289, L91, G291, T292, T293, R296, V130, P131, Y132, T133, F169, G135, Q134, K168, I171, F170, W176
21	-6.31	W176, I179, L91, F169, D93, G291, S96, G135, Y132, Q134, T133, T390, R296, V393, I287, D93, S96, G291, G95, Y259, D289, T292, T293, I287,
22	-9.19	D93, S290, G291, T292, R296, G74, T293, N294, S71, Y75, Q73, S386, G72, I171, K168, Q134, F169, G135, W176, L91
23	-9.07	I187, R189, S97, Y259, S96, G95, I179, I287, D93, L91, D289, G291, V130, P131, Y132, T133, Q134
24	-6.41	R189, V130, P131, Y132, Q134, T133, R296, V393, I287, T390, T292, D289, G291, Y259, G95, D93, S96, I87, S97, A188, N98
25	-6.58	I179, V130, R189, N98, P131, I187, TRY259, I179, Q134, Y132, T133, S97, S96, G95, D289, R296, V393, I287, Y259, T390, I187, D93, G291, T292
26	-11.11	D192, S193, K126, L194, E195, L124, L141, N159, T142, A158, R157, S200, K203, Q204
Atabecestat	-8.64	V130, P131, R189, A188, I187, G95, S96, S97, T133, N98, Y132, Q134, F169, F170, G291, T292
Elenbecestat	-9.75	P253, E441, D442, M440 D439, M349, T353 E351, G350, V352, N354, L438, Q355, T437, D439
Lanabecestat	-8.72	V130, P131, Q134, Y132, T133, S96, T292, G95
Ly3202626	-10.82	D-372, C-380, E371, T-375, P369, D-379, Q-377, P221, F220, G219, H423, D424
Umibecestat	-7.79	D289, D93, K285, G95, G29, L91, T292, T293, Y259, S96, S97, I187, N98, A188, R189, V130, P131, Y132, T133, Q134, F170, F169, G135, K168, I171, W176
Verubecestat	-8.61	T133, Y132, Q134, S96, G95, T292, G291, D93, K168, F169, F170, I171

Tabla 15. Valores de delta G ( $\Delta G$ ) obtenidos del Docking dirigido entre BACE1 y los 26 derivados de guanidinobenzotiazoles, así como los aminoácidos de interacción a 5 Å

Compuesto	$\Delta G$	Residuos
1	-7.73	K168, F169, G135, Q134, Y132, T133, W176, I179, L91, S96, D93, G95, G291, T94, T292, D289
2	-7.43	W176, I179, L91, S96, D93, G291, G95, T292, S290, D289, Y259, I287, F169, K168, G135, Y132, Q134, T133
3	-6.14	N98, D93, S97, R189, S96, I187, Y259, I287, V393, V130, P131, Y132, T133, G291, T292, D289, V393
4	-7.39	W176, L91, I179, F169, K168, G135, Q134, Y132, T133, D93, S290, G291, T292, T94, D289, G95, S96, I287, Y259
5	-6.27	R296, V393, T390, I287, Y259, I187, R189, S97, N98, S96, V130, G95, P131, D93, Y132, D289, G291, T133, T292
6	-6.36	T292, G291, D289, D93, T133, G95, Y132, S96, P131, V130, N98, S97, R189, I187, Y259, I287, T390, V393, R296
7	-8.83	K168, F169, G135, P131, Q134, Y132, Q134, T133, S96, W176, I179, L91, D93, G291, T292, T94, Y259, S290, D289, I287
8	-7.57	V130, R189, N98, S97, I187, S96, D93, G95, Y259, D289, I287, K285, V393, R296, S388, T390, T133, T133, Y132, P131
9	-7.78	R189, N98, S97, I187, V130, P131, Y132, S96, Y259, D93, G95, T133, Q134, G291, D289, T292, I287, V393, R296, S388, T390, K285
10	-7.59	Y259, I287, S96, G95, D289, D93, I179, G291, T292, W176, I171, L91, Y132, T133, Q134, G135, K168, F169, W176
11	-7.01	Y259, I287, D289, S96, G95, D93, G291, T292, L91, W176, K168, F169, G135, Q134, T133, Y132, I179
12	-7.08	K136, Y132, G135, Q134, K168, F169, G95, I179, G95, D93, D289, S290, L91, V-92, G291, T292, T293, A396, G72, S71, K70, Y75, G74, W176, I171
13	-7.77	K285, T390, I287, V393, R296, Y259, I187, A188, R189, S97, S96, G95, D289, T133, Q134, P131, V130, N98, T292, G201
14	-8.12	Y259, S96, G95, D93, D289, L91, G291, W-175, T292, T293, Y132, T133, G135, F169, Q134, K168, I171
15	-7.02	W176, L91, I179, I171, F170, F169, K168, D93, G291, T94, W-292, D289, G95, S96, K136, Q135, G134, Y132, T133
16	-7.45	W176, I179, L91, D93, G291, S96, T292, G95, D289, Y259, I287, K285, T133, Y132, Q134, G135, F169, K168
17	-7.27	Y259, K285, G95, I287, D93, L91, D289, G291, W176, V393, T292, R296, Y132, T390, T133, G135, F169, Q134, K168
18	-6.9	A188, N98, R189, I187, S96, Y259, G95, G291, D289, I287, T292, V393, R296, V130, P131, Y132, T133, Q134
19	-8.06	K168, F169, G135, W176, I179, L91, Q134, Y132, T133, T292, G291, S96, D93, S96, G95, D289, T94, Y259, I287
20	-9.89	K285, T390, I287, V393, R296, Y259, I187, A188, R189, S97, S96, G95, D289, N98, V130, P131, Y132, D93, T133, G291, T292, Q134, G135, L91, I179, F169
21	-6.63	V130, P131, R189, Y132, Q134, T133, S97, S96, I187, D93, G291, T292, D289, T390, Y259, R296, I287, K285, V393
22	-9.29	Y132, D93, S290, G291, Q134, T292, Q134, N-296, S386, N294, T293, S71, G72, Y75, G74, Q73, G135, I179, L91, F169, K168, W176, I171
23	-9.28	K285, T390, I287, R296, Y259, I187, A188, R189, S97, S96, G95, D289, T133, G291, T292, Q134, G135, L91, I179, F169, N98, V130
24	-6.92	R189, N98, A188, V130, S97, I179, S96, D93, G95, Y259, D289, G291, I287, V393, R296, T292, P131, Y132, T133, Q134
25	-7.34	R189, A188, I187, N98, S97, S96, Y259, G95, I179, D93, I287, D289, G291, V393, T292, R296, V130, P131, Y132, T133, Q134, T390
26	-11.35	S96, G95, I287, D289, Y132, G291, T292, T133, T293, N294, R296, S386, Q134, G135, F169, I171, K168, W176, I179, L-92, D93
Atabecostat	-8.11	F169, G135, Y132, Q134, T133, S96, I179, I171, W176, L91, D93, V-92, Q73, G74, Y75, Y259, T390, K285, I287, T292, S290, D289, T293, A396, G72, S71

Elenbecestat	-10.87	F169, G135, I179, Q134, L91, T292, G291, S290, T293, D289, R296, V393, I187, G95, S96, T133, Y132, P131, T293
Lanabecestat	-8.99	V130, P131, S96, G95, Y132, T133, T292, T293
Ly3202626	-10.29	G95, V393, G291, T292, THJR-293, G72, F169, Q134, T133, Y132
Umibecestat	-8.13	V130, P131, R189, A188, N98, I187, S97, S96, Y132, T133, I179, Q134, G135, F169, F170, K168, I171, W176, L91, Y259, G95, D93, L91, G291, T292, Q73, D289, I287, T293,
Verubecestat	-8.72	S96, G95, D93, D289, G291, T292, T293, N294, G72, Q134, T133, Y132