



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Posgrado en Ciencias Químicas

Instituto de Ciencias-Facultad de Ciencias Químicas

Tesis de Maestría

“Aplicación de la (3R,8S,8aS)-8-bromo-3-fenilhexahidro-5H-oxazolo[3,2-a]piridin-5-ona en el diseño *in silico* de derivados piperidínicos como inhibidores de la β -secreteasa-1”

Para obtener el título de

Maestra en Ciencias Químicas

Presenta

Quím. Carla Aguirre Cabrera

Directora de tesis

Dra. María Laura Asunción Orea Flores

Codirector de tesis

M. en C. Alan Carrasco Carballo

Abril 2022





El presente trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Química Orgánica del Centro de Química del Instituto de Ciencias y en Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, bajo la dirección de la Dra. María Laura Asunción Orea Flores y el M. C. Alan Carrasco Carballo.

Este trabajo fue desarrollado con el apoyo económico de la beca CONACYT con número de registro 758811 y con el financiamiento otorgado por la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado con el proyecto 100130955-VIEP2022.

Como resultado de este trabajo de tesis se presento en el siguiente evento.

Brain awareness Concurso de Carteles de la Semana Internacional del Cerebro 2020 programa realizado por la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, con el proyecto titulado “Design of β -secretase-1 inhibitor derivatives related to Parkinson and Alzheimer diseases”, Galardonado con el **2° lugar en la categoría de Posgrados.**

ÍNDICE

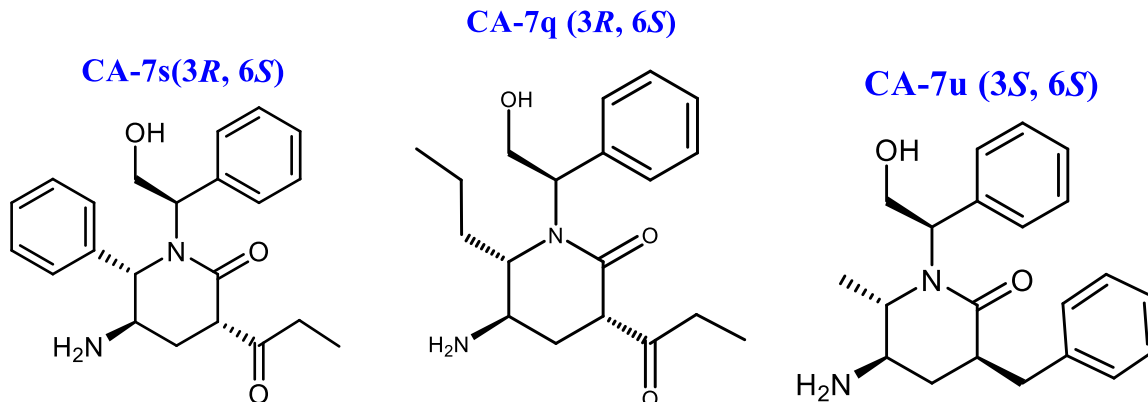
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	4
1.1 Síntesis de la coniína	4
1.2 Síntesis de (-)-dihidropinidina y (+)-indolizidina 167B	5
1.3 Síntesis de la indolizidina (+)-209B	6
1.4 Herramientas bioinformáticas en la síntesis.	7
OBJETIVOS	8
Objetivo general	8
Objetivos particulares	8
CAPITULO 2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	9
1.1 METODOLOGÍA	9
1.2 Swiss Target Prediction (STP)	10
1.4 Potencial efecto inhibidor de los derivados piperidínicos sobre BACE-1	20
1.5 Análisis Energético de acoplamiento molecular con la BACE-1	26
1.6 Análisis estadístico del Docking con BACE-1	31
1.7 Estabilidad estructural y análisis interaccional	38
1.7.1 Serie CA-1	38
1.7.2 Serie CA-2	41
1.7.3 Serie CA-3	43
1.7.4 Serie CA-4	50
1.7.5 Serie CA-5	59
1.7.6 Serie CA-6	66
1.7.7 Serie CA-7	74
1.8 Selección de candidatos	82
CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFÍA	84

RESUMEN

La síntesis de alcaloides que contienen en su estructura enamidas endocíclicas derivadas del (*S*)-(+)- y (*R*)-(-)-2-fenilglicinol son utilizadas como material de partida para preparar lactamas bicíclicas enantiopuras. Estas lactamas son intermediarios en la síntesis de alcaloides piperidínicos, muchos de los cuales tienen propiedades farmacológicas importantes por lo tanto, son blancos específicos de nuevas técnicas de síntesis. Particularmente las lactamas bicíclicas derivadas de *R*-(-)- y *S*-(+)-2-fenilglicinol han surgido como herramienta para incorporar estereoselectivamente diversos radicales en diferentes posiciones del anillo de piperidina. En este trabajo se presenta el diseño *in silico* de derivados piperidínicos y se propone una ruta sintética de los compuestos con mayor potencial biológico contra enfermedades neurodegenerativas.

Cada uno de los 400 compuestos propuestos fueron analizados en la plataforma de Swiss-Target-Prediction dando como resultado un mayor potencial en enfermedades relacionadas a la trombina, la fosfodiesterasa 10A (PDE10A) y la β -secreasa-1. Siendo esta última la enzima de mayor relevancia por estar relacionada con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Debido a esto se decidió trabajar con ésta para realizar el estudio de acoplamiento molecular de los compuestos propuestos a través de su interacción con la β -secreasa-1.

Los compuestos con mejores interacciones a nivel *in silico* con β -secreasa-1 fueron las series CA-5 y CA-7 las que presentaron una diferencia estadística ($p < 0.05$), lo que resulta en presentar energías de acoplamiento competitivas con los 2 inhibidores de referencia (MK-8931 (comercial) y EJ7 (preclínico)). En conjunto con el análisis interaccional, se llevó a cabo la selección de los candidatos a síntesis los cuales fueron CA-7s (3*R*, 6*S*), CA-7q (3*R*, 6*S*) y CA-7u (3*S*, 6*S*).



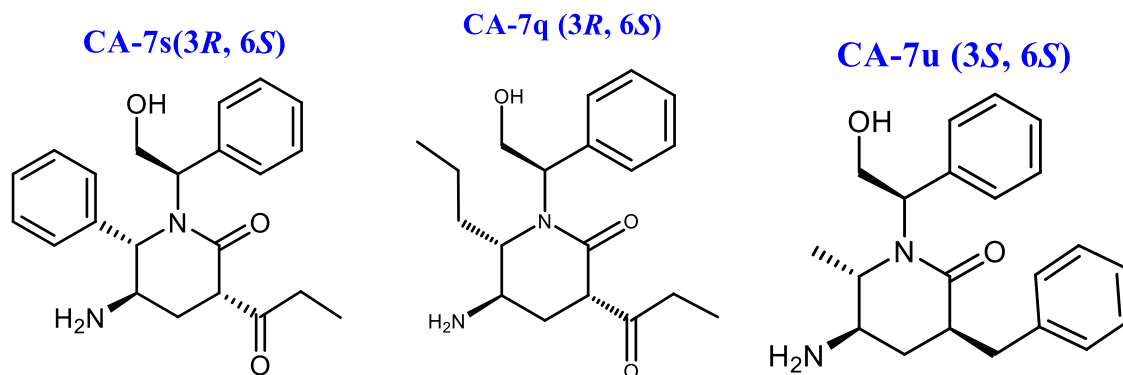
ABSTRACT

Alkaloid synthesis with endocyclic enamides derived from (*S*)-(+)- and (*R*)-(-)-2-phenylglycinol have been employed as starting materials to prepare enantiopure bicyclic lactams. These lactams are intermediates in piperidine alkaloid synthesis, most of which have important pharmacological properties, a reason to be used in new synthesis techniques.

Specifically, bicyclic lactams derived from (*S*)-(+)- and (*R*)-(-)-2-phenylglycinol have been used as a tool to stereoselectively incorporate radicals in different locations in the piperidine ring. In this work the *in silico* design of piperidine derivatives is presented and a synthetic route of the compounds with greater biological potential against neurodegenerative diseases is also exposed.

The 400 proposed compounds were analyzed in Swiss-Target-Prediction platform, showing greater potential in thrombin, phosphodiesterase 10A (PDE10A) and β -secretase-1 related diseases. Being the last one of greater importance due to its relationship with the development of Alzheimer disease. For this reason, docking was performed on the proposed compounds through their β -secretase-1 interaction.

Compounds with the best *in silico* interactions with β -secretase-1 were CA-5 and CA-7 series, with a statistical difference ($p < 0.05$) and as a consequence they present competitive docking scores with 2 of the reference inhibitors (MK-8931 (commercial) and EJ7 (pre-clinic)). In conjunction with interactional analysis, CA-7s (3*R*, 6*S*), CA-7q (3*R*, 6*S*) and CA-7u (3*S*, 6*S*) were chosen from all prospective candidates to be synthesized.



INTRODUCCIÓN

Los alcaloides son uno de los grupos más diversos de metabolitos secundarios encontrados en los organismos vivos y tienen una variedad de estructuras, vías biosintéticas y actividades farmacológicas. Un alcaloide se define, según Pelletier como: “un compuesto orgánico cíclico que contiene un nitrógeno en un estado de oxidación negativo con distribución limitada entre los organismos vivos”. [1] Estructuralmente, muchos de los alcaloides son heterociclos que contienen un átomo de nitrógeno, además de uno o varios centros estereogénicos (Figura 1).

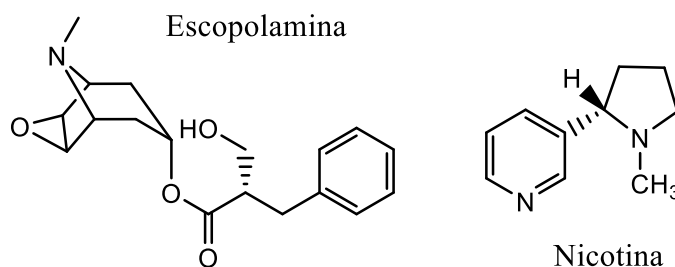


Figura 1. Alcaloides nitrogenados piperidínicos.

Los alcaloides constituyen una gama diversa de productos naturales con diferentes actividades biológicas, así como usos farmacéuticos. Debido a que éstos se encuentran en pequeñas cantidades en los seres vivos, es de interés para la síntesis asimétrica, desarrollar rutas sintéticas para acceder a estos compuestos en términos de respeto por el ambiente, pureza química (pureza estereoquímica) y economía. [2] **La síntesis asimétrica se ha convertido en una de las áreas más importantes dentro de la química orgánica y de utilidad para otras áreas de la ciencia, ya que permite obtener compuestos enantioméricamente puros,** cuestión de gran interés para la síntesis de nuevos fármacos. Lo anterior se debe a que los seres vivos estamos constituidos por receptores quirales, lo cual significa que cada receptor interacciona únicamente con uno de los enantiómeros. Por esta razón, la configuración absoluta de los compuestos juega un papel importante en la actividad biológica del mismo. Tal es el caso de la talidomida, desarrollado como sedante y calmante de náuseas para mujeres embarazadas, cuyo enantiómero levógiro se descubrió que provocaba anomalías congénitas, ocasionando deformaciones en el feto. [2]

Por lo tanto, uno de los retos importantes en síntesis asimétrica es la generación de intermediarios quirales enantiopuros que sean química y estereoquímicamente estables en las condiciones de reacción a las cuales se sometan para ser convertidos en otros intermediarios. En este sentido, el grupo de investigación donde se desarrolló el presente proyecto de tesis, ha reportado desde hace varios años la síntesis asimétrica de compuestos piperidínicos utilizando como materia prima a las sales de piridonio que tienen incorporado como auxiliar

quiral el (*R*)-(-)-2-fenilglicinol.[3] Este mismo grupo de investigación ha reportado la síntesis enantiopura de varios alcaloides, entre ellos a laconiina, [4] la (-)-dihidropinidina, [5] y la (+)-indolizidina 209B. [6] (Figura 2)

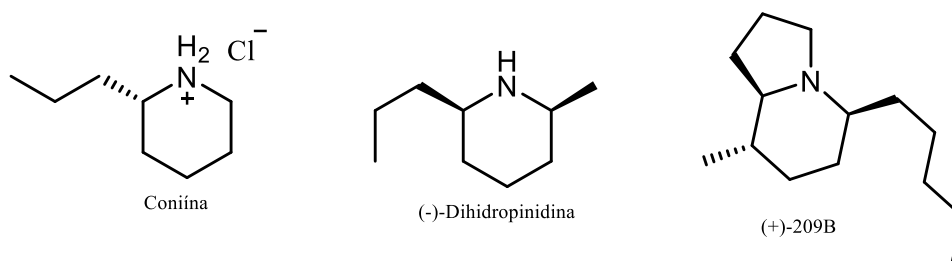


Figura 2. Derivados piperidínicos de importancia biológica.

Por lo que la síntesis enantiopura de derivados de la piperidina ha atraído considerablemente la atención en los últimos años. En particular la síntesis de lactamas bicíclicas derivadas de *R*-(-)- o *S*-(+)-2-fenilglicinol ha surgido como materia prima fundamental, ya que permiten la incorporación estereoselectiva de diversos sustituyentes en las diferentes posiciones del anillo de piperidina.[7]

En relación a la actividad biológica de las piperidinas se encuentra reportado una gran diversidad de estudios, particularmente sobre sistema nervioso central, [8, 9]. Aunado a esto, actualmente con el uso de herramientas bioinformáticas se ha avanzado a una era de la síntesis dirigida con importancia biológica. Asmma *et al.*, (2021) sintetizaron lactamas fusionadas a compuestos heterocíclicos incorporando varios fármacos; en dicho estudio se mostró que las lactamas tuvieron excelente actividad antioxidante e inhibición de acetilcolinesterasa. [10]

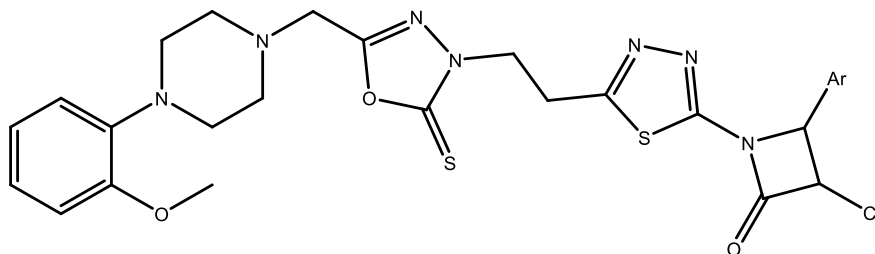


Figura 3. 4-argio-3-chloro-1-(5-(2-(5-((4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazol-3(2*H*)-yl)ethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)azetidin-2-one

Por otro lado, en el estudio realizado por Espadinha *et al.* quienes desarrollaron antagonistas de los receptores de NMDA a partir de lactamas bicíclicas, cuyo mejor compuesto mostró ser 4 veces más potente que la memantina. [11]

Optimización de lactamas bicíclicas

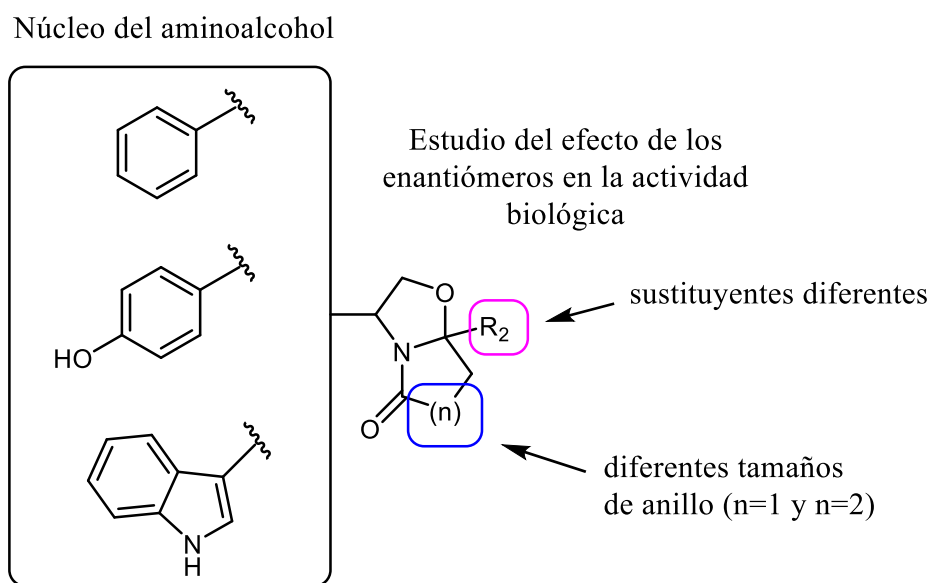
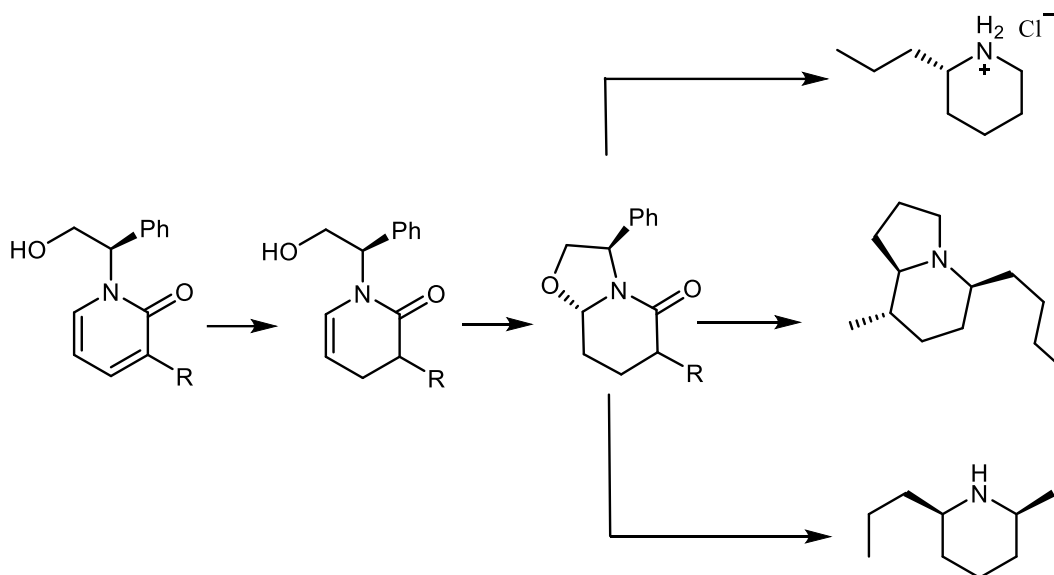


Figura 4. Lactamas bicíclicas como inhibidores del receptor NMDA

En este trabajo se presenta la aplicación del compuesto (3*R*,8*S*,8*aS*)-8-bromo-3-fenilhexahidro-5*H*-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5-ona como material de partida para el diseño *in silico* de compuestos piperidínicos con potencial biológico mediante la plataforma STP, para posteriormente, analizar la energía de acoplamiento sobre el target seleccionada y finalmente elegir los candidatos a síntesis.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

La síntesis del intermediario quiral (*R*)-1-(2-hidroxi-1-feniletíl)piridin-2(1*H*)-ona se realiza en buenos rendimientos por una metodología desarrollada en el laboratorio donde realicé mi tesis. Además, han publicado una serie de resultados que describen la transformación de esta piridona en la enamida endocíclica quiral enantiopura (*R*)-1-(1-(2-hidroxi-1-feniletíl)-3,4-dihidropiridin-2(1*H*)-ona. La versatilidad de ésta última estructura ha demostrado ser un excelente punto de partida para preparar lactamas bicíclicas y sintetizar estereocontroladamente alcaloides, como se observa en el esquema 1. [12-17]

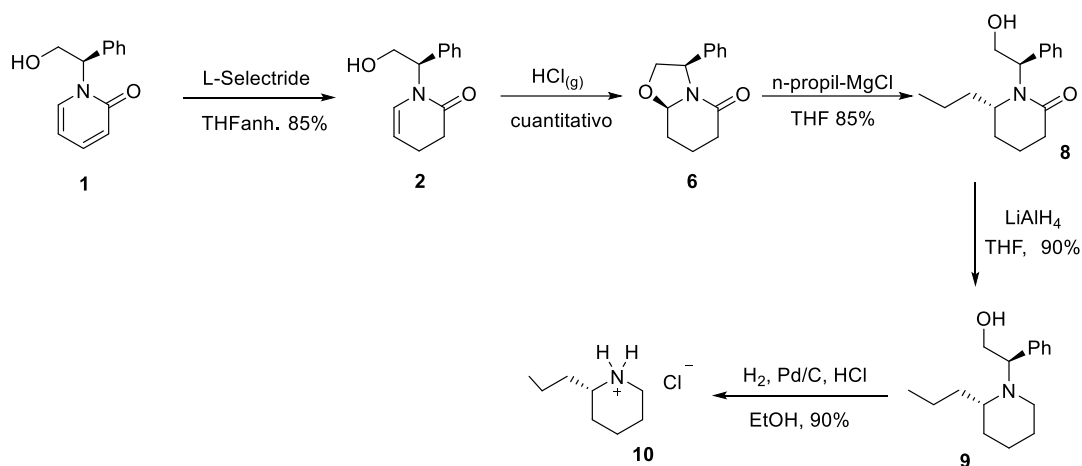


Esquema 1. Síntesis de derivados piperídnicos de importancia biológica.

A continuación, se describe detalladamente cada una de la síntesis asimétrica de los alcaloides del esquema 1, así como la bromación de la (*R*)-1-(2-hidroxi-1-feniletíl)-3,4-dihidropiridin-2(1*H*)-ona.

1.1 Síntesis de la conína

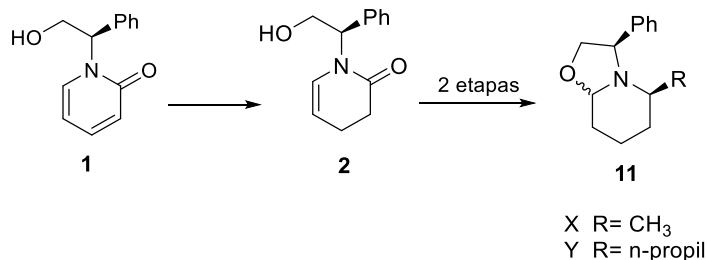
En el 2001 Gnecco y colaboradores reportaron la síntesis de la conína **10**. Realizaron la reducción selectiva del doble enlace de la piridona **1** y generaron la enamida **2**. Este compuesto lo hicieron reaccionar con HCl (g) accediendo al oxazol **6** en rendimiento cuantitativo, posteriormente, llevaron a cabo la apertura con cloruro de *n*-propil magnesio obteniendo el compuesto **8**. Después de la reducción del carbonilo amídico e hidrogenólisis obtuvieron el compuesto **10** con un rendimiento global del 58%. (Esquema 2) [14]

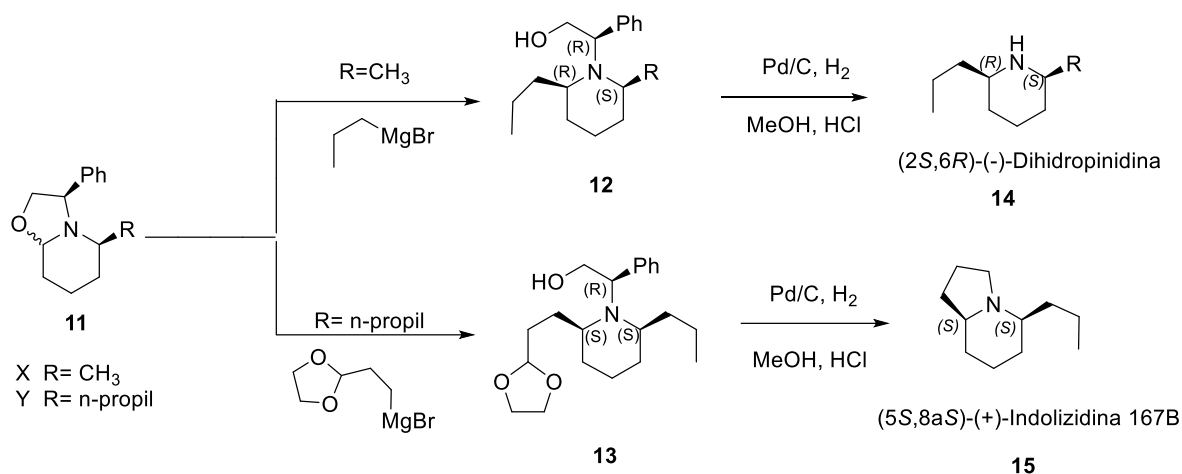


Esquema 2. Ruta sintética para la obtención de la coniina.

1.2 Síntesis de (-)-dihidropinidina y (+)-indolizidina 167B.

En 2004 Roa y colaboradores reportaron la síntesis de la (-)-dihidropinidina y la (+)-indolizidina 167B. Ellos partieron de la piridona **1** la cual redujeron bajo las condiciones establecidas generando el compuesto **2** que después de dos etapas accedieron a las lactamas **11**. Posteriormente, hicieron reaccionar las lactamas bicíclicas **11** con los correspondientes reactivos de Grignard accediendo a los compuestos **12** y **13** en un rendimiento del 90% y 88%, respectivamente. Después de hacer la hidrogenólisis obtuvieron **14** y **15** con rendimientos cuantitativos. Esquema 3. [16]

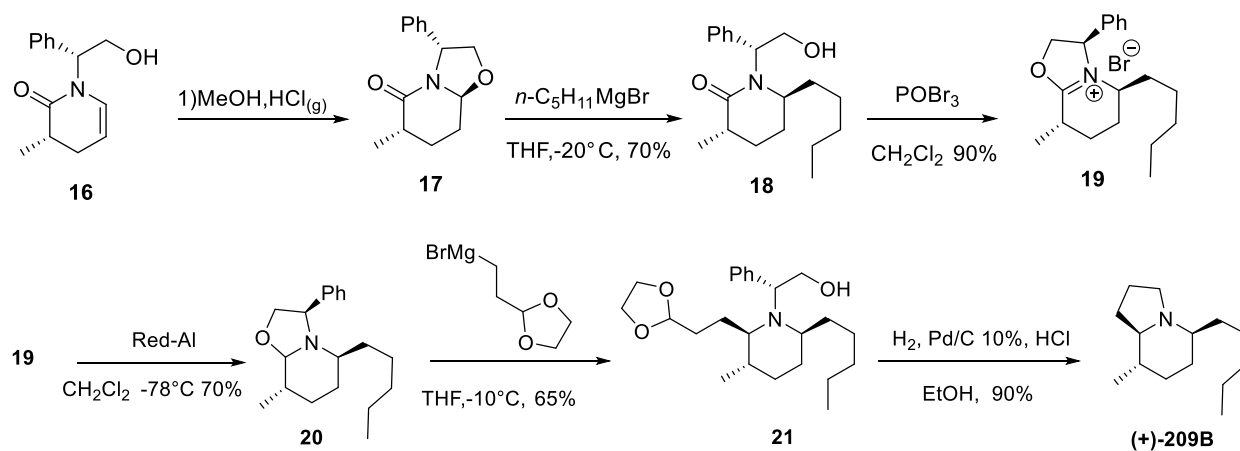




Esquema 3. Síntesis de (-)-dihidropinidina y (+)-indolizidina 167B.

1.3 Síntesis de la indolizidina (+)-209B

En 2009 Gnecco y colaboradores^[17] reportaron la síntesis de la indolizidina (+)-209B. La síntesis de este compuesto se llevó a cabo en seis etapas a partir de la enamida endocíclica quiral **16**. Primero, éste compuesto lo trataron con HCl en metanol y obtuvieron cuantitativamente la lactama **17**. Posteriormente, a **17** lo hicieron reaccionar con el bromuro de pentilmagnesio generando **18** en un rendimiento del 70%. Luego **18** lo trataron con POBr₃ accediendo a **19** y finalmente después de tres etapas obtuvieron la indolizidina (+)-209B con un rendimiento global aproximado del 26%. Esquema 4.



Esquema 4. Síntesis de la indolizidina (+)-209B.

1.4 Herramientas bioinformáticas en la síntesis.

Las nuevas tendencias buscan que la síntesis experimental de nuevos compuestos tenga una aplicación práctica. Aunado a esto, las herramientas bioinformáticas permiten predecir actividades biológicas (*in silico*) de nuevos compuestos antes de ser sintetizados y caracterizados en el laboratorio, acción que incrementa la eficacia y reduce el costo en el proceso de desarrollo de nuevos compuestos con potencial biológico y terapéutico.

El método *in silico* predice un conjunto grande de compuestos y ha sido aplicado en el desarrollo de hipótesis para la acción biológica de nuevos compuestos, incluye bases de datos, relaciones cuantitativas de estructura-actividad, búsqueda de similitud, farmacóforos y herramientas de análisis de datos, entre otros. Tales métodos han sido utilizados con frecuencia en el descubrimiento y optimización de nuevas moléculas con afinidad a un target y en los procesos de absorción, distribución, metabolismo, excreción (ADME) y toxicidad. [18].

Una plataforma utilizada para la predicción del target más probable relacionada con moléculas pequeñas es Swiss Target Prediction. Por ejemplo, en un estudio realizado por Liu *et al.* en el que se exploró el mecanismo que la fruta de guaraná tiene sobre el sistema nervioso central, se predijeron los posibles targets para cada componente en estudio en STP. Relacionaron los componentes del guaraná-target-gen-enfermedad verificando la función principal por docking molecular.

Relacionado a lactamas bicíclicas por docking molecular, Espadinha *et al.* desarrollaron antagonistas al receptor *N*-Metil-D-aspartato (NMDA). La activación de los receptores NMDA se ha asociado a la pérdida neuronal y enfermedades como el Parkinson y el Alzheimer. Recientemente, la acción sobre el receptor de NMDA ha sido considerado un método efectivo para el tratamiento de dichas enfermedades. Los mismos autores mostraron que el mejor compuesto fue 4 veces más potente que la memantina, un antagonista de los receptores NMDA y de uso clínico para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. [19]

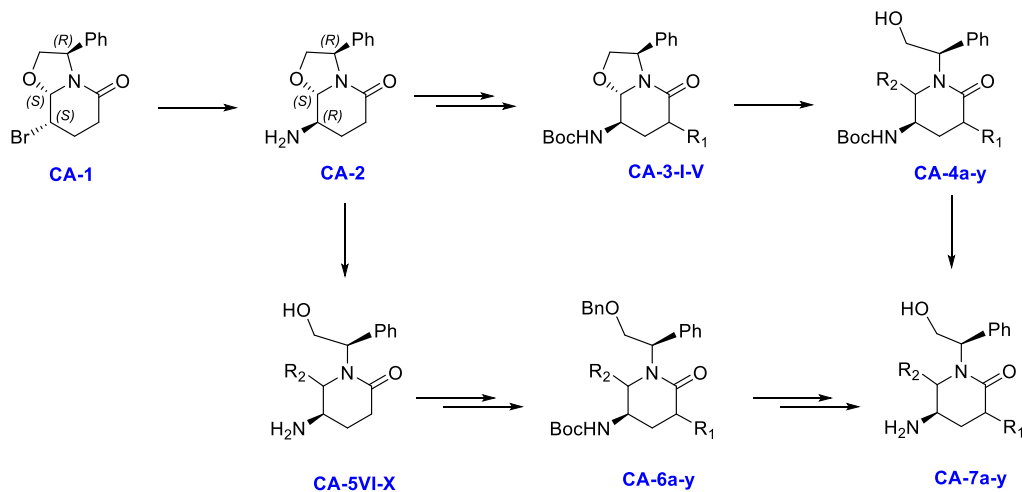
OBJETIVOS

Objetivo general

Diseñar *in silico* derivados piperidínicos inhibidores de la β -secreasa 1; un blanco terapéutico en las enfermedades neurodegenerativas.

Objetivos particulares

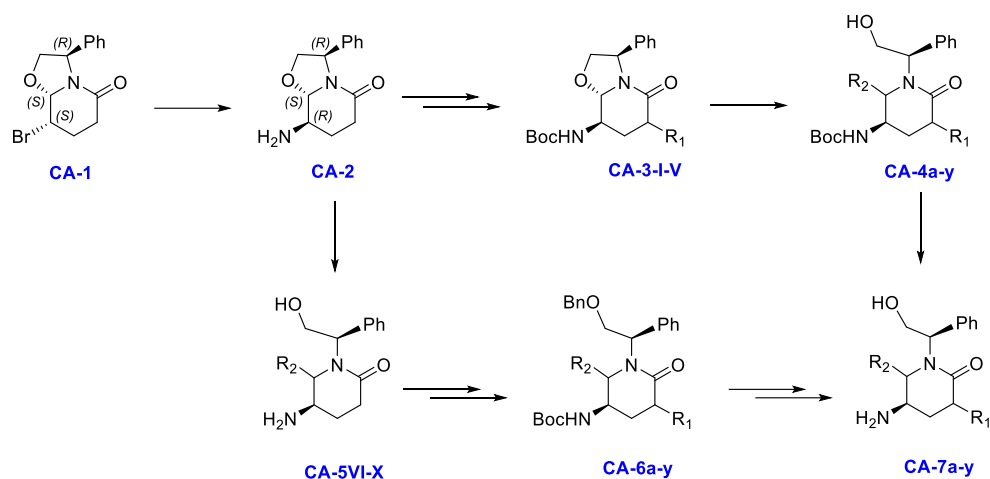
- Elegir el target biológico mediante el análisis bidimensional de las moléculas propuestas por Swiss Target Prediction.
- Analizar por docking molecular las interacciones moleculares con la β -secreasa 1 de las moléculas propuestas.
- Analizar el efecto de la diastereoisomería en la interacción molecular *in silico*.
- Seleccionar los compuestos con mejor potencial inhibitorio de la β -secreasa 1.



CAPITULO 2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1.1 METODOLOGÍA

De acuerdo a la experiencia de nuestro grupo de investigación y de los resultados obtenidos en la síntesis del (3*R*,8*S*,8*aS*)-8-bromo-3-fenilhexahidro-5H-oxazolo[3,2-*a*]piridin-5-ona se planteo el esquema de reacción 5, para obtener derivados piperidínicos introduciendo grupos alquilo en las posiciones 3 y 8*a* con el objetivo de analizar el efecto del grupo R, mediante herramientas bioinformáticas, en el potencial biológico contra patologías humanas.



Esquema 5. Propuesta sintética.

El proyecto se dividió en etapas, las cuales se observan en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, partiendo de moléculas diseñadas.

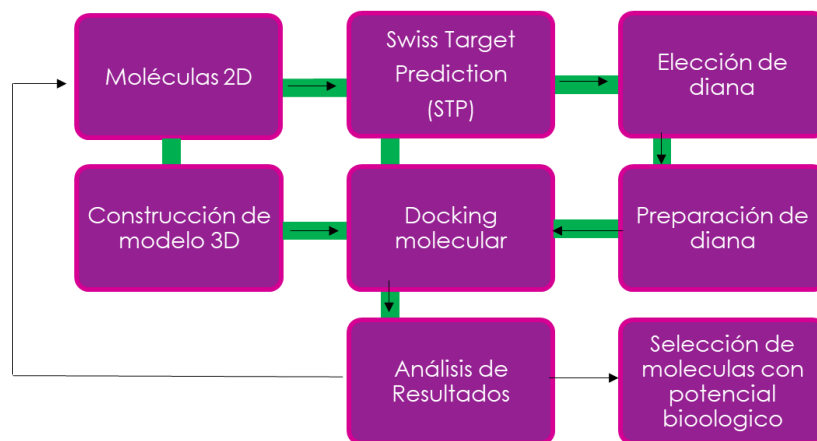


Figura 5. Esquema de trabajo.

El modelamiento de las moléculas propuestas en 2D se llevó a cabo en el programa ChemDraw Professional 17.1. Posteriormente, estas moléculas se ingresaron en la plataforma Swiss Target Prediction (STP), la cual es una plataforma de biocomparación que se encuentra en línea y predice los targets más probables de moléculas pequeñas, cuyas predicciones se basan en el principio de similitud. Los resultados obtenidos de dicha plataforma fueron analizados. Con este análisis se construyeron las gráficas de target de frecuencia estructural, construidas en Microsoft Excel y para saber qué compuestos podrían tener una interacción favorable con qué target. De esta manera se pudo elegir el target objetivo.

Para llevar a cabo el estudio de acoplamiento molecular (docking), el target elegido se preparó a pH fisiológico, se le adicionaron hidrógenos y se eliminaron las moléculas de agua. Por otro lado, los ligandos se construyeron en modelo 3D tomando en cuenta la estereoquímica para poder calcular la energía de acoplamiento entre el target y los ligandos. Posteriormente, se realizó el análisis de resultados, escogiendo como candidato ideal a aquella estructura con mejor energía de acoplamiento, para que finalmente se obtenga la ruta retrosintética para su posterior síntesis en el laboratorio.

Los resultados obtenidos de la metodología previamente descrita se dividieron en 3 secciones; la primera consta del análisis de potencial de las moléculas diseñadas, en la segunda se analiza el efecto *in silico* sobre el target seleccionado, así como el efecto de la estructura a nivel estadístico y químico y en la sección 3 se propondrá la ruta retrosintética estereoespecífica para los derivados con mayor potencial biológico.

1.2 Swiss Target Prediction (STP)

La primera herramienta bioinformática que se utilizó fue el STP para determinar los targets candidatos a evaluación por acoplamiento molecular, así como delimitar las enfermedades relacionadas con estos y elegir las de mayor frecuencia. La identificación de un target es un proceso crucial para entender el mecanismo de acción de compuestos activos, para lo cual existen diversos métodos experimentales como la cromatografía de afinidad; sin embargo, este tipo de enfoque es laborioso, costoso y en ocasiones no fructífero. En cambio, la identificación de targets por identificación computacional (target prediction) es poco costosa y efectiva, que puede reducir targets potenciales a uno cuantos de los candidatos más probables. Existen diferentes herramientas computacionales, en este caso STP utiliza la

búsqueda por similitud química, la cual se basa en la observación de que compuestos con similitud estructural generalmente tienen actividades biológicas parecidas. [20]

Con la finalidad de estudiar el efecto del grupo alquilo R se eligieron de menor a mayor volumen estérico en las posiciones 3 y 6 generando un total de siete series, los cuales se enlistan en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. R1= Electrófilos para la serie 3, R2= Nucleófilos para la serie 5.

	R ₁		R ₂
I	CH ₃	VI	CH ₃
II	CH ₃ CH ₂	VII	CH ₃ (CH ₂) ₂
III	CH ₃ (CH ₂) ₃	VIII	<i>i</i> -Pr
IV	CH ₃ CH ₂ CO	IX	Ph
V	Bn	X	Bn

Tabla 2. Combinación de radicales R1 y R2 para las series 4, 6 y 7.

	R ₁	R ₂		R ₁	R ₂
a)	CH ₃	CH ₃	n)	CH ₃ (CH ₂) ₂	Ph
b)	CH ₃	CH ₃ (CH ₂) ₂	o)	CH ₃ (CH ₂) ₂	Bn
c)	CH ₃	<i>i</i> -Pr	p)	CH ₃ CH ₂ CO	CH ₃
d)	CH ₃	Ph	q)	CH ₃ CH ₂ CO	CH ₃ (CH ₂) ₂
e)	CH ₃	Bn	r)	CH ₃ CH ₂ CO	<i>i</i> -Pr
f)	CH ₃ CH ₂	CH ₃	s)	CH ₃ CH ₂ CO	Ph
g)	CH ₃ CH ₂	CH ₃ (CH ₂) ₂	t)	CH ₃ CH ₂ CO	Bn
h)	CH ₃ CH ₂	<i>i</i> -Pr	u)	Bn	CH ₃
i)	CH ₃ CH ₂	Ph	v)	Bn	CH ₃ (CH ₂) ₂
j)	CH ₃ CH ₂	Bn	w)	Bn	<i>i</i> -Pr
k)	CH ₃ (CH ₂) ₂	CH ₃	x)	Bn	Ph
l)	CH ₃ (CH ₂) ₂	CH ₃ (CH ₂) ₂	y)	Bn	Bn
m)	CH ₃ (CH ₂) ₂	<i>i</i> -Pr			

Dado que la plataforma STP es una herramienta bionformática de comparación estructural en dos dimensiones los efectos de estereoquímica se desprecian, a fin de comprobar esto, se evaluaron los 2 diastereoisómeros de CA-3II (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) en donde se puede observar que la estereoquímica no genera un efecto sobre los targets.

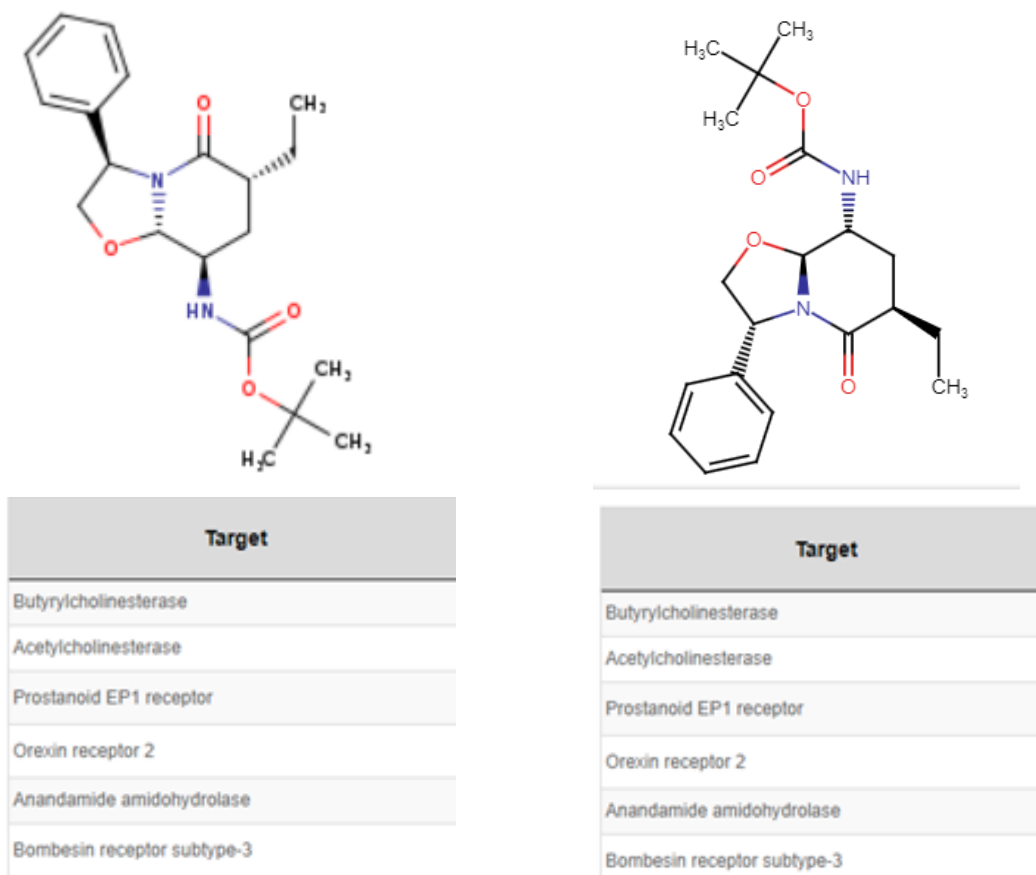
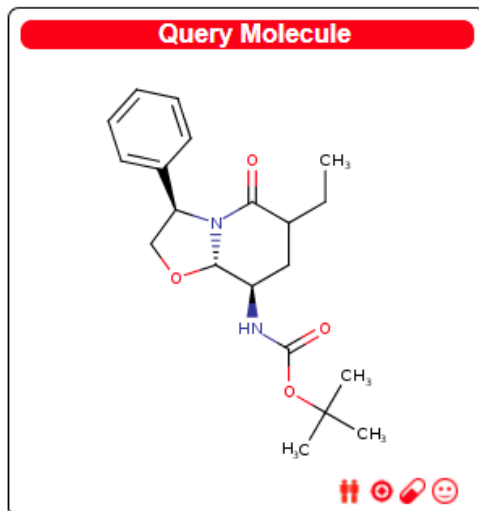


Figura 6. Comparación del efecto estereoquímico de los derivados piperidínicos por STP.

Se estudiaron 87 compuestos (sin considerar estereoquímica) que fueron sometidos al análisis por STP, se obtuvieron los mejores targets, se obtuvo cuántos de los compuestos propuestos en la ruta sintética tuvieron interacción con algún target en particular. El análisis se llevó a cabo a partir del compuesto bromado, el cual es el material de partida, para descartar el hecho de que la materia prima fuese mejor candidato para cierto target que los demás compuestos propuestos dentro de la ruta sintética. Cada una de las moléculas fue diseñada en 2D en el programa ChemDraw, sin tomar en cuenta la estereoquímica. Posteriormente, se utilizó el sistema SMILES para ingresarlo a la plataforma STP. La ventaja de esta notación es que permite obtener una especificación meticulosa de la estructura química en código de cadena lineal. Los resultados obtenidos fueron procesados tomando en cuenta los primeros 15 targets, siendo éstas las más representativas para cada compuesto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**)



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Butyrylcholinesterase	BCHE	P06276	CHEMBL1914	Hydrolase	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	55 / 17
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220	Hydrolase	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	90 / 10
Prostanoid EP1 receptor	PTGER1	P34995	CHEMBL1811	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	52 / 0
Orexin receptor 2	HCRTR2	O43614	CHEMBL4792	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	437 / 0
Anandamide amidohydrolase	FAAH	O00519	CHEMBL2243	Enzyme	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	98 / 0
Bombesin receptor subtype-3	BRS3	P32247	CHEMBL4080	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	20 / 0
Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	IDH1	O75874	CHEMBL2007625	Enzyme	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	29 / 0
Metabotropic glutamate receptor 5	GRM5	P41594	CHEMBL3227	Family C G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	222 / 0
Phosphodiesterase 10A	PDE10A	Q9Y233	CHEMBL4409	Phosphodiesterase	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	764 / 0
Kinesin-like protein 1	KIF11	P52732	CHEMBL4581	Other cytosolic protein	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	48 / 0
Melatonin receptor 1A	MTNR1A	P48039	CHEMBL1945	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	280 / 0
Melatonin receptor 1B	MTNR1B	P49286	CHEMBL1946	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	256 / 0
Translocator protein (<i>by homology</i>)	TSPO	P30536	CHEMBL5742	Membrane receptor	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	143 / 0
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductase	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	91 / 0
Monoglyceride lipase	MGLL	Q99685	CHEMBL4191	Enzyme	<div style="width: 100%; height: 10px; background-color: green;"></div>	18 / 0

Figura 7. Targets para la molécula 3II obtenidas por STP.

Los datos obtenidos de los targets fueron condensados en gráficas de frecuencia estructural, tomando en cuenta el criterio 50+1. De manera global, los derivados propuestos en el

esquema 5 se pueden observar en

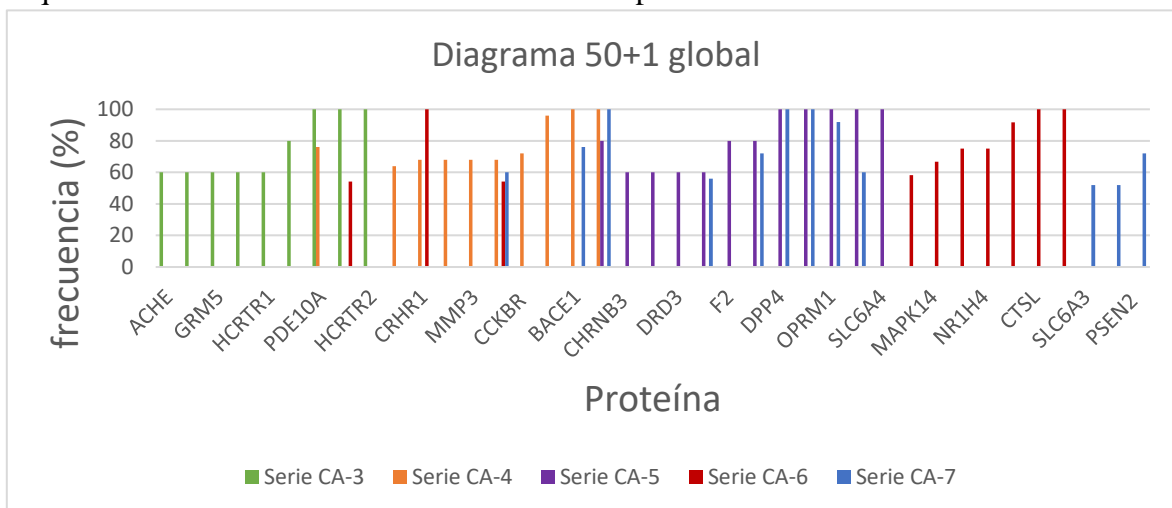


Figura 8. Diagrama 50+1 global de los derivados piperidinicos estudiados.

8, los targets con mayor frecuencia. En la serie CA-3 son fosfodiesterasa 10A (PDE10A) y hipocreatina receptor 2 (HCRTR2); para la serie CA-4, la β -secreteasa-1 (BACE1) y subunidad de receptor colinérgico de la nicotina beta 3 (CHRN3); para la serie CA-5 dipeptidilpeptidasa 4 (DPP4), receptor opioide mu 1 (OPRM1) y acarreador de soluto familia 6 miembro 4 (SLC6A4); para la serie CA-6 catepsin L (CTSL) y acarreador de soluto familia 6 miembro 4 SLC6A; finalmente para la serie CA-7 la presenilina 2 (PSEN2). Esta gráfica se llevó a cabo con el fin de obtener los targets más recurrentes para cada serie de compuestos (Figura 9-12).

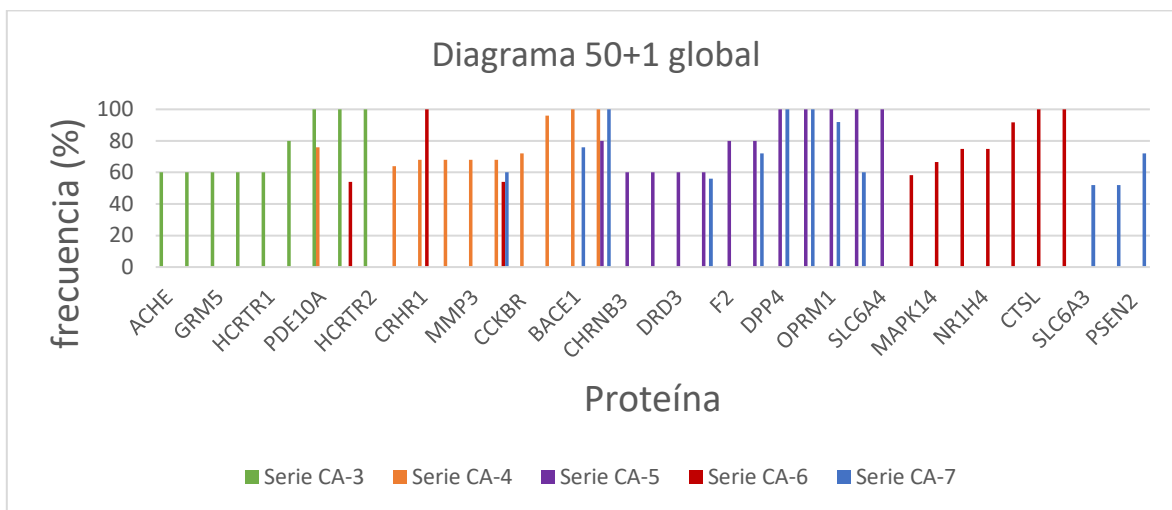


Figura 8. Diagrama 50+1 global de los derivados piperidinicos estudiados.

Dado que los cambios estructurales en la ruta sintética propuesta son significativos, no es adecuado estudiar a todas las moléculas en conjunto; debido a esto, se decidió fragmentar

según el tipo de derivado en la ruta sintética. Para el caso de los derivados CA-1 y CA-2, son moléculas únicas, por lo que no hay un efecto de incidencia con respecto a el target de estudio. Para la serie CA-3 (9), la cual se trata de una lactama bicíclica, que en la posición 3 se agregó el sustituyente R₁ y en la posición cinco el grupo amino se encuentra protegido por Boc. STP arrojó 10 targets que cumplen con el criterio 50+1, destacando las que se muestran en la figura 9.

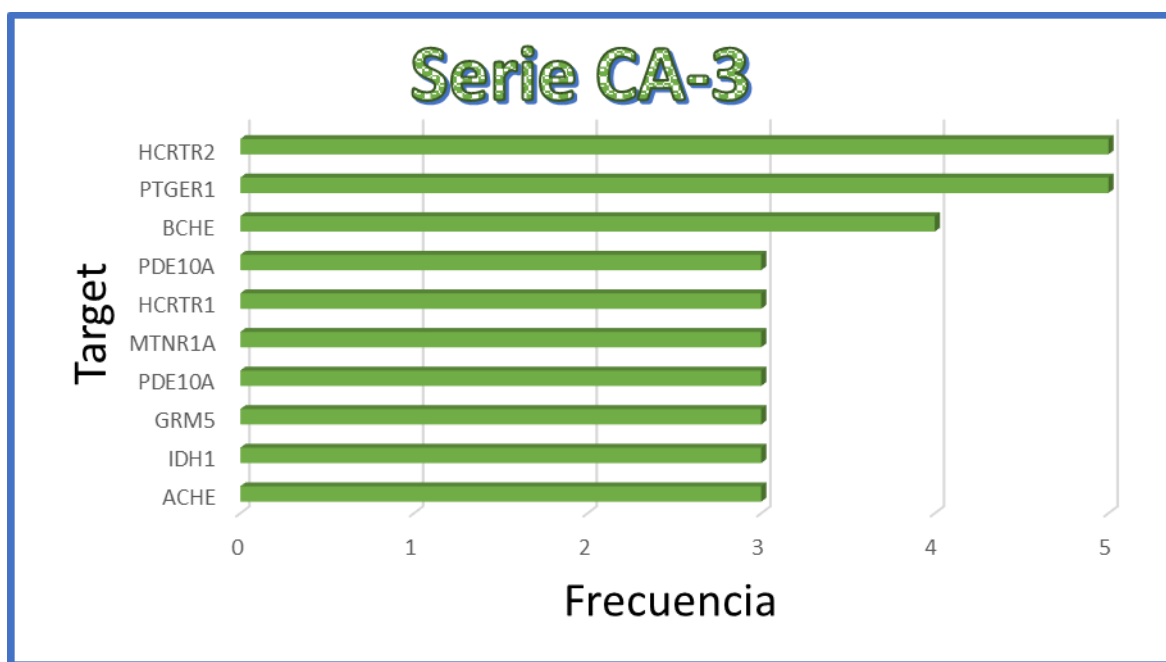


Figura 9. Targets moleculares. Frecuencia para la serie 3 que cumplieron con el criterio 50%+1.

Para la serie CA-4 (

) sólo se repitió la fosfodiesterasa 10A (PDE10A) y se obtuvieron nuevos targets de interés como la trombina (F2) y la β -secreteasa 1 (BACE1), lo que es indicativo de la dependencia con la estructura y como los cambios estructurales que se proponen pueden modificar el potencial biológico.

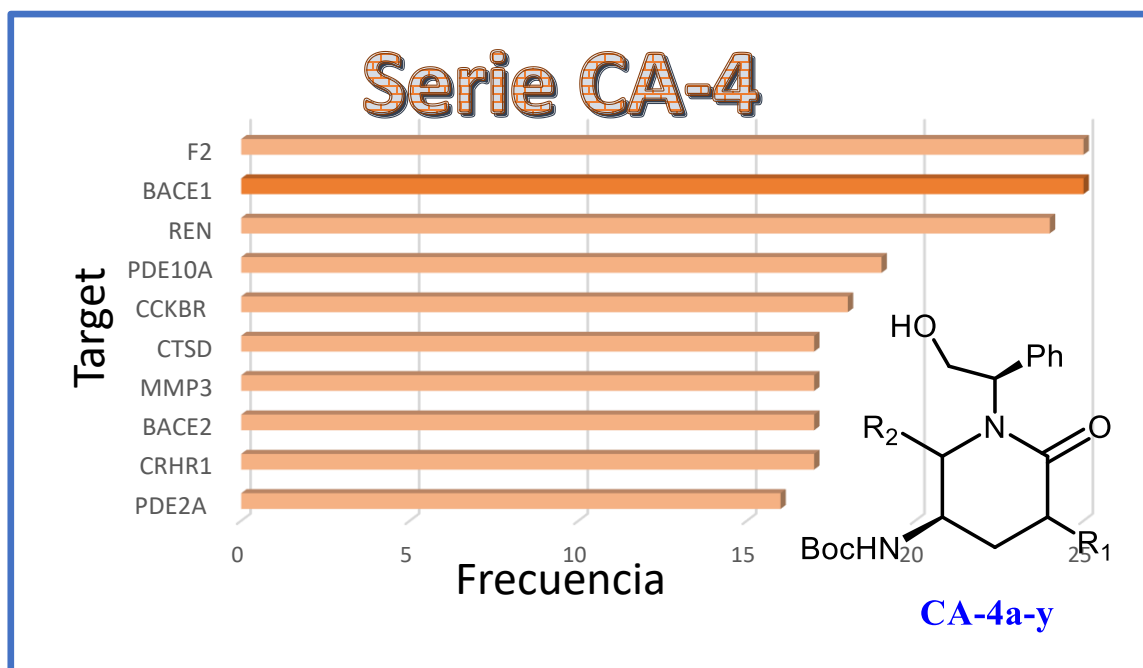
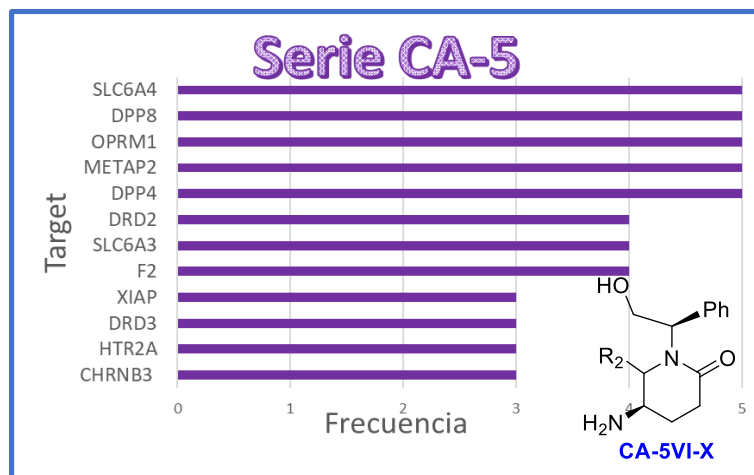


Figura 10. Targets moleculares. Frecuencia estructural para la serie 4 que cumplieron con el criterio 50%+1.

El mismo efecto se obtuvo en las series CA-5, CA-6 y CA-7, se repite algún target observado en las series anteriores; sin embargo, aparecen otros nuevos targets con los que dicha serie de moléculas podría interactuar.



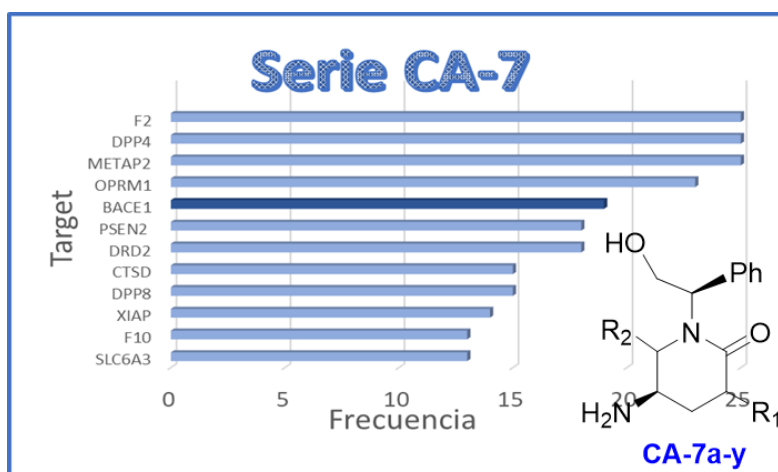
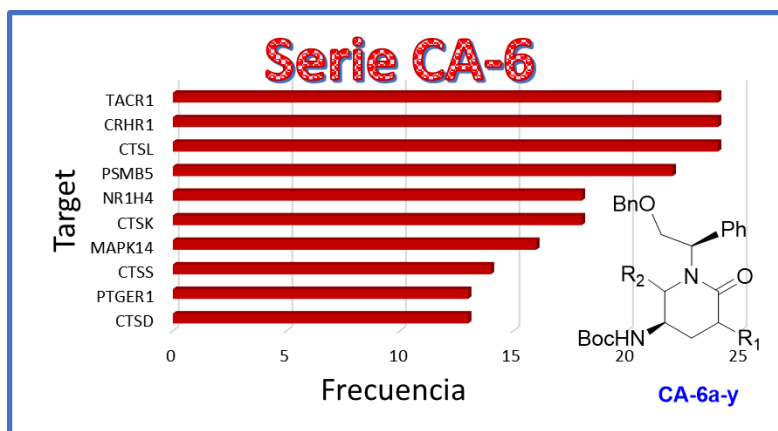


Figura 11. Targets moleculares. Frecuencia estructural para la serie 5, 6 y 7 que cumplieron con el criterio 50%+1.

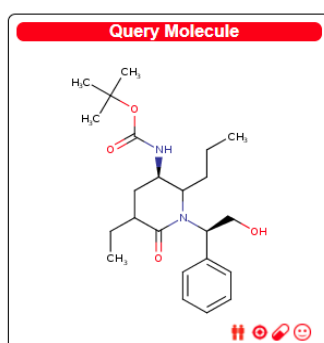
Tomando en cuenta el criterio 50%+1, se obtuvieron los targets con mayor frecuencia en más de una serie. También se llevó a cabo un análisis para determinar el potencial biomédico de los derivados piperidínicos. En la Tabla 3, se enlistan las enfermedades relacionadas a cada uno de los targets obtenidos, destacando la β -secreasa 1, una enzima que ha sido relacionada con enfermedades neurodegenerativas.

Tabla 3. Targets moleculares con mayor frecuencia y sus patologías relacionadas.

Targets moleculares	Enfermedades en los humanos
F2	Enfermedades cardiovasculares, cáncer renal

BACE1	Enfermedades Alzheimer
PDE10A	Cáncer colorrectal
CRHR1	Glioma, cáncer de hígado
DPP4	Cáncer renal y de tiroides
METAP2	Cáncer de hígado, colorrectal, mama y próstata
OPRM1	Melanoma.

La proteína con mayor frecuencia, tomando en cuenta cada una de las moléculas propuestas en la ruta sintética, es la trombina-F2 (Tabla 3), la cual está relacionada con enfermedades cardiovasculares y cáncer renal; sin embargo, no se presentó una alta selectividad, particularmente se demostró con la molécula CA-4g, como se observa en la figura 11.



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Beta-secretase 1	BACE1	P56817	CHEMBL4822	Protease	<div style="width: 10%; height: 15px; background-color: green;"></div>	838 / 336
Renin	REN	P00797	CHEMBL286	Protease	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	617 / 608
Beta secretase 2	BACE2	Q9Y520	CHEMBL2525	Protease	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	43 / 24
Thrombin	F2	P00734	CHEMBL204	Protease	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	100 / 301
Matrix metalloproteinase 3	MMP3	P08254	CHEMBL283	Protease	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	89 / 216
Cholecystokinin B receptor	CCKBR	P32239	CHEMBL298	Family A G protein-coupled receptor	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	94 / 303
Phosphodiesterase 2A	PDE2A	O00408	CHEMBL2652	Phosphodiesterase	<div style="width: 0%; height: 15px; background-color: gray;"></div>	136 / 0

Figura 11. Molécula CA-4g.

La molécula CA-4g fue ingresada a STP para obtener información acerca de las proteínas relacionadas con la misma. El resultado fue que esta molécula interactúa con la β -secreteasa-1 (Tabla 4) de manera exclusiva, lo que significa que este compuesto es altamente específico

y podría ser un buen candidato a síntesis como inhibidor farmacoselectivo de dicha enzima, ya que posiblemente pueda tener una baja probabilidad de efectos secundarios.

Por lo expuesto anteriormente, es que se decidió continuar el trabajo con la β -secreteasa 1 (BACE1), target que ha sido implicado con neuropatías que afectan al SNC, donde la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer, enfermedades con una alta frecuencia en la población adulta mayor. Cabe resaltar que aun no existe cura eficaz para estas y disminuye la calidad de vida de los pacientes. Además, la prevalencia de ambas enfermedades aumentará y tendrán costo excesivo para el sector salud, afectando el presupuesto federal. [21]

1.4 Potencial efecto inhibidor de los derivados piperidínicos sobre BACE-1

La β -secretasa 1 o BACE-1 es una proteasa aspártica transmembrana que pertenece a la familia A1 de las peptidasas. La proteína madura tiene 501 aminoácidos, posee un “pocket” considerado grande, donde se han podido acomodar hasta 11 residuos de aminoácidos. El dominio catalítico tiene 2 motivos de hexapéptidos cada uno con un residuo de ácido aspártico que forma una diada catalítica íntimamente involucrada en la proteólisis de los sustratos. Además tiene una molécula de agua unida a los aspartatos catalíticos y el dominio móvil con la que cuenta sobre el sitio activo, se encuentra en una conformación parcialmente cerrada. La proteína BACE1 se sintetiza inicialmente como zimógeno que se convierte en su forma madura por las convertasas de furina en el aparato de Golgi. Durante su maduración, la BACE1 experimenta varias modificaciones post-transduccionales y su localización intracelular está influenciada por las proteínas regulatorias. [22]

Las placas amiloides, compuestas principalmente por el péptido β -amiloide se forman en el cerebro de los pacientes con Alzheimer y las mutaciones en 3 genes ocasionan comienzo temprano de la enfermedad de Alzheimer tipo Familiar (FAD) incrementando de manera directa el péptido promotor de placa β -amiloide⁴². El péptido β -amiloide es el producto del catabolismo de la proteína precursora del β -amiloide (APP). Los depósitos amiloides ocurren antes de la formación de los ovillos neurofibrilares, que resultan de la agregación intraneuronal del enlace de microtúbulos de la proteína tau debido a la modificación post-traduccionales alterada como la hiperfosforilación y/o acetilación. Tanto los oligómeros de β -amiloide como los tau pueden cambiar la comunicación neuronal y conexiones sinápticas. [23]

Tanto la beta y gama secretasa, endoproteolizan la APP para liberar el péptido β -amiloide. [24] En el cerebro de los pacientes con Alzheimer, se acumulan niveles anormales de la APP, formando placas que se juntan entre neuronas interrumpiendo la comunicación y la función celular. [25]

La relación que existe entre la enfermedad de Alzheimer y la de Parkinson es que, aproximadamente 50% de los pacientes con Enfermedad de Parkinson que presentan demencia, desarrollan también un número considerable de placas β -amiloide y ovillos

neurofibrilares. [26] Lo anteriormente descrito forma parte de una hipótesis llamada: “Hipótesis de β -amiloide y amiloide” ya que las causas del Alzheimer siguen bajo investigación. Aunque está claro que la EA es una enfermedad de falla sináptica, los mecanismos concretos que causan las disfunciones neuronales y supervivencia, involucran múltiples aspectos aun por determinar.

Dado que existe una sólida evidencia que apoya la hipótesis “amiloide”, la terapia para tratar el Alzheimer está enfocada activamente a disminuir los niveles de $A\beta$ para mejorar o revertir las fallas sinápticas en los pacientes. Existen diversas evidencias que avalan la inhibición de BACE1 como enfoque atractivo para tratar a los pacientes con Alzheimer.

En primer lugar, se ha mostrado que la eliminación de la BACE1 reduce la producción de $A\beta$ y las deficiencias cognitivas/de comportamiento. En ratones transgénicos se observó sobreexpresión de APP por mutación del gen. En segundo lugar, la mutación del gen BACE en el sitio de rompimiento del APP disminuye 40% la producción in vitro de $A\beta$ y conglomerados de $A\beta$, se reduce de 5 a 7 veces el riesgo de desarrollar EA. Se ha reportado mayor resiliencia a la disfunción cognitiva en individuos mayores. Tercero, las vesículas que contienen BACE1 también se han identificado cerca de zonas activas y la inhibición de la BACE1 reduce directamente las discapacidades mediadas por el $A\beta$ en la transmisión sináptica.

Durante los últimos 20 años, se han llevado a cabo esfuerzos para diseñar y desarrollar inhibidores de la BACE1 que sean selectivos, permeables a la célula, biodisponibles oralmente y que penetren la barrera hematoencefálica. Los inhibidores desarrollados están siendo probados en animales y humanos. Cinco de estos fármacos se mencionan a continuación de acuerdo a la publicación de Das Brati y Yan Riqiang.

- Verubecestat (MK-8931). Es un inhibidor molecular pequeño con disponibilidad oral que atraviesa la barrera hematoencefálica. Verubecestat forma interacciones entre la amidina de Verubecestat y el elemento bivalente catalítico de la BACE1 a través de puentes de hidrógeno. La inhibición de la BACE1 por este fármaco es potente, aunque resulta ser más potente para la BACE2. El tratamiento a largo plazo con Verubecestat en animales puede reducir considerablemente $A\beta_{40}$, $A\beta_{42}$ y el péptido soluble la

proteína precursor beta amilide (sAPP) en el fluido cerebroespinal (CSF) y el cerebro.

En un estudio finalizado (2018) con 1958 individuos la A β 40, A β 42 y sAPP redujeron el 80%; sin embargo, hubo efectos adversos como ansiedad, insomnio y pérdida de peso, así como salpullido y cambios en el color del cabello.

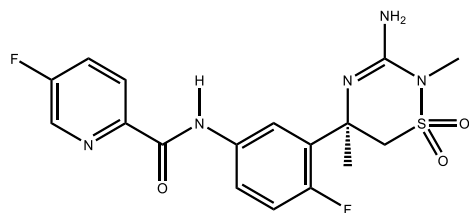


Figura 12. Estructura del Verubecestat (MK-8931).

- Lanabecestat (AZD3293). Molécula pequeña, administrada de forma oral, desarrollada por AstraZeneca. El estudio de fase I comenzó en 2014 y el resultado de los ensayos demostró excelente tolerabilidad, seguridad y perfiles metabólicos en personas mayores sanas y pacientes con EA con discapacidad cognitiva moderada. En las fases clínicas II/III midieron la eficacia y la seguridad. Sin embargo, el ensayo se discontinuó en julio de 2018 debido a no resultó ser seguro ni eficaz.

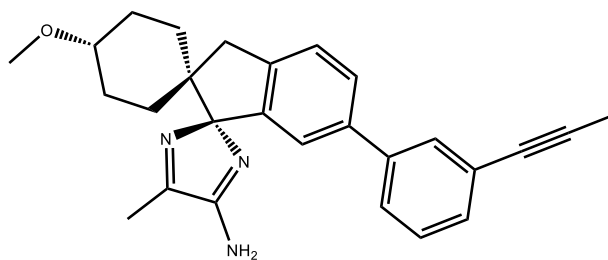


Figura 13. Estructura del Lanabecestat (AZD3293).

- Atabecestat (JNJ-54861911) ha sido desarrollado por Shionogi en colaboración con Janssen, es un inhibidor de tamaño pequeño que atraviesa la barrera hematoencefálica. Durante la fase I mostró reducción de A β 1–40 de 67-90%, con efectos adversos menores como dolor de cabeza y espalda, con lo cual se pudo

avanzar a la fase II. Sin embargo, en un ensayo llamado EARLY iniciado en 2015, se observó elevado número de enzimas hepáticas en 2 pacientes, por lo que la farmacéutica Janssen anunció la no continuación del ensayo (mayo de 2018), siendo la razón principal, el riesgo potencial de los pacientes a desarrollar lesiones hepáticas.

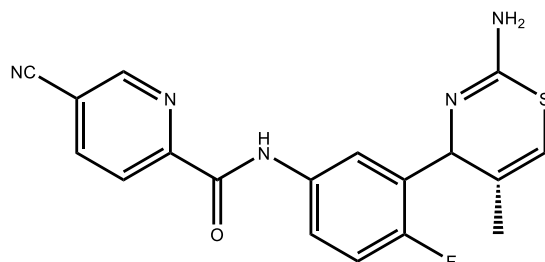


Figura 14. Estructura del Atabecestat (JNJ-54861911).

- Elenbecestat (E2609) originalmente desarrollado por Eisai como una molécula pequeña inhibidor de la BACE1. Las pruebas de fase I reportaron que los participantes experimentaron efectos adversos como dolor de cabeza y mareo. Este fármaco llegó hasta la fase III; en la segunda parte de este proyecto en el 2017 se reveló menos declinamiento en cognición funcional además de reducción significativa en los niveles de A β ; sin embargo, se reveló que los pacientes presentaron efectos adversos como infección del tracto respiratorio superior, alteración en el patrón de sueño y pesadillas, dermatitis, dolores de cabeza, diarrea y caídas. Sin embargo, no reportaron toxicidad hepática.

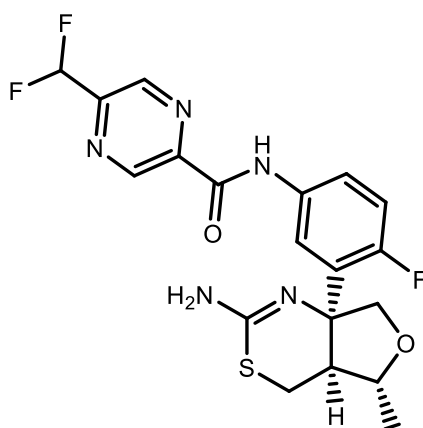


Figura 15. Estructura del Elenbecestat (E2609).

- CNP520. Continúa la fase II/III de la prueba como una terapia de combinación para retrasar el comienzo y progresión de la EA. Con este fármaco no se registraron despigmentación del cabello, degeneración de la retina, toxicidad hepática y efectos adversos cardiovasculares. [23]
- El *N*-(3-((1*R*,5*S*,6*R*)-3-amino-5-metil-2-oxa-4-azabicyclo[4.1.0]hept-3-en-5-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipirazina-2-carboxamida (EJ7) es un inhibidor teórico cuya síntesis diastereoselectiva fue publicada en el 2018 junto con otros compuestos que contienen 2-oxa-4-azabicyclo[4.1.0]hept-3-en-3-amina. El EJ7 fue identificado como inhibidor potente de la BACE con propiedades ADME aceptables. Cuando el compuesto fue probado in vivo mostró reducción significativa de los niveles de Aβ-40 en el cerebro y CSF en un estudio farmacodinámico en ratas, por lo que es conveniente para estudios in vivo de compuestos eficaces para el tratamiento de EA.

Este compuesto fue escogido de la base de datos de la página web del Protein Data Bank (PDB) entre cientos de compuestos que están siendo probados, debido a que cuenta con los mejores parámetros de rayos X: Rfree= 0.184, Clashscore= 1, Ramachandran outliers= 0, Sidechain outliers= 0.3% y RSRZ= 2.9%. [27]

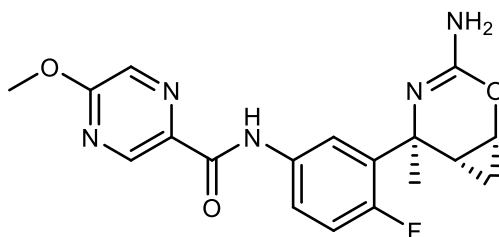


Figura 16. . Estructura del *N*-(3-((1*R*,5*S*,6*R*)-3-amino-5-metil-2-oxa-4-azabicyclo [4.1.0]hept-3-en-5-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipirazin-2-carboxamida.

Se han hecho diversos estudios para entender la base molecular de EA, la cual aun no ha sido conocida en su totalidad. Se sabe que la presencia de las placas β -amiloide extracelulares, la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares, y el desequilibrio de neurotransmisores de acetilcolina como la ACh son distintivos clave de esta enfermedad.

Con base en la hipótesis colinérgica, en la corteza cerebral, prosencéfalo (forebrain) y el hipocampo de los pacientes, el sistema colinérgico está severamente afectado, lo que ocasiona secreción y concentración reducida de ACh en la sinápsis que induce discapacidad cognitiva y de memoria.

La acetilcolinesterasa (AChE) y la butirilcolinesterasa (BChE) son las responsables de la regulación y degradación de acetilcolina, han sido estudiadas como posibles objetivos para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer (EA). A pesar de que no se tiene claro cuál es la función de BChE, se propone que ésta protege a la AChE hidrolizando toxinas que pueden dañar o desactivar la AChE.

Hasta ahora, el tratamiento más importante para el tratamiento de EA son los inhibidores de colinesterasa como el donepezil que incrementan la concentración de Ach en la hendidura sináptica. Por tal motivo, el grupo de investigación de Basari se basó en los estudios realizados por Raymond T. Bartus que mostraron que las espiropirrolidinas son capaces de inhibir ambas enzimas, AChE y BChE por lo tanto pueden ser buenos candidatos para el tratamiento de EA, quienes utilizaron técnicas de modelado molecular para diseñar inhibidores efectivos de estas dos enzimas. Los 2 mejores compuestos se muestran en la figura 17.

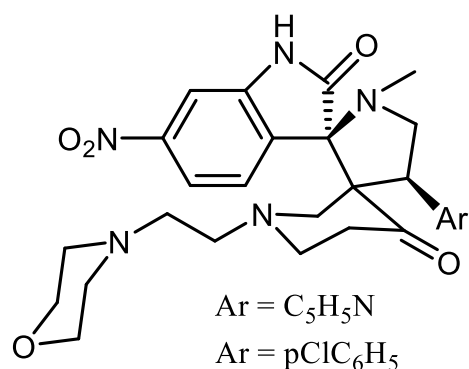


Figura 17. Estructura de las 2 mejores espiropirrolidinas.

Estos compuestos mostraron actividades inhibitorias más elevadas que el galantamina, determinando que estos mismos compuestos podrían ser modificados para aumentar su potencia inhibitoria. [28]

Por otro lado, en el estudio realizado por Hostalkova *et al.*, tres nuevos alcaloides, bersavine, muraricina y berbostrejdine junto con otros 7 alcaloides isoquinolínicos fueron aislados a partir de un extracto de la raíz de *Berberis vulgaris*, especie que crece en Europa Central y noroeste de Irán. Dichos alcaloides fueron evaluados *in vitro* por su actividad inhibitoria contra acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, prolil oligopetidasa y cinasa-3 β glucógeno sintasa, así como por su habilidad para atravesar la barrera hemato-encefálica.

La disminución progresiva en los niveles de acetilcolinesterasa (AChE) en el cerebro de pacientes con EA se contrapesa por la actividad elevada de butirilcolinesterasa. La butirilcolinesterasa reemplaza el papel de AChE en la hidrólisis de acetilcolina (Ach) en etapas posteriores de la EA. La aromolina obtuvo el resultado más potente como inhibidor selectivo de la butirilcolinesterasa humana (*hBuChE*) dentro de todos los compuestos bajo estudio. Los inhibidores de BuChE no sólo mejoraron la cognición, sino que también reduce los niveles de APP, fuente de A β de las placas amiloides. [29]

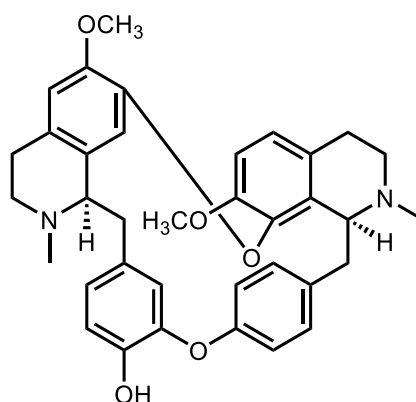
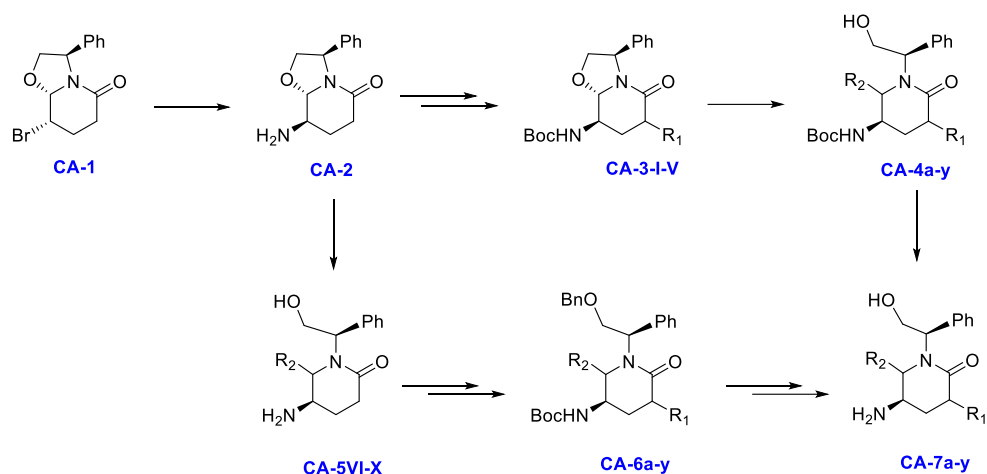


Figura 18. Estructura de la aromolina.

1.5 Análisis Energético de acoplamiento molecular con la BACE-1

Dada la participación de la enzima β -secreasa en las enfermedades neurodegenerativas es de interés el diseño de nuevas opciones de inhibición, por lo que se propusieron los compuestos mostrados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, moléculas que mediante STP presentaron alta probabilidad de interacción (>50%). Cabe destacar que la probabilidad de interacción no los vuelve inmediatamente candidatos a fármacos, debido a que una interacción no siempre es favorable así como no en todos los casos es mejor que los fármacos existentes, por lo que mediante el docking molecular, realizado en Schödinger se logró establecer el potencial *in silico* de éstos candidatos.



Esquema 5. Propuesta sintética.

Para llevar a cabo el estudio de acoplamiento molecular (docking) fue necesario estudiar las diversas formas y funciones de BACE1. Para ello se recurrió al repositorio del PDB donde se puede encontrar las coordenadas atómicas de macromoléculas biológicas. También cristalografía de rayos X y espectroscopía RMN. Es necesario destacar que los modelos atómicos determinados por cristalografía de rayos X se prefieren a los que se generan por espectroscopía RMN si la aplicación es para el diseño de fármacos basado en estructura.

Las métricas que se utilizaron para comparar indicadores de calidad importantes para la elección del cristal con código PDB: 6C2I, se pueden observar en la figura 19, destacando que el valor Rfree es de 0.184, lo cual es un valor típico que indica la calidad del modelo atómico obtenido de los datos cristalográficos; clashscore se refiere al número de pares de átomos en el modelo que se encuentran muy cerca unos de otros, el número de choques por cada 1000 átomos; Ramachandran outliers son aquellos aminoácidos que no tienen ángulos diedros favorables, para poder observarlos más fácilmente se utiliza la gráfica de Ramachandran. Se considera un sidechain outliers si el conjunto de los ángulos de torsión no es parecida a ninguna combinación; las cadenas laterales de las proteínas generalmente adoptan distintos valores de ángulo de torsión. Real-space R-value (RSR) es una medida de la calidad de ajuste entre la parte del modelo atómico y los datos en el espacio real. Un residuo en un RSRZ outlier si su valor de RSRZ es mayor a 2. Para esta estructura cristalográfica, los parámetros se encuentran hacia la parte azul, lo cual indica que la resolución es buena. [30]

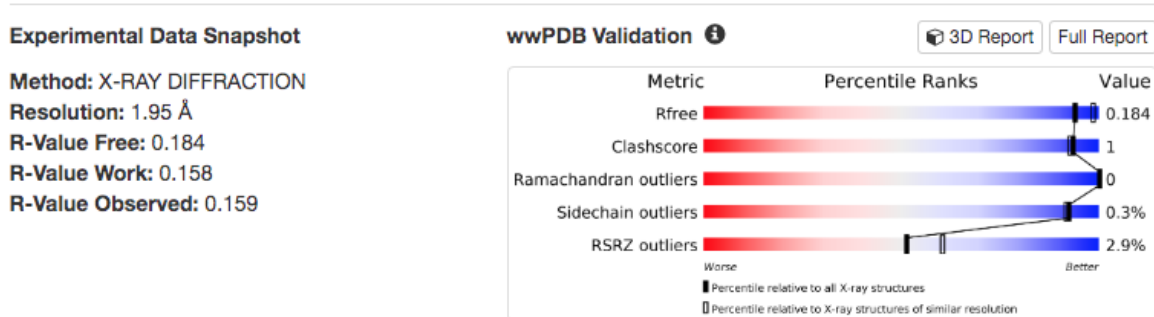


Figura 19. Gráfica de calidad del cristal.

El estudio de acoplamiento molecular de los ligandos objetivo se comparó con los resultados de la interacción de la β -secreteasa con 2 inhibidores, uno comercial que es el verubecestat (MK-8931) y otro experimental, el EJ7. El Verubecestat es uno de los fármacos líderes que ha llegado a las etapas de las pruebas clínicas, cuya EA = -4.298 kcal/mol. Por otro lado, el EJ7 es el inhibidor con el que fue estudiada la β -secreteasa 1, cuenta con la mejor puntuación en la base de datos del PDB. Además, el EJ7 fue identificado como inhibidor potente de la BACE con propiedades ADME aceptables, que cuando fue probado *in vivo*, demostró reducción significativa de los niveles de A β ₄₀ en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo de rata. Su energía de acoplamiento (EA) es de -6.050 kcal/mol. [31]

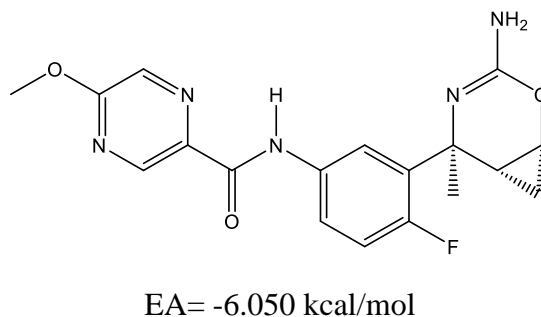


Figura 20. Inhibidor preclínico EJ7

En la figura 23, podemos observar las energías de acoplamiento de los diversos derivados diseñados, denotando que la mayoría los compuestos de la serie CA-3 se encuentra entre -3.0 y -4.0 kcal/mol. Lo mismo ocurre para la serie CA-4, la mayor parte de los compuestos de esta serie se encuentra en este intervalo de energía, aunque ya hay algunos compuestos que se encuentran entre -4.0 a -5.0 kcal/mol, aunque el número de compuestos para esta serie es mayor que para la serie CA-3. La serie CA-5 cuenta con menor número de compuestos, así como la serie CA-3; sin embargo, puede observarse que el intervalo de energía es mucho

mayor de -3.0 a -6.0 Kcal/mol, incluso hay 1 compuesto que se encuentra cercano a -6.0 kcal/mol.

Las moléculas de la serie CA-6, no presentan compuestos que tengan la mejor interacción con la proteína (-2.0 y -4.0 kcal/mol); sin embargo, la energía de acoplamiento de las moléculas de la serie CA-7 es de -4.0 y -6.0 kcal/mol. De todos los compuestos propuestos, 102 moléculas tienen mejor interacción con la enzima que el Verubecestat (EA= -4.298 kcal/mol) y sólo 3 son mejores que el EJ7 (EA= -6.050 kcal/mol), estas 3 moléculas pertenecen a la serie 7, de manera que ésta es la serie con mejores energías de acoplamiento de todas.

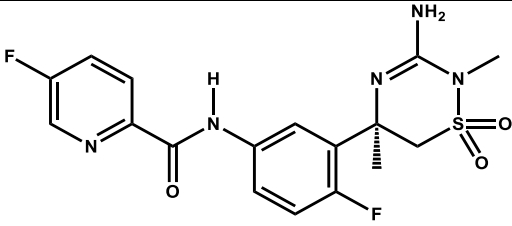
Molécula	
EA (kcal/mol)	-4.298

Figura 21. EA del Verubecestat

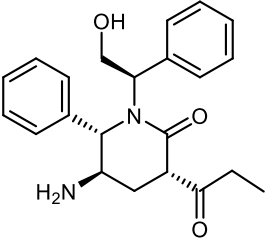
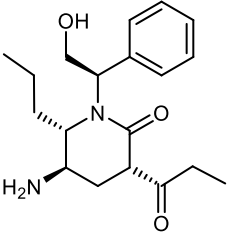
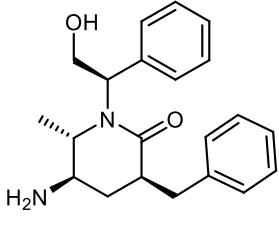
Molécula	CA-7s(3R, 6S) 	CA-7q (3R, 6S) 	CA-7u (3S, 6S) 
EA (kcal/mol)	-6.150	-6.229	-6.935

Figura 22. Estructura de los compuestos con mejor EA.

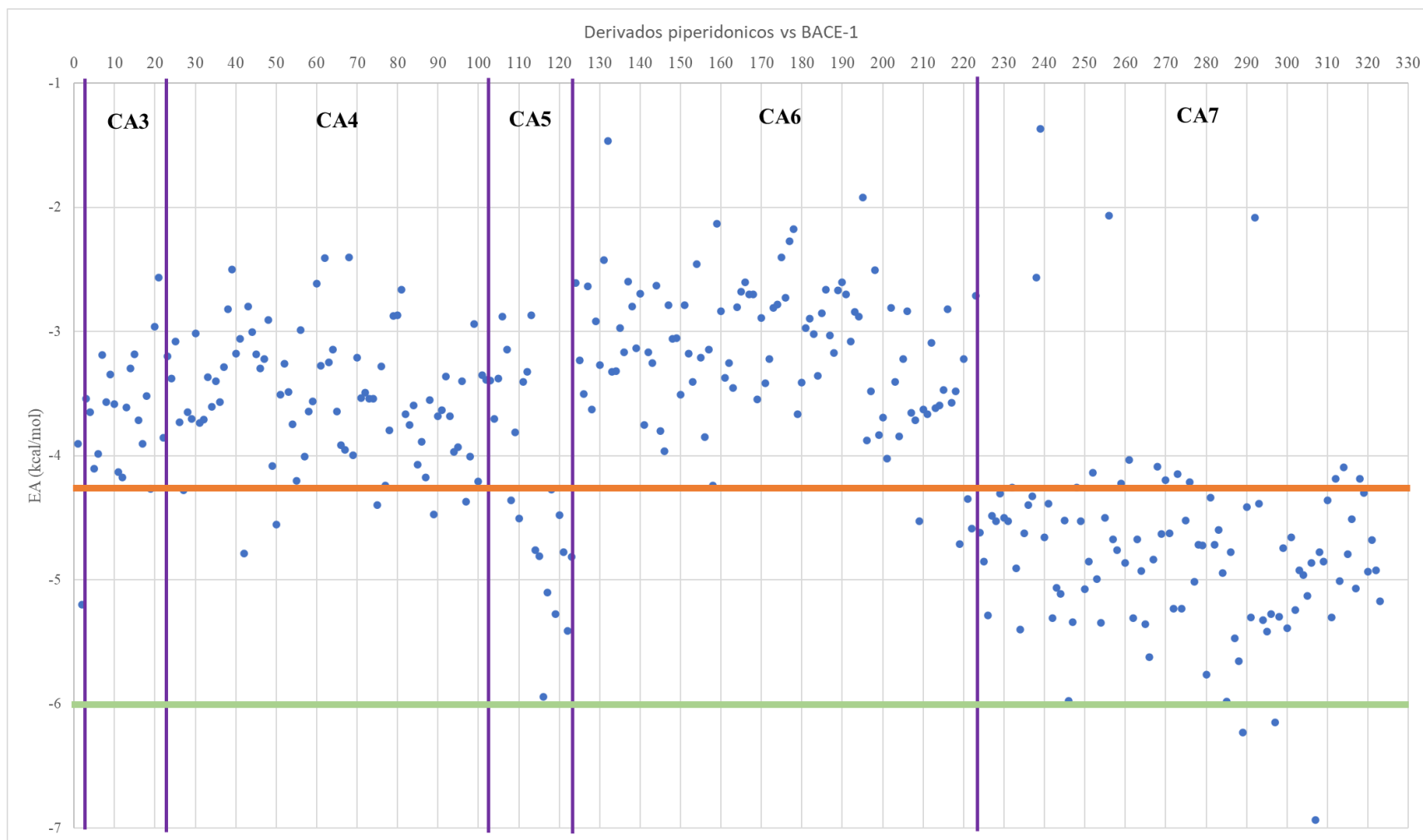


Figura 23. Energía de acoplamiento (kcal/mol) de los derivados piperidonicos en el sitio de la BACE-1. **Verubecestat**, **EJ7**.

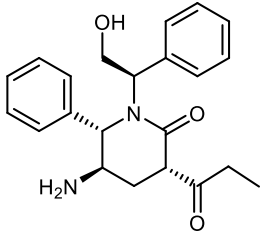
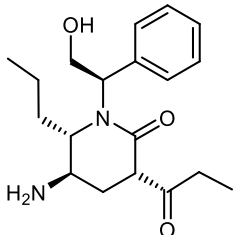
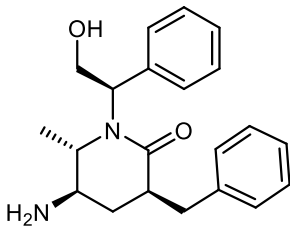
Estructura	CA-7s(3R, 6S) 	CA-7q (3R, 6S) 	CA-7u (3S, 6S) 
EA (kcal/mol)	-6.150	-6.229	-6.935

Figura 24. Estructura de los compuestos con mejor energía de acoplamiento.

Como se muestra en la figura 24, las estructuras con mejor energía de acoplamiento son aquellas donde el anillo de la lactama bicíclica se encuentra abierto, tanto el grupo hidroxilo como el amino están desprotegidos y se integraron 2 sustituyentes a la piperidona en las posiciones 3 y 6, donde las mejores combinaciones resultaron ser propionilo en C-3 y fenilo en C-6, bencilo en C-3 y metilo en C-6, finalmente, con propionilo en C-3 y n-propilo en C-6; sin embargo, esto es un estudio superficial. Para poder analizar la relación entre los sustituyentes y la energía de acoplamiento con la BACE1, es necesario realizar un análisis estadístico.

1.6 Análisis estadístico del Docking con BACE-1

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad para conocer si existe distribución normal; sin embargo, los datos no corresponden a la forma típica de campana gaussiana, por lo tanto, estos no tienen distribución normal. Con base en este resultado se llevó a cabo la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, los descriptores a analizar son la serie a la que pertenece, los sustituyentes en R₁ y R₂ así como la estereoquímica en los dos carbonos asimétricos. Para el caso del efecto en las series sobre las energías de acoplamiento con el sitio catalítico de la enzima BACE1 los resultados se muestran en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Tabla 4. Análisis estadístico, prueba de Kruskal-Wallis: EA (kcal/mol) vs. Serie, $p < 0.05$.

Serie	N	Mediana	Clase KW
CA-1	1	-3.906	A
CA-2	2	-4.369	B
CA-3	10	-3.629	C
CA-4	100	-3.526	C
CA-5	11	-4.816	D
CA-6	100	-3.1555	E
CA-7	99	-4.775	D

En la tabla 6 se muestra la comparación de las energías de acoplamiento según la serie. Dado que $p < 0.05$ se cumple la hipótesis alterna H, que al menos una mediana es distinta e indica que existe una mejora al comparar una serie con otra, respecto a la energía de acoplamiento; es decir, dentro de las series 5 y 7 existe uno o más compuestos que tienen mejor interacción con la β -secreasa-1. La mediana de la serie 5 dio un valor de -4.8160 kcal/mol y la de la serie 7 fue de -4.7750 kcal/mol, como puede observarse, entre estos 2 valores no existe 5% de diferencia, por lo que ambos valores son estadísticamente iguales. Este resultado concuerda con lo ya mostrado donde los mejores compuestos pertenecen a estas series (Figura 25).

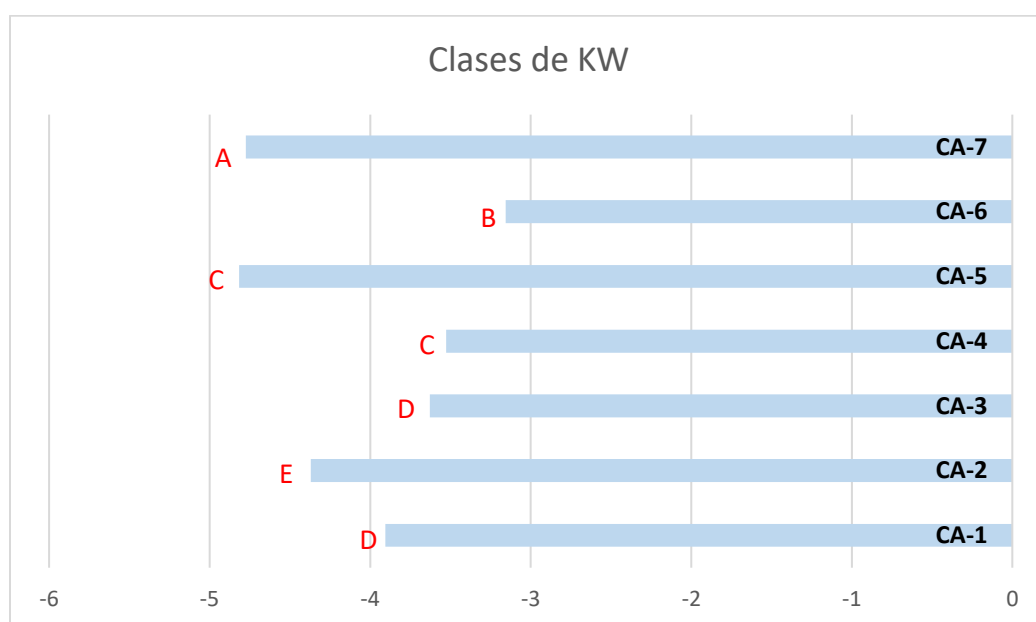
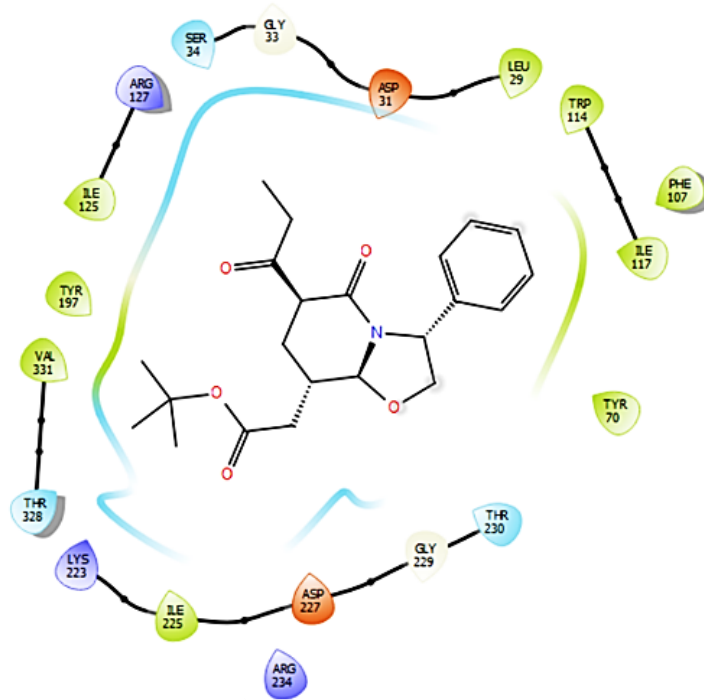


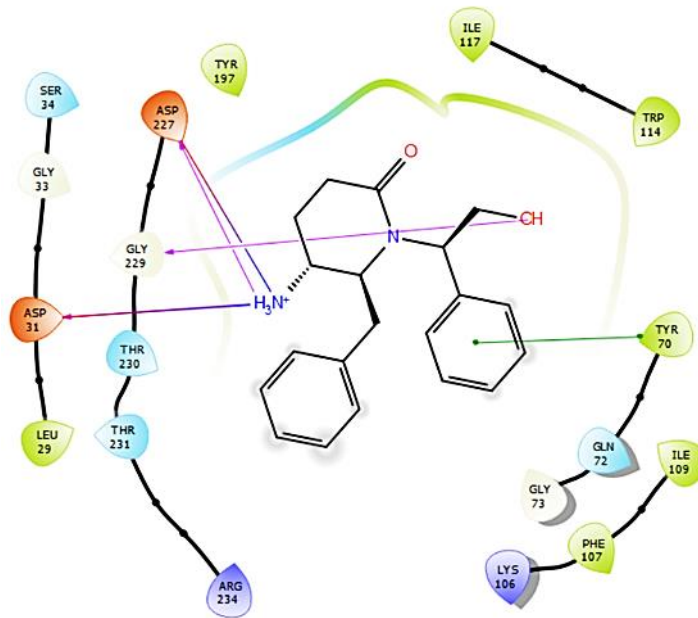
Figura 25. Comparación de las medianas de la EA según la serie. $p < 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis

Tomando en cuenta los resultados según la serie, es conveniente llevar a cabo la apertura del anillo de 5 miembros, introduciendo el radical $2 R_2 \alpha$ al nitrógeno y posteriormente, adicionar el R_1 alfa al carbonilo. Siguiendo este orden de reacción se utilizan ambas series que tuvieron mejores energías de acoplamiento.

6C2I - minimized - CA3IV-(3S)



6C2I - minimized - CA5X-(6S)



- | | | | |
|--------------------|----------------------------|--------------------|------------------|
| Charged (negative) | Polar | Distance | Pi-cation |
| Charged (positive) | Unspecified residue | H-bond | Salt bridge |
| Glycine | Water | Halogen bond | Solvent exposure |
| Hydrophobic | Hydration site | Metal coordination | |
| Metal | Hydration site (displaced) | Pi-Pi stacking | |

Figura 26. Diagrama 2D de la interacción de los compuestos CA-3IV (3S) y CA-5X (6S)

Tabla 5. Análisis estadístico EA (kcal/mol) vs. S3, $p < 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis

Serie	N	Mediana	Clase KW
A	13	-4.812	A
R	153	-3.739	B
S	157	-3.61	B

En la tabla 7 se muestra la comparación de la energía de acoplamiento con respecto a la estereoquímica en la posición 3 del anillo alfa al carbonilo. Ignorando los compuestos asimétricos. Este análisis nos proporciona información acerca de qué estereoquímica es más conveniente si *R* o *S*. Dado que los valores son muy parecidos, a nivel de mediana no hay diferencia significativa, por lo tanto, puede afirmarse que el efecto que tiene la estereoquímica del sustituyente en esta posición es indiferente.

Tabla 6. EA (kcal/mol) vs. S6

S6	N	Mediana
A	13	-3.648
R	156	-3.6565
S	154	-3.752

De igual manera, la estereoquímica del sustituyente 2 R_2 en la posición 6 del anillo es indiferente, incluso si no hay estereoquímica, lo cual se comprueba con el valor de $p < 0.05$ (Tabla 8). El mejor valor de la mediana fue -3.7520 kcal/mol. Para demostrar que la estereoquímica no tiene relevancia en la posición 6, se muestra la tabla 9, donde 2 compuestos de la serie 7, representativos de la mediana, con estereoquímicas contrarias, pero con energías de acoplamiento similares.

Tabla 7. Energía de acoplamiento de los compuestos CA-7g (3*R*, 6*R*) y CA7i-(3*S*, 6*S*)

Compuesto	Estereoquímica	EA (kcal/mol)
CA7g-(3R,6R)	6R	-4.257
CA7i-(3S,6S)	6S	-4.224

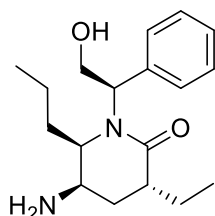
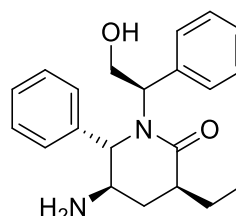
CA-7g(3R, 6R)**CA-7i(3S, 6S)**

Figura 27. Estructura de los compuestos CA-7g y CA-7i.

La tabla 10 muestra el efecto que tiene el tipo de sustituyente R_1 en la posición 3 con respecto a la energía de interacción con el target. Dado que el resultado fue significativamente diferente ($p < 0.05$) entre los diferentes grupos, se tomó la hipótesis alterna. De acuerdo a la mediana con mejor valor, tener hidrógeno en esta posición genera mejor interacción con el target, en relación a tener una cadena larga como metilo o propilo. Además, tener un grupo bencilo resultó más apropiado. También, en relación al grupo propionilo, a medida que aumenta la longitud de la cadena hidrocarbonada, la energía de acoplamiento disminuye. Este resultado es congruente con el hecho de que los mejores compuestos resultan cuando el anillo ya está abierto (compuestos de la serie 5 con mejor energía de acoplamiento, no tienen sustituyente en la posición 3, solo tienen un átomo de hidrógeno).

Tabla 8. EA (kcal/mol) vs. R_1

R_1	N	Mediana
Bn	62	-3.949
CH₃	62	-3.6385
CH₃(CH₂)₂	62	-3.556
CH₃CH₂	62	-3.497
CH₃CH₂CO	62	-3.723
H	13	-4.812

CA-5VI-X

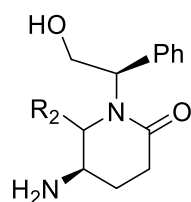


Figura 28. Serie CA-5

Tabla 9. EA (kcal/mol) vs R₂

R ₂	N	Mediana
Bn	62	-3.6895
CH₃	62	-3.875
CH₃(CH₂)₂	62	-3.875
H	13	-3.648
<i>i</i>-Pr	62	-3.534
Ph	62	-3.864

Los resultados de la tabla 11 no fueron estadísticamente diferentes ($p > 0.05$), es decir, las medianas son iguales. Por lo tanto, independientemente del sustituyente que se coloque en esta posición, la energía de acoplamiento resultó similar. Los mejores valores de EA se obtuvieron con metilo o fenilo, reafirmando que la EA disminuye cuando aumenta la cadena hidrocarbonada.

Tabla 10. EA (kcal/mol) vs R₃.

R ₃	N	Mediana
Boc	210	-3.3635
H	113	-4.777

Los valores obtenidos que se muestran en la tabla 12 fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), hubo diferencia significativa entre los compuestos con el grupo amino en la posición 5 y aquellos compuestos donde este grupo se encuentra protegido con Boc. De acuerdo a los valores de la mediana, los compuestos con el amino desprotegido tienen mejor afinidad para BACE1, es necesario llegar hasta la serie CA-7 para obtener un compuesto con energía de acoplamiento satisfactoria.

1.7 Estabilidad estructural y análisis interaccional

MOPAC es un programa que permite realizar cálculos semi-empíricos a átomos y moléculas. En este proyecto de investigación se utilizó para calcular la entalpía de formación ΔH_f° o calor de formación de 3 de las moléculas que tuvieron la mejor energía de acoplamiento de cada una de las series. La entalpía de formación da información acerca de la estabilidad de la estructura, entre más negativa sea esta energía, mayor estabilidad tiene. Se requiere que las moléculas sean estables para evitar que reaccionen con otras enzimas antes de interactuar con el target (BACE1) o bien que puedan descomponerse en el proceso de almacenamiento, en este caso, el compuesto podría perder potencia biológica.

Además, calcular la energía estérica de la molécula permite conocer la conformación más estable, lo cual, se logra a través de los cálculos de mecánica molecular, que utiliza el campo de fuerza y ajusta la conformación para minimizar la energía. El campo de fuerza relaciona un conjunto de parámetros para ajustar la longitud del enlace, ángulos de enlace, torsión, propiedades electrostáticas e interacciones de Van der Waals, entre otras.

Uno de los campos de fuerza importantes para minimizar energía es el MM2. El objetivo de la minimización de energía es encontrar un conjunto de coordenadas que representen la conformación de mínima energía para cada estructura (Tablas 13-28). Cada una de ellas muestran la energía de estiramiento, torsión, estiramiento-torsión, interacciones 1-4 de Van der Waals, interacciones dipolo/dipolo. Con estos cálculos se obtuvo la energía total de la conformación más estable de la molécula. Para analizar el efecto de estabilidad de cada una de las series se mostrarán los ejemplos representativos de cada una a continuación.

1.7.1 Serie CA-1

Se muestran los 3 compuestos representativos de cada serie con mejor energía de acoplamiento y su calor de formación. Así mismo, se muestran los diagramas en 2D de las interacciones entre los ligandos (compuestos propuestos) con BACE1. Cabe precisar que el único enantiómero que no tuvo acoplamiento con BACE1 fue el compuesto CA-3I (3R). El resto de las interacciones ligando-BACE1 se muestran en las siguientes figuras.

Tabla 11.. ΔH_f° , EA y MM2 (kcal/mol) del compuesto CA-1.

Energy (kcal/mol)	CA-1
----------------------	------

ΔH_f°	-59.062
EA	-3.906
MM2	
Stretch	1.1188
Bend	7.3515
Stretch-Bend	0.1645
Torsion	0.1097
Non-1,4 VDW	-4.4231
1,4 VDW	14.2477
Dipole/Dipole	-2.9850
Total Energy	15.5842

En la tabla 13 se muestra la entalpía de formación (ΔH_f°) de la materia prima, por su valor de ΔH_f° , la molécula es inestable a comparación al resto de los compuestos en estudio. En consecuencia, tiene cierto grado de reactividad, lo cual es favorable para continuar las siguientes fases de reacción. También se muestra la energía de acoplamiento que sirve para determinar si este compuesto mostraba mejor afinidad hacia el target vs el resto de las moléculas. De esta manera continuar con la síntesis de los otros compuestos propuestos de la ruta sintética. Dicho valor no fue favorable termodinámicamente en comparación con el resto de los compuestos, y la interacción de este compuesto con BACE-1. Así mismo, se muestran los valores de mínima de energía con la finalidad de tener un punto de referencia al compararlo con el resto de los compuestos. Se obtuvo que difieren en las interacciones dipolo-dipolo, la energía total de la materia prima fue mayor que la del compuesto CA-2.

6C2I - minimized - CA1

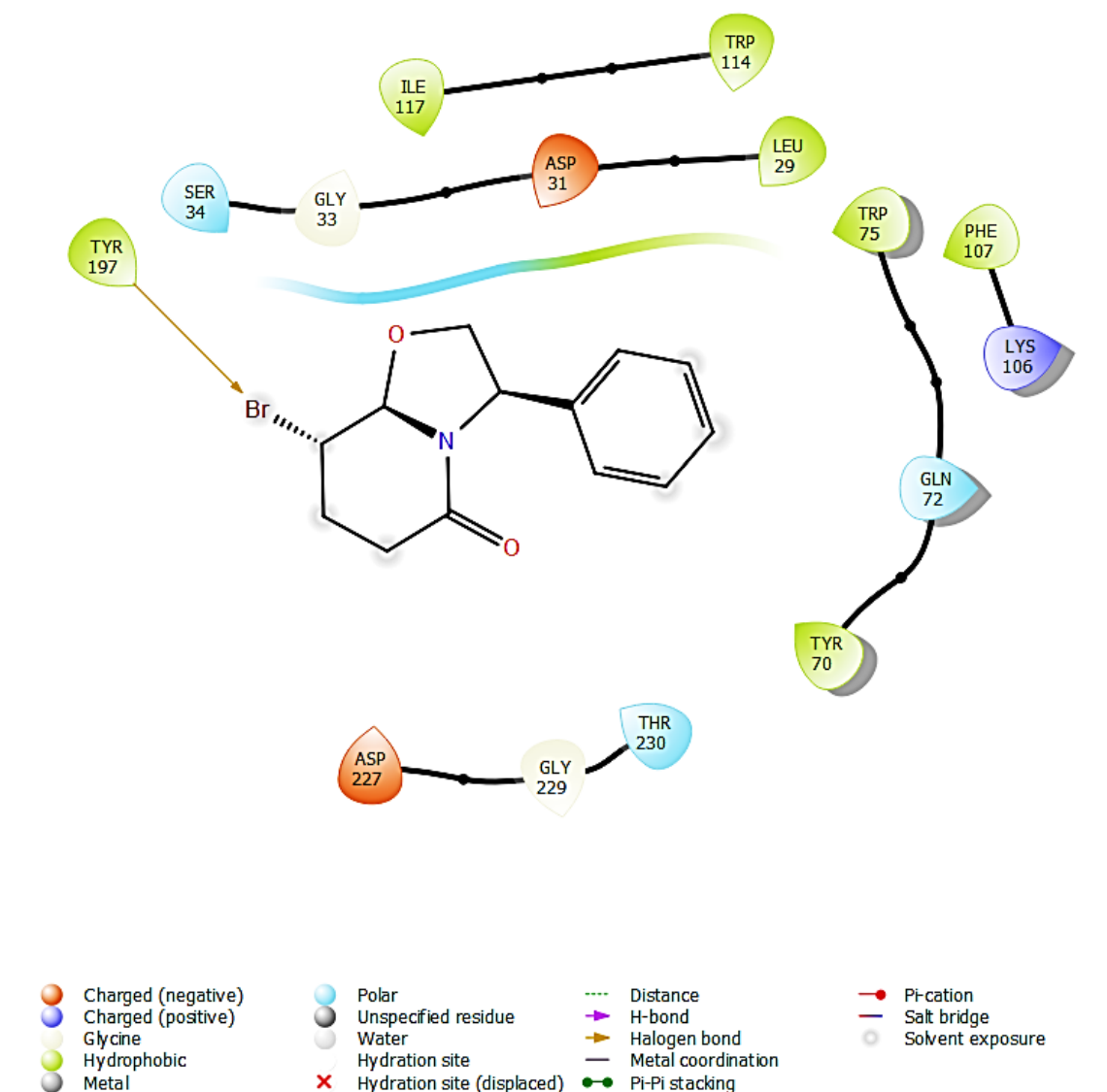


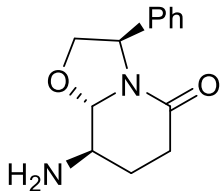
Figura 29. Diagramas 2D de interacción del compuesto CA-1 con BACE1.

Los residuos cerca del ligando CA-1 son aminoácidos hidrofóbicos; TYR70, PHE107, TRP75, LEU29, TRP114, ILE117, TYR197. Cuando estos se están cerca de la parte en blanco, significa que hay un sitio de hidratación, es decir, en esta zona, ocurre alojamiento de moléculas de agua. Si hay una molécula de agua habrá repulsión en esta

zona, en caso contrario, habrá atracción molecular. Los aminoácidos ASP31, GLY33 y SER34, tienen interacción polar con el ligando, así como el aa TYR197 que genera un enlace con el bromo. La interacción de los aas ASP227, GLY229, THR230, TYR70, GLN72, TRP75, PHE107 y LYS106 depende de la existencia de moléculas de agua en la zona, así como de la naturaleza del residuo aminoacídico, ej., TYR que es hidrofóbica y al haber una molécula de agua habrá repulsión, si no existe esta molécula de agua, habrá atracción (Figura 29).

1.7.2 Serie CA-2

Tabla 12. H_f° , EA y MM2 (kcal/mol) del compuesto CA-2.

Energy (kcal/mol)	CA-2
	
ΔH_f°	-56.521
EA	-5.198
MM2	
Stretch	0.8952
Bend	7.0202
Stretch-Bend	0.0740
Torsion	1.1650
Non-1,4 VDW	-4.7657
1,4 VDW	13.6342
Dipole/Dipole	-7.2693
Total Energy	10.7536

El segundo compuesto (MM2) dentro de la ruta sintética es el oxazol con el grupo amino en la posición 5. Por su valor de ΔH_f° es un poco más reactivo que la materia prima y tuvo mejor energía de acoplamiento.

6C2I - minimized - CA2

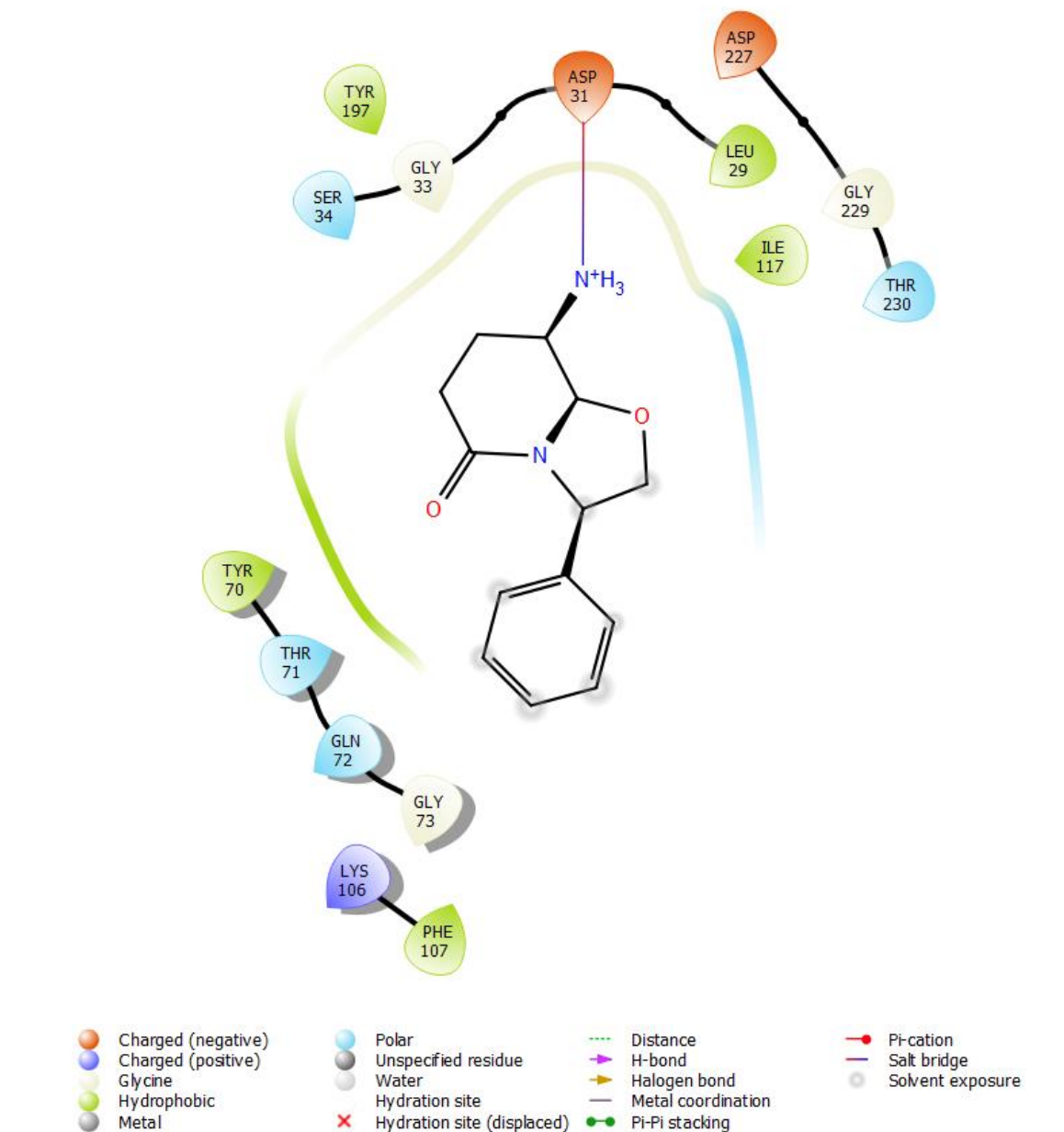


Figura 30. Diagrama 2D de interacción del compuesto CA-2 con BACE1.

Lo más notable de la molécula CA-2 es un puente salino entre el ácido aspártico 31 (Asp 31) con carga negativa y el nitrógeno positivo de la amina del compuesto CA-2. Por otro lado, existen interacciones hidrofóbicas entre los aas TYR70, LEU29, ILE117 y TYR197 y BACE1, por lo tanto, existe repulsión en esta zona de la molécula (Figura 11). CA-2 también

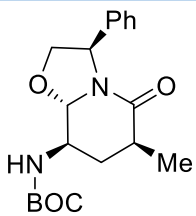
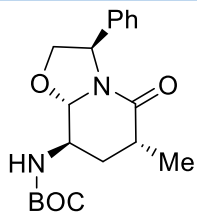
tiene interacción polar con SER34, GLY33, TYR197, ASP227, GLY229 y THR230. Esta molécula resultó con mayor número de interacciones con BACE1 que la materia prima, por consecuencia, la EA es mayor que el caso anterior.

1.7.3 Serie CA-3

El compuesto con mejor energía de acoplamiento de la serie 3 fue el CA-3V (3*S*) (-4.554 kcal/mol), en segundo lugar, el CA-3I (3*S*) (-3.482kcal/mol) y en tercero el CA-3IV (3*R*) (-3.425 kcal/mol). La estereoquímica del radical en la posición 3 es indiferente respecto a la estabilidad del compuesto, ya que el el valor de ΔH_f° para los enantiómeros es similar (Tablas 14, 15 y 16). El compuesto que mejor interactúa con BACE1, es el compuesto más estable, lo que resulta benéfico para la actividad inhibitoria de BACE1. También se obtuvo que la molécula con el sustituyente bencilo tiene mejor energía de acoplamiento que los otros grupos propuestos en la serie, sin embargo, la energía de acoplamiento no fue mejor que la del compuesto CA-2.

En la tabla 14 se muestra las energías obtenidas de los 2 enantiómeros de la molécula CA-3I, el isómero levógiro resultó tener mejor energía de acoplamiento con BACE1 que el dextrógiro; sin embargo, ambas moléculas muestran la misma energía total, sugiere que la estereoquímica del metilo en la posición 3 del anillo no afecta la conformación de la molécula. Además, la energía total de ambas es la misma.

Tabla 13. ΔH_f° , EA y MM2 de los enantiómeros del compuesto CA-3I..

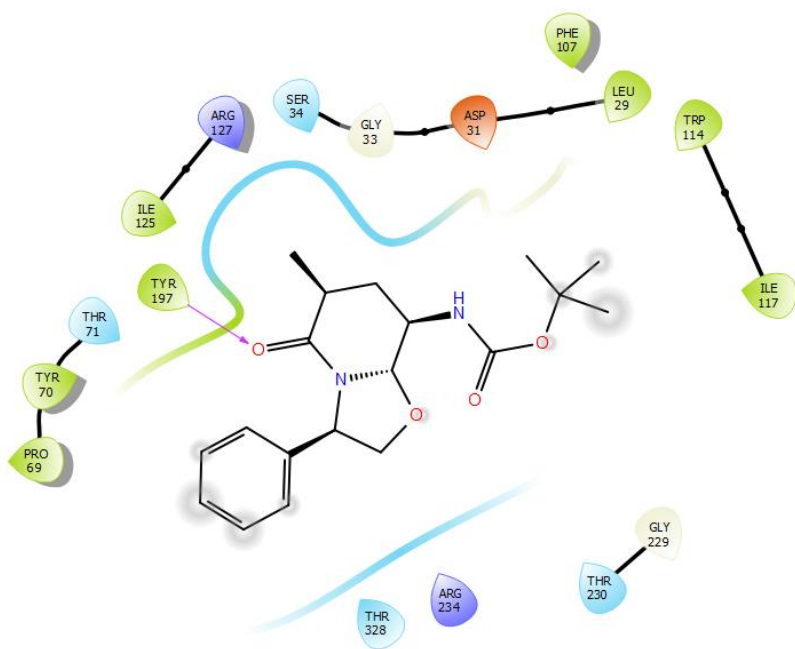
Energy (Kcal/mol)	CA-3I (3 <i>R</i>)	CA-3I (3 <i>S</i>)
		
ΔH_f°	-174.728	-175.292
EA	-2.826	-3.482
MM2		
Stretch	1.991	1.993

Bend	13.190	13.179
Stretch-Bend	0.474	0.474
Torsion	2.374	2.3819
Non-1,4 VDW	-7.741	-7.742
1,4 VDW	17.153	17.155
Dipole/Dipole	-10.521	-10.521
Total Energy	16.920	16.920

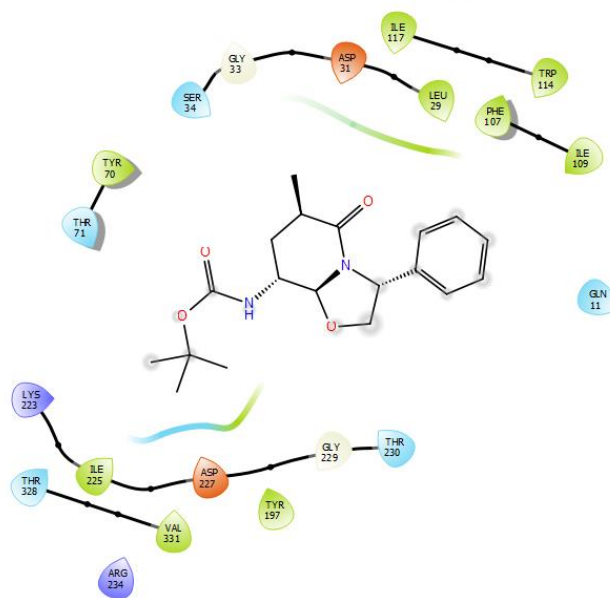
La molécula CA-3I (3*S*) cuenta con 8 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Pro69, Tyr70, Phe107, Trp114, Ile117, Ile125 y Tyr 197. Hubo 4 interacciones polares con los aas Ser34, Thr71, Thr230 y Thr 328 de BACE1. Además, presenta 2 interacciones de carga positiva con Arg127 y Arg 234, 2 interacciones con Gly33 y Gly229 y una interacción negativa con Asp31. A diferencia de su enantiómero *R*, este compuesto presenta interacción de puente de hidrógeno con Tyr197. Los puentes de hidrógeno son de las interacciones a distancia con mayor fuerza, lo cual se ve reflejado en la mejor energía de acomplamiento de esta molécula en comparación con la CA-3I (3*R*).

En cambio, la molécula CA-3I (3*R*) cuenta con interacciones muy parecidas a las de su enantiómero *S*. Se observan 9 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile 109, Trp114, Ile117, Tyr197, Val331 e Ile225. Existen además 5 interacciones polares con Gln11, Ser34, Thr71, Thr230 y Thr328. También cuenta con 2 interacciones de carga positiva con Lys223 y Arg234 además de 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227. Finalmente, hubo sólo 2 interacciones con Gly33 y Gly229 al igual que el compuesto *R*. Cabe destacar que las interacciones para ambos compuestos son similares.

6C2I - minimized - CA-3I(3S)



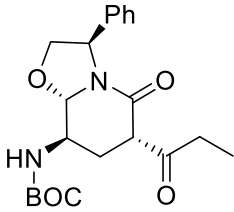
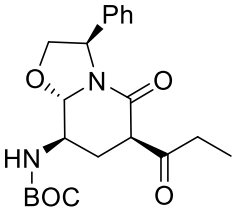
6C2I - minimized - CA-3I(3R)



- | | | | |
|--|---|--|--|
| ● Charged (negative) | ● Polar | --- Distance | ● Pi-cation |
| ● Charged (positive) | ● Unspecified residue | ▶ H-bond | — Salt bridge |
| ● Glycine | ● Water | ▶ Halogen bond | ○ Solvent exposure |
| ● Hydrophobic | ○ Hydration site | — Metal coordination | |
| ● Metal | ✗ Hydration site (displaced) | ●—● Pi-Pi stacking | |

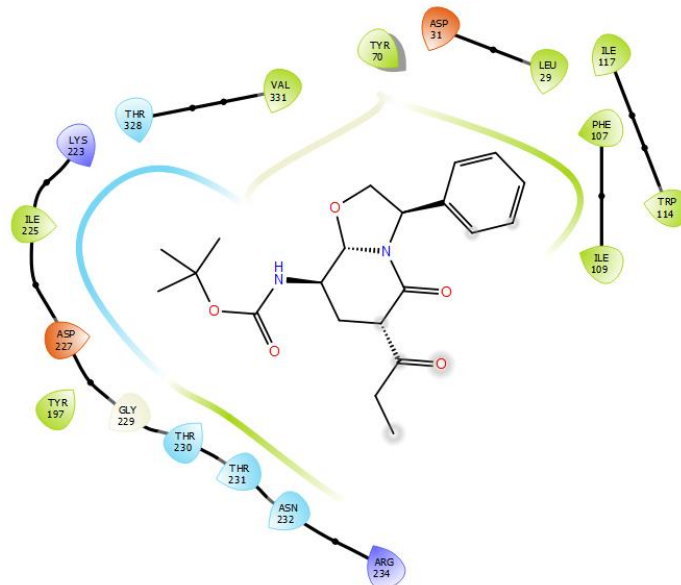
Figura 31. Interacciones 2D de de CA-3I(3S) y CA-3I(3R) con BACE-1.

Tabla 14. ΔH_f° , energía de acoplamiento y MM2 de los enantiómeros del compuesto CA-3IV.

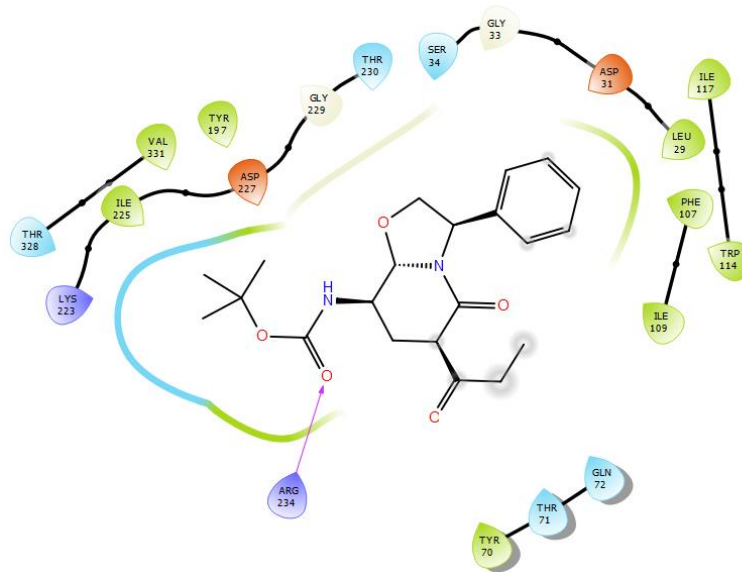
Energy (Kcal/mol)	CA-3IV (3 <i>R</i>)	CA-3IV (3 <i>S</i>)
		
ΔH_f°	-213.797	-213.797
EA	-3.425	-3.296
MM2		
Stretch	2.2477	2.2411
Bend	13.7545	13.2444
Stretch-Bend	0.4907	0.3949
Torsión	2.2854	0.9490
Non-1,4 VDW	-8.5459	-7.5230
1,4 VDW	18.6349	19.1737
Dipole/Dipole	-10.6389	-9.9458
Total Energy	18.2284	18.5342

En la tabla 15 se muestra que la estabilidad de ambas moléculas es la misma (ΔH_f°). También la energía total de los enantiómeros de la molécula CA-3IV, la diferencia entre ambas moléculas es muy pequeña mostrando que el isómero dextrógiro se ve ligeramente más favorecido por la posición *R* del grupo propionilo. Este isómero a su vez tuvo mejor energía de acoplamiento con la proteína objetivo. La molécula CA-3IV (3*S*) tiene interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Ile117, Trp114, Tyr197, Ile225 y Val331. Sin embargo, las interacciones del enantiómero *R* son las mismas, a excepción de Leu29 y Tyr70, las cuales no se encuentran presentes. Para el isómero *S* hubo 4 interacciones polares con Asn232, Thr231, Thr230 y Thr328. Mientras que para el *R* hay 5 de estas interacciones con Ser34, Thr71, Gln72, Thr230 y Thr328. Ambos isómeros cuentan con 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227, además de las interacciones de carga positiva con Lys223 y con Arg234, sin embargo, en el compuesto *R*, adicionalmente hay un puente de H de la Arg234 al carbonilo de Boc.

6C2I - minimized - CA3IV(3S)



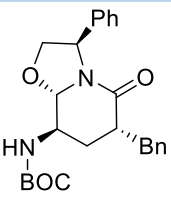
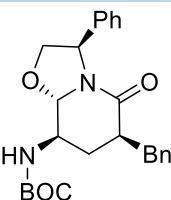
6C2I - minimized - C3IV(3R)



- | | | | |
|--------------------|----------------------------|--------------------|------------------|
| Charged (negative) | Polar | Distance | Pi-cation |
| Charged (positive) | Unspecified residue | H-bond | Salt bridge |
| Glycine | Water | Halogen bond | Solvent exposure |
| Hydrophobic | Hydration site | Metal coordination | |
| Metal | Hydration site (displaced) | Pi-Pi stacking | |

Figura 32. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-3IV(3S) y CA-3IV(3R) con BACE1.

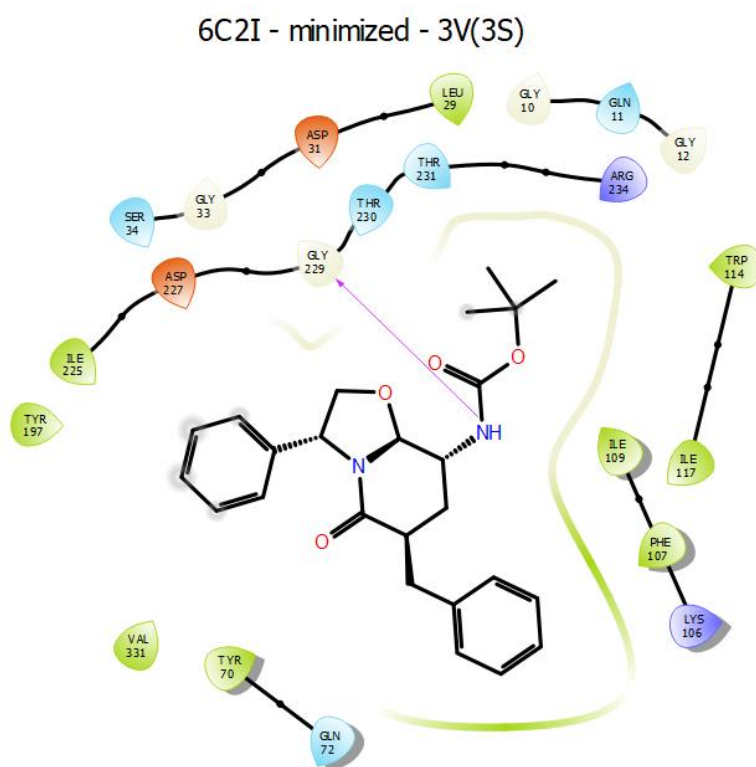
Tabla 15. ΔH_f° , EA y MM2 de los enantiómeros del compuesto CA-3V.

Energy (kcal/mol)	CA-3V (3 <i>R</i>)	CA-3V (3 <i>S</i>)
		
ΔH_f°	-147.673	-147.673
EA	-3.784	-4.554
MM2		
Stretch	2.3672	2.3212
Bend	13.7285	12.7394
Stretch-Bend	0.5220	0.3999
Torsion	-3.5928	-4.3326
Non-1,4 VDW	-9.3085	-8.1711
1,4 VDW	23.3420	23.7578
Dipole/Dipole	-9.9973	-9.8213
Total Energy	17.0611	16.8934

La molécula CA-3V (3*R*) obtuvo una mejor energía de acoplamiento con BACE1, no obstante, el compuesto *S* resultó tener mejor energía total sin ser estadísticamente significativa. Sin embargo, el bencilo en conformación *S* muestra mayor impedimento estérico que su contraparte; el hidrógeno del metileno del Bn se encuentra a 2.8 Å del H del metilo perteneciente al anillo adyacente al NBoc. Esto no ocurre con el isómero *R*, en el cual estos grupos se encuentran más alejados. El hecho de que el compuesto *R* tenga energía de torsión mayor que el compuesto *S* sugiere que esta energía es termodinámicamente menos favorable, lo cual es óptimo para el acoplamiento, significa que la molécula se encuentra estática y permite mejor interacción con BACE1.

El compuesto 3V(3*S*) presenta 9 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Tyr197, Ile225. La interacción polar fue con Gln11, Ser34, Gln72, Thr230 y Thr231. Además de 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp 227. Por otro lado, también hubo interacciones de carga positiva con Arg106 y Arg234. Finalmente, se aprecian 4 interacciones de glicina con Gly10, 12, resaltando que existen un puente de H del NBoc hacia Gly229.

Con el isómero *R* hubo 9 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Ile125, Tyr197 e Ile225. También hubo 6 interacciones polares con Ser34, Thr71, Gln72, Thr230, Thr231 y Asn232. Hay 2 interacciones con Gly33 y 73; 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y 227 y 3 de carga positiva con Lys106, Arg127 y Arg234. También 2 interacciones de puente de H; Gly229 y Thr230.



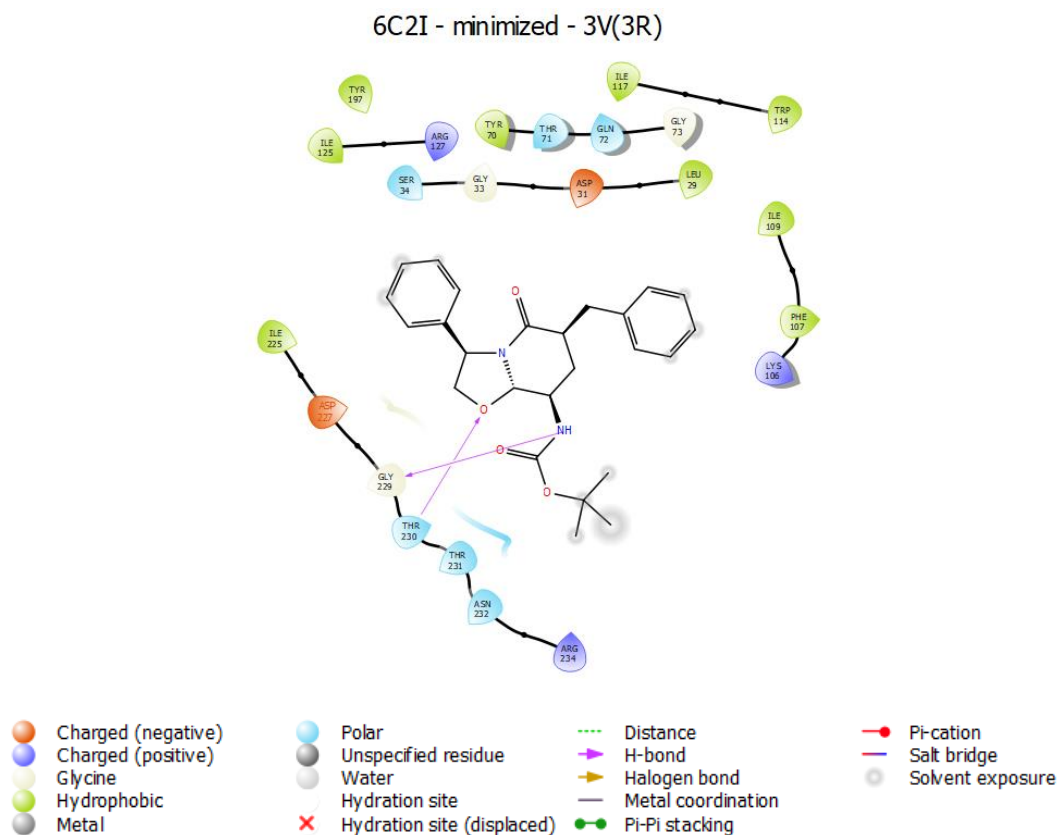


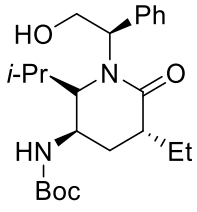
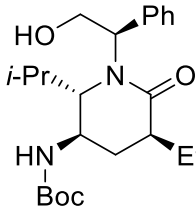
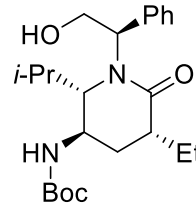
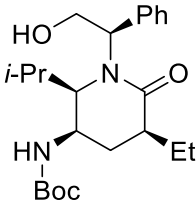
Figura 33. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-3V(3S) y CA-3V(3R) con BACE1.

1.7.4 Serie CA-4

En la serie 4, además del radical en la posición 3 del anillo, se adiciona un segundo grupo en la posición 6. Los 3 compuestos con mejor EA son los que tienen la configuración (3R, 6R). La entalpía de formación del compuesto CA-4j con configuración (3R, 6R), a pesar de no ser la más estable, es la de mejor Energía de Acoplamiento (EA= -4.557 kcal/mol). El valor del ΔH_f° para los enantiómeros del compuesto CA-4h con configuraciones (3S, 6R), (3S, 6S) es casi idéntico al compuesto (3R, 6R). Sin embargo, este último tuvo la mejor interacción con el target con una EA=(-4.789 kcal/mol). Estos 3 resultaron ser los compuestos con mejor EA de la serie 4 así como los más estables. Así mismo, el compuesto CA-4y (3R, 6R) con EA= -4.508 kcal/mol, también es el diastereoisómero más estable de los isómeros del compuesto CA-4y.

Al realizar la comparación entre los grupos por su mejor EA, se obtuvo que los grupos que tienen mejor interacción con BACE1 son el isopropilo, etilo y bencilo (Tablas 17, 18 y 19).

Tabla 16. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-4h.

Energy (kcal/mol)	CA-4h (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-4h (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-4h (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-4h (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
				
ΔH_f°	-213.956	-208.16550	-213.956	-213.932
EA	-3.005	-2.798	-3.182	-4.789
MM2				
Stretch	2.9666	3.2860	3.1568	2.8611
Bend	14.0023	13.9256	15.2198	14.4310
Stretch-Bend	0.8733	0.9188	0.9150	0.8271
Torsion	1.3352	1.1164	1.4643	2.1900
Non-1,4 VDW	-14.9755	-5.7380	-6.8035	-14.3089
1,4 VDW	20.8361	20.723	21.2951	20.4999
Dipole/Dipol e	-13.2835	-14.6336	-14.6899	-13.2825
Total Energy	11.7544	19.5984	20.5576	13.2176

Al comparar los diastereoisómeros de la molécula CA-4h, una de las moléculas con mejor energía total es la (3*R*, 6*R*), difiere por muy poco de la (3*S*, 6*R*) que es la de mejor energía. Una diferencia notoria radica en las interacciones No-1,4 de Van der Waals. Los diastereoisómeros (3*R*, 6*R*) y el (3*S*, 6*R*) poseen mejores energías termodinámicamente hablando que los otros 2 diastereoisómeros, sin embargo difieren en este tipo de interacción molecular. La energía menos favorable de los compuestos (3*R*, 6*S*) y (3*S*, 6*S*) se debe principalmente a que el grupo isopropilo en la posición 6 genera impedimento estérico con el Bn (*R,S*) del fenilglicinol, afectando el valor de sus energías totales.

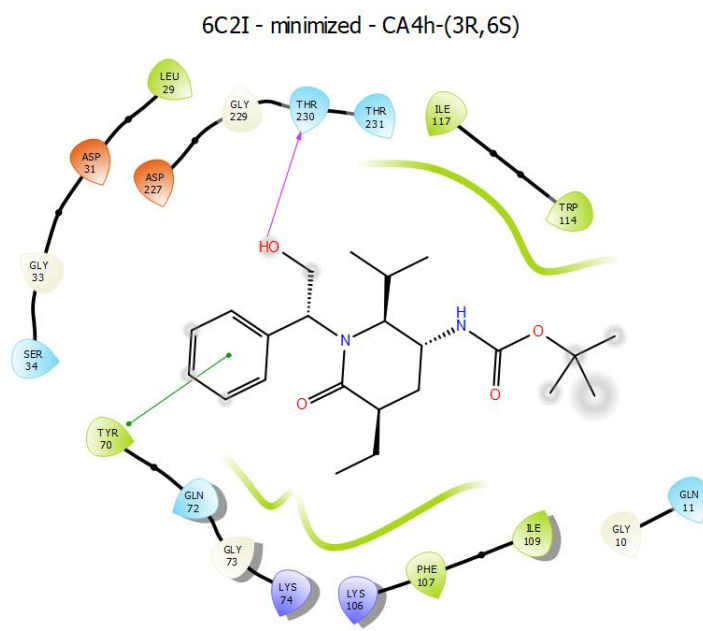
El compuesto con energía de acoplamiento menos favorable de la serie CA-4 es el diastereoisómero (3*R*, 6*S*). Como puede observarse en la figura 30, la mayor parte de las

interacciones son hidrofóbicas, lo que se aprecia como un lazo verde entre los residuos de la proteína y la molécula propuesta. En la parte del fenilglicinol se observa un apilamiento pi-pi entre el benceno del fenilglicinol y el benceno de la tirosina, dichas interacciones atractivas entre anillos aromáticos pueden ocurrir en diversas áreas de la química, como la conformación de los diarinaftalenos y de la fuerza del Kevlar, entre otros. Cabe mencionar que las interacciones entre compuestos aromáticos son clave en la interacción proteína-ADN. [33] Otro ejemplo es la interacción entre el hidrógeno del fenilglicinol y el oxígeno del carbonilo de la Thr230 de BACE1, donde se observa un puente de hidrógeno.

La mejor energía de acoplamiento entre los diastereoisómeros de la molécula CA-4h es la (3*R*, 6*R*). Los residuos cercanos al ligando son LEU29, ASP31, GLY33, SER34, TYR70, THR71, GLN72, ILE2117, TRP114, ILE109, PHE107, TYR197, LYS223, ILE225, ASP227, GLY229, THR230, ARG234, VAL331, THR328.

La interacción polar fue con TYR70, THR71, GLN72, TYR197, LYS223, donde se observa el listón en azul. Las del lazo en blanco también son interacciones positivas del ligando con la Gly33, Ser34, Thr230 y Gly229. También puentes de hidrógeno entre el hidroxilo del fenilglicinol y la Thr230 y este mismo hidroxilo con la Arg234 con carga positiva. Las interacciones con el resto de los residuos dependen de si se acomodan moléculas de agua en la zona en blanco que indican el sitio de hidratación.

Por lo anteriormente expuesto y comparando las interacciones del diastereoisómero (3*R*, 6*S*) con el (3*R*, 6*R*) se hace evidente que este último tiene mayor número de interacciones, lo que se confirma con la energía de acoplamiento favorable desde el punto de vista termodinámico.



6C2I - minimized - CA4h-(3R,6R)

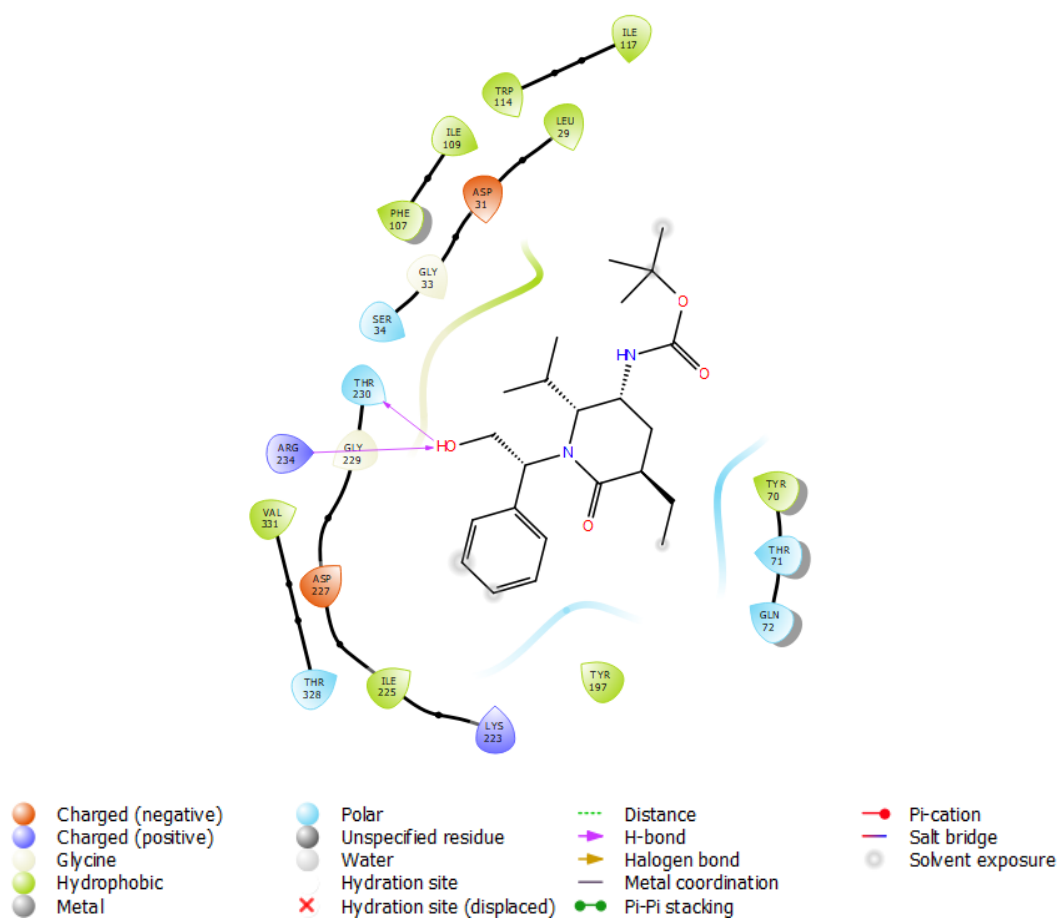


Figura 34. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-4h (3R, 6S) y CA-4h (3R, 6R) con BACE1.

Tabla 17. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-4j.

Energy (kcal/mol)	CA-4j (3S, 6R)	CA-4j (3R, 6S)	CA-4j (3S, 6S)	CA-4j (3R, 6R)
ΔH_f°	-175.199	-180.532	-180.861	-177.400
EA	-3.26	-3.508	-3.486	-4.557

MM2				
Stretch	2.9374	2.6392	2.6500	2.9148
Bend	14.9052	12.3367	12.5606	14.7955
Stretch-Bend	0.8097	0.6742	0.6957	0.8096
Torsion	-6.6419	-6.6092	-5.8260	-7.4575
Non-1,4 VDW	-12.0982	-12.0979	-13.3389	-10.5492
1,4 VDW	25.6846	25.4607	25.6187	25.2691
Dipole/Dipole	-15.9464	-15.7265	-15.7142	-15.8857
Total Energy	9.6504	6.6772	6.6457	9.8965

En la tabla 18 se muestran las energías de los diastereoisómeros de la molécula CA-4j. Los valores en la energía de formación de cada uno de los diastereoisómeros no difieren unos de otros; sin embargo, se observa que el compuesto *R, R* y *S, R* son los más inestables y los valores de entalpía de formación del isómero *R, S* y *S, S* son muy cercanos, siendo así de mayor estabilidad, lo que ocurre cuando el bencilo se encuentra en conformación distinta al grupo NBoc, por lo tanto no chocan entre sí los grupos. El mejor compuesto de esta serie es el CA-4j (*3R, 6R*) con la mejor energía de acoplamiento, a pesar de no ser de los compuestos de mayor estabilidad.

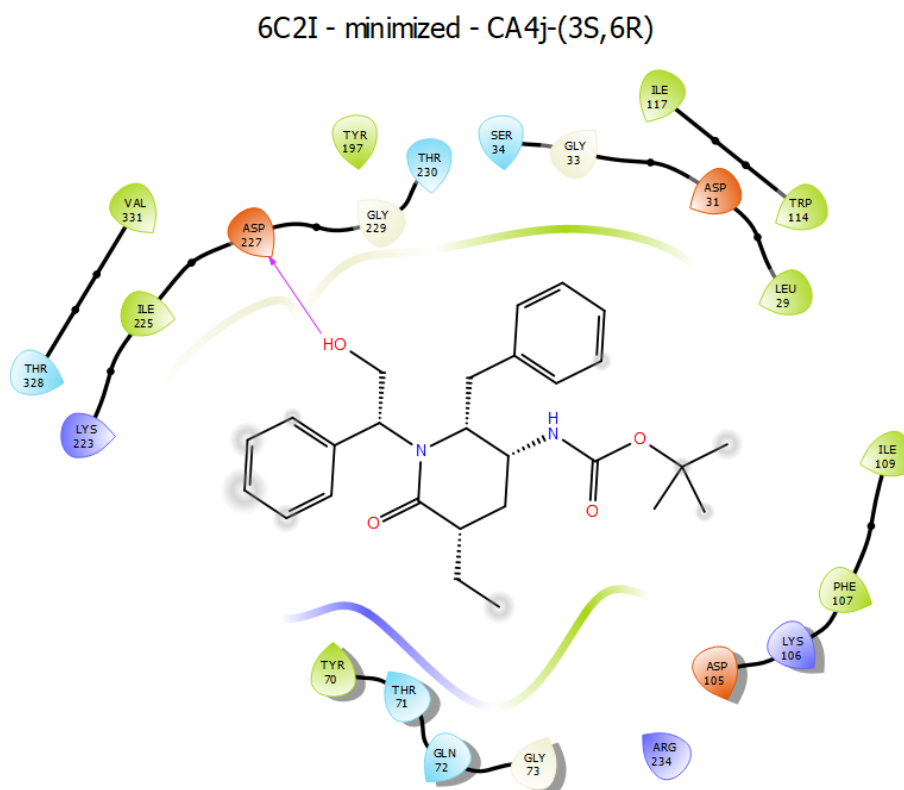
El diastereoisómero (*3S, 6R*) tiene una energía total casi igual al (*3R, 6R*) y el diastereoisómero (*3R, 6S*) tiene una energía muy parecida al (*3S, 6S*), este resultado puede atribuirse a la interacción que más afecta a nivel estérico, el grupo bencilo en la posición 6 del anillo.

Los residuos con los que tienen interacción el ligando CA-4j (*3S, 6R*) son: Leu29, Asp31, Gly33, Ser34, Tyr70, Thr71, Gln72, Gly73, Asp105, Lys106, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Tyr197, Lys223, Ile225, Asp227, Gly229, Thr230, Thr328 y Val331.

De las interacciones más fuertes que tiene este ligando es con el Asp227, se trata de un puente de hidrógeno entre alguno de los oxígenos del carbonilo presentes en el aspartato y el hidrógeno del hidroxilo perteneciente al fenilglicinol. También se presentan interacciones polares con Tyr70, THR71, Gln72, Thr230, Gly229 y Val331. La glicina al ser un aminoácido muy pequeño puede interactuar por la parte del amino o por el oxígeno, que son las partes negativas con el hidrógeno del hidroxilo del fenilglicinol.

La Thr71 tiene zonas con cargas parciales positivas y negativas, por lo que puede interactuar el par de electrones libres del N o del O con el C del carbonilo que se encuentra en el anillo o bien puede existir interacción entre los hidrógenos de los hidroxilos de la treonina con el oxígeno o el nitrógeno de la piridona (Figura 24).

El diastereoisómero CA-4j (3*R*, 6*R*) tubo la mejor valor EA, parecería que tiene menor número de residuos cerca de él vs isómero CA-4j (3*S*, 6*R*). Sin embargo, las interacciones que presenta el primero son más fuertes. Hubo apilamiento π entre el fenol de la tirosina y el fenilo del fenilglicinol; este tipo de interacciones tienen un papel importante en la estabilización de estructuras macromoleculares que involucran a los ácidos nucleicos, proteínas, así como pequeñas moléculas que contienen este tipo de anillos y forman complejos en las células. Además, existen 2 puentes de hidrógeno, del hidrógeno del fenilglicinol hacia el grupo amino cerca del ácido carboxílico de la Gln72 o hacia cualquiera de los oxígenos de los carbonilos del aminoácido. Otro puente de hidrógeno ocurre entre el hidrógeno enlazado al nitrógeno del NBoc y el oxígeno del carbonilo y/o el nitrógeno junto al ácido carboxílico de la Lys106 (Figura 35).



6C2I - minimized - CA4j-(3R,6R)

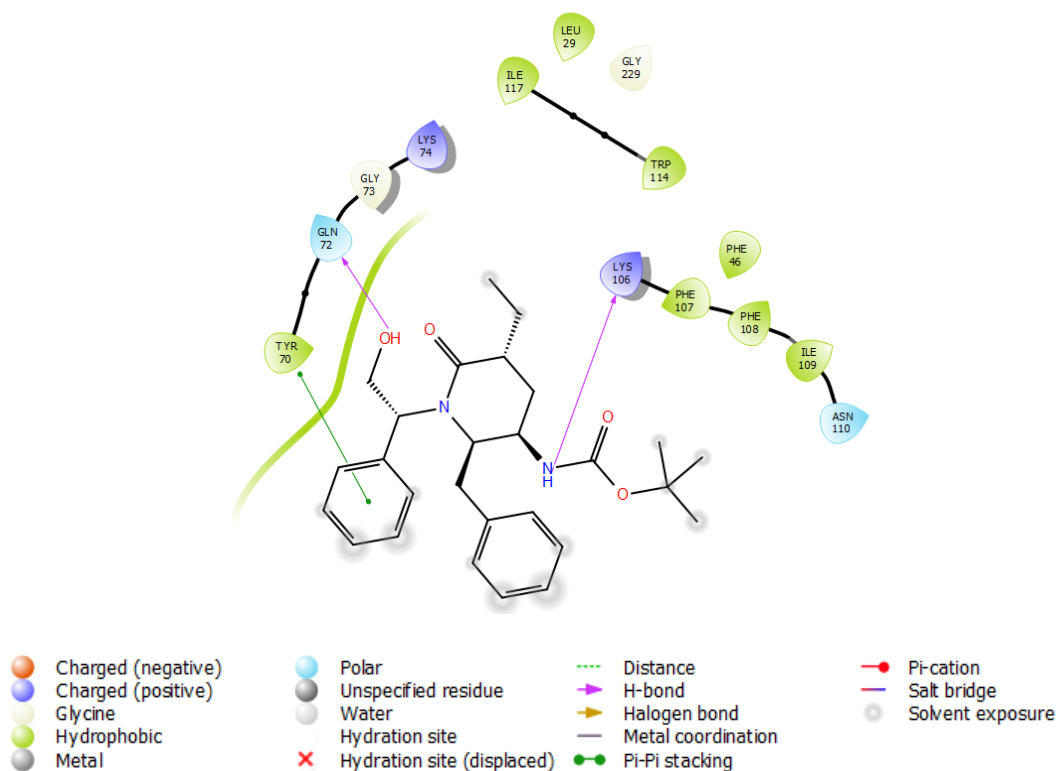


Figura 35. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-4j (3S, 6R) y CA-4j (3R, 6S) con BACE1.

Tabla 18. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-4y.

Energy (kcal/mol)	CA-4y (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-4y (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-4y (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-4y (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
ΔH_f°	-145.682	-145.221	-147.800	-148.599
EA	-3.324	-3.407	-2.869	-4.508
MM2				
Stretch	3.3333	2.6802	2.7622	3.4623
Bend	14.1829	13.5538	13.3287	13.9953

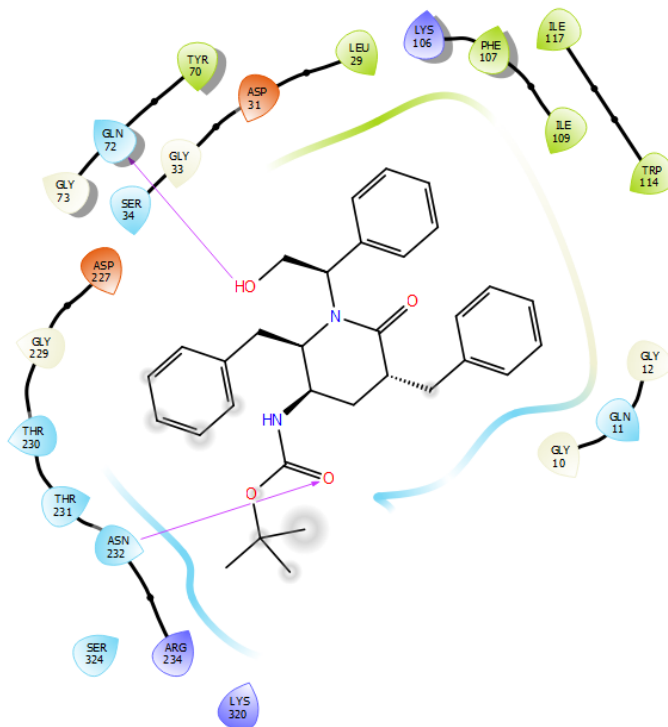
Stretch-Bend	0.8403	0.6661	0.6755	0.8794
Torsion	-10.852	-10.1094	-8.9819	-12.7227
Non-1,4 VDW	-11.3538	-18.4028	-20.4059	-9.3034
1,4 VDW	30.7655	30.3996	30.6728	30.7416
Dipole/Dipole	-13.3828	-12.3397	-12.2531	-13.6124
Total Energy	13.5335	6.4478	5.7982	13.4401

S, *R* y *R*, *S* son los compuestos más inestables de los 4, mientras que los *S*, *S* y *R*, *R* son los más estables. La mayor estabilidad da mejor interacción con el target objetivo. Aquí, el mejor compuesto es el *R*, *R* por su mejor EA con BACE1.

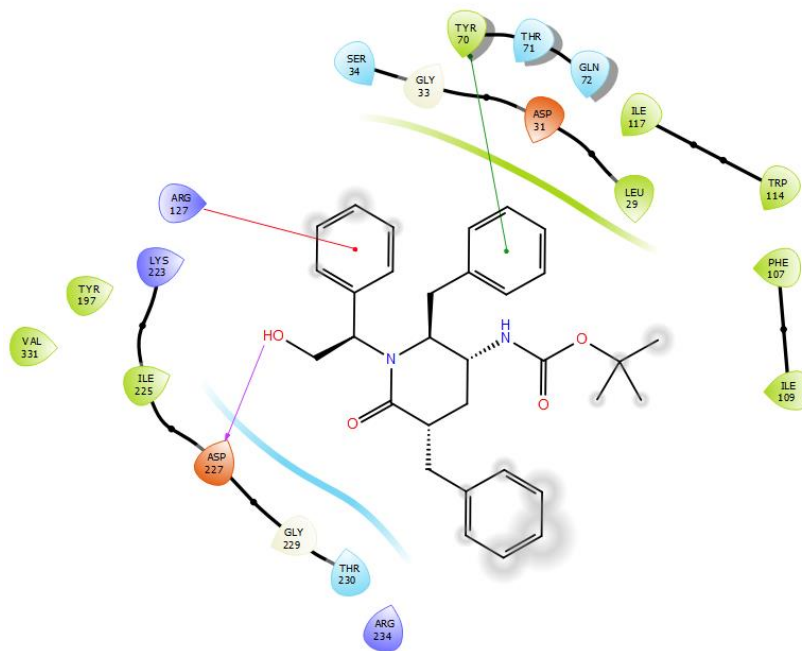
El compuesto CA-4y (*3R*, *6R*) tuvo EA menos favorable, presentó 2 puentes de hidrógenos; uno, entre el hidrógeno del hidroxilo del fenilglicinol y los oxígenos de los carbonilos y el nitrógeno adyacente al ácido carboxílico de la Gln72. El segundo puente de hidrógeno se localiza entre el oxígeno del Boc y el hidrógeno del hidroxilo y/o el hidrógeno de cualquiera de los 2 grupos amino del Asn232. Las interacciones polares ocurrieron con Gly10, Gln11, Gly12, Thr231, Asn232, Arg234, Lys320. El resto son interacciones hidrofóbicas en la parte del listón en verde y el resto fueron polares o hidrofóbicas dependiendo de si existen moléculas de agua en las zonas de interacción.

Por otro lado, el compuesto con mejor EA es el CA-4y (*3S*, *6S*). Por consiguiente, esta molécula presenta mejor interacción con los residuos de BACE1. Una de las interacciones interesantes es la interacción catión π que ocurre entre Arg127, cargada positivamente y el fenilo del fenilglicinol. Esta interacción resulta de alta fuerzas atractivas entre entidades cargadas positivamente y la nube π de grupos aromáticos. Estas interacciones se llevan a cabo a corta distancia y son de tipo no covalente. En las membranas de las células, estas interacciones energéticamente significativas tienen múltiples características ventajosas. Una de ellas es la geometría de coordinación para que el catión interactúe con el momento cuadrupolar del anillo aromático. [34] Además, entre el anillo aromático de la Tyr70 y la nube π del bencilo en la posición 6 del anillo.

6C2I - minimized - CA4y-(3R,6R)



6C2I - minimized - CA4y-(3S,6S)



- | | | | |
|--|---|--|--|
| ● Charged (negative) | ● Polar | --- Distance | ● Pi-cation |
| ● Charged (positive) | ● Unspecified residue | ▶ H-bond | — Salt bridge |
| ● Glycine | ○ Water | ▶ Halogen bond | ○ Solvent exposure |
| ● Hydrophobic | ⊗ Hydration site | — Metal coordination | |
| ● Metal | ⊗ Hydration site (displaced) | ●—● Pi-Pi stacking | |

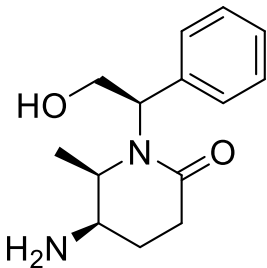
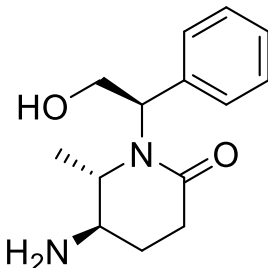
Figura 36. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-4h (3R, 6S) y CA-4y (3S, 6S) con BACE1.

1.7.5 Serie CA-5

Para la serie 5, los compuestos con mejor EA tienen configuración *R* (CA-5VI y CA-5X), con entalpía de formación ligeramente positiva en comparación con su enantiómero y por lo tanto de menos estable.

El enantiómero *S* del compuesto CA-5VII es el de mejor EA y a su vez ligeramente más estable que su contraparte. En esta serie el tipo de radical utilizado no sigue un patrón en particular que determine una mejor interacción con el target, puesto que dentro de los mejores valores de EA se encuentra uno de cadena corta (metilo), uno con alta densidad electrónica (bencilo) y otro de cadena larga (propilo).

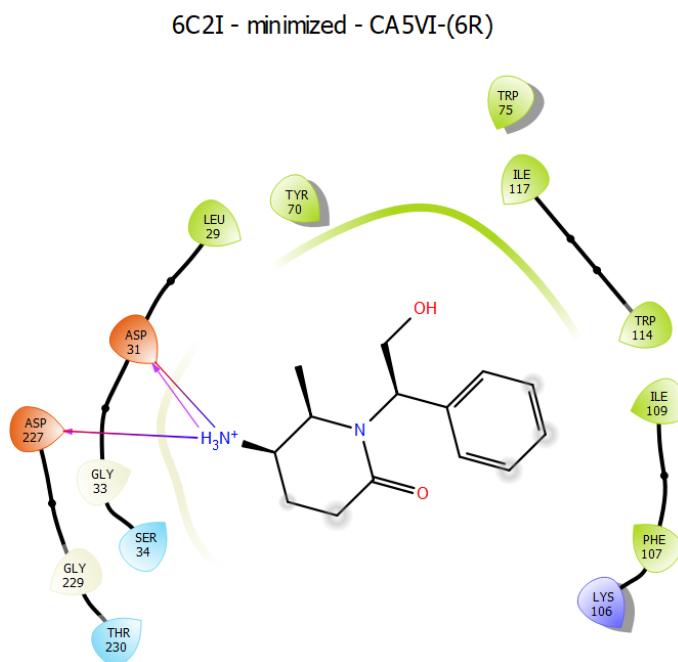
Tabla 19. ΔH_f° , EA y MM2 de los enantiómeros del compuesto CA-5VI.

Energy (kcal/mol)	CA-5VI (6 <i>R</i>)	CA-5VI (6 <i>S</i>)
		
ΔH_f°	-74.492	-77.528
EA	-5.943	-5.104
MM2		
Stretch	1.5116	1.1742
Bend	7.1788	6.4275
Stretch-Bend	0.4507	0.3202
Torsion	-1.7660	-1.2603
Non-1,4 VDW	-2.3254	-4.7629
1,4 VDW	14.4521	14.4417

Dipole/Dipole	-9.8811	-8.2347
Total Energy	9.6209	8.1056

El compuesto CA-5VI (6R) es el isómero con mejor EA con docking score de -5.943 kcal/mol. Dos puentes de hidrógeno con la cadena lateral de los aminoácidos Asp31 y Asp227. Con estos aminoácidos también se identifican dos puentes salinos con el grupo amino protonado de la posición 6 del anillo de piperidona. Además, hay 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227. Existen 6 interacciones hidrofóbicas con los aas Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114 e Ile117. Además 2 interacciones polares con Ser34 y Thr230. También hay una interacción de carga positiva con Lys106.

El isómero *S* del compuesto CA-5VI presenta un docking score de -5.104 Kcal/mol. Los residuos Asp31 y Asp227 forman puente de hidrógeno con al grupo amino protonado del ligando. Hay 2 interacciones polares con Ser34 y Thr230. Los residuos cargados negativamente Asp31 y Asp227 también se encuentran involucrados en la interacción con el ligando. 7 interacciones hidrofóbicas con los residuos Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117 y Tyr197 fueron identificados (Figura 37). Ambos enantiómeros tuvieron las mismas interacciones; sin embargo, el último tiene un docking score menos favorable que el isómero *R*.



6C2I - minimized - CA5VI-(6S)

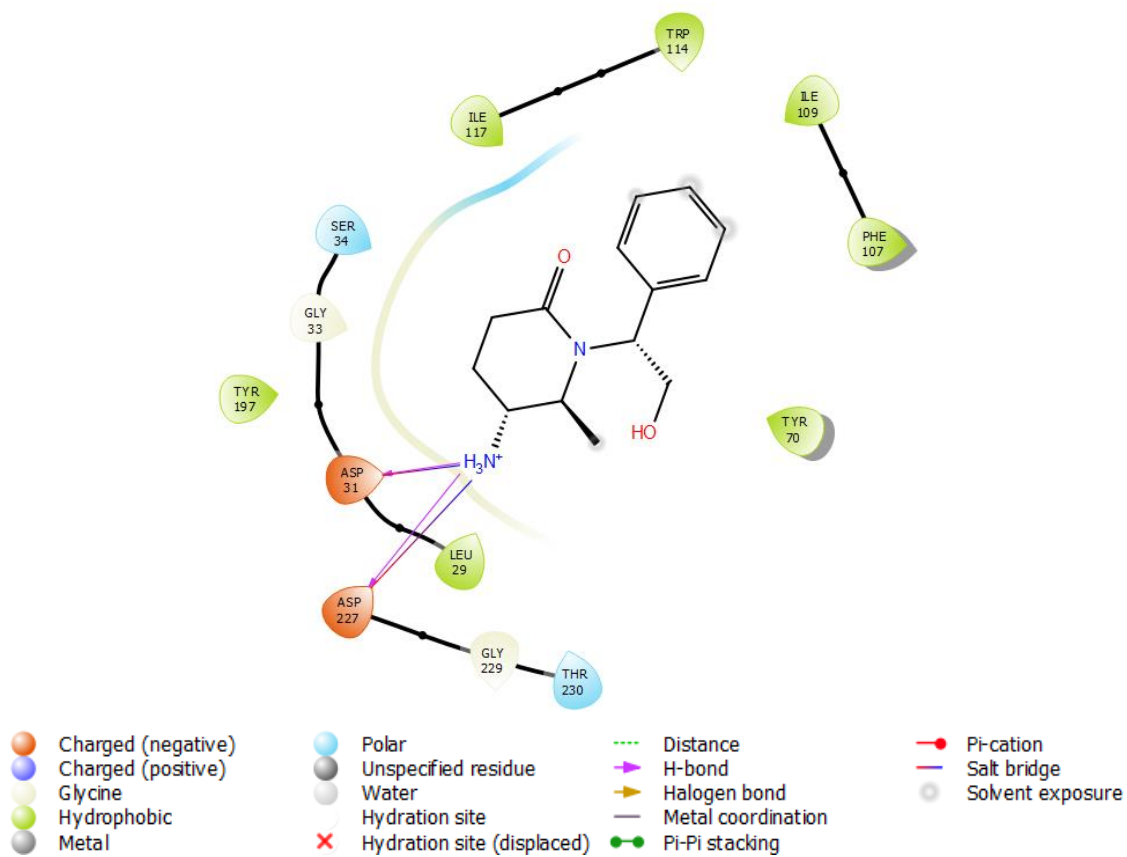


Figura 37. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-5VI (6R) y CA-5VI (6S) con BACE1.

Tabla 20. ΔH_f° , EA y MM2 de los enantiómeros del compuesto CA-5VII.

Energy (kcal/mol)	CA-5VII (6R)	CA-5VII (6S)
ΔH_f°	-84.888	-85.055
EA	-4.273	-5.275
	MM2	

Stretch	1.8391	1.3867
Bend	8.3656	7.6097
Stretch-Bend	0.5897	0.4439
Torsion	-0.5657	0.3683
Non-1,4 VDW	-3.0622	-6.5165
1,4 VDW	16.1392	16.5085
Dipole/Dipole	-9.8414	-8.2709
Total Energy	13.4642	11.5296

El enantiómero más estable tiene la mejor EA y beneficioso como lo descrito en la serie 4.

El compuesto CA-5VII (6*S*) cuenta con las interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117. Hubo una interacción de carga positiva con la Lys106 y 3 interacciones polares con Ser34, Gln72 y Thr230. Además, 2 puentes de H con la Asp31 y con Gln72 y un puente salino entre el grupo amino y la Asp31.

El compuesto CA-5VII (6*R*) tiene interacción hidrofóbica con Leu29, Tyr70, Trp75, Phe107, Ile109, Ile117, Trp114. También 4 interacciones polares con Gln11, Ser34, Thr230 y Thr231, 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp 227, 2 puentes de hidrógeno del amino de la posición 5 del anillo de la piridona y Asp31 y 227; además de 2 puentes salinos sobre los grupos antes mencionados.

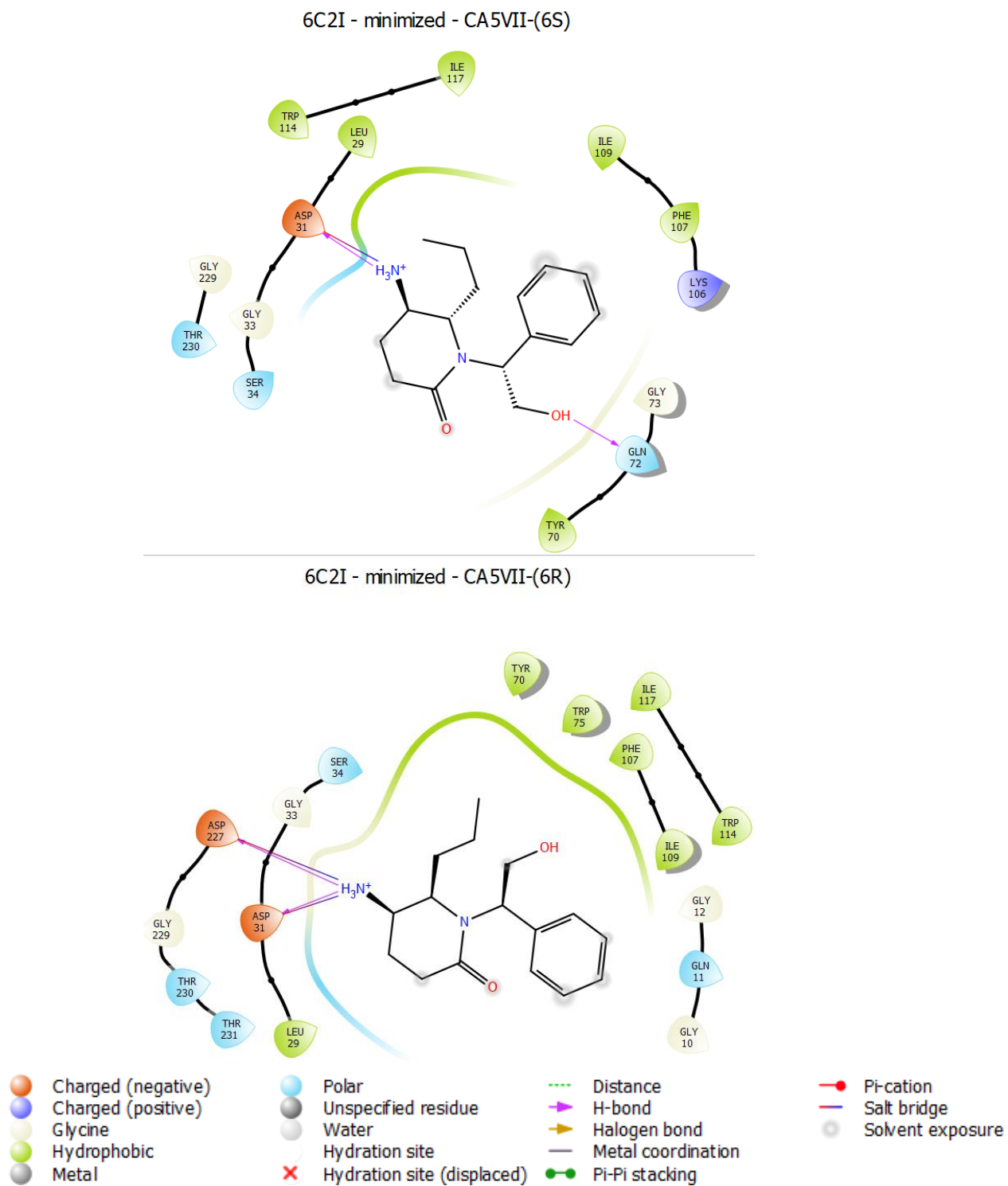
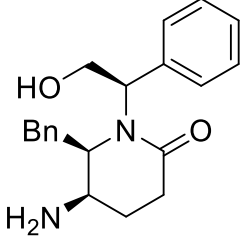
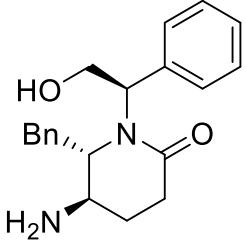


Figura 38. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-5VII (6S) y CA-5VII (6R) con BACE1.

Tabla 21. . H_f^o, EA y MM2 (kcal/mol) de los enantiómeros del compuesto CA-5X.

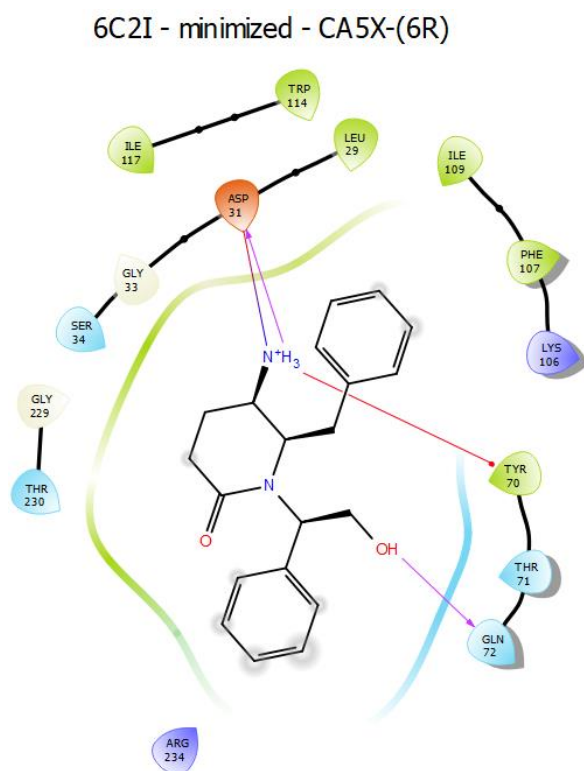
Energy (kcal/mol)	CA-5X (6 <i>R</i>)	CA-5X (6 <i>S</i>)
		
ΔH_f°	-51.671	-52.645
EA	-5.41	-4.816
MM2		
Stretch	2.0716	1.5193
Bend	8.3364	6.7487
Stretch-Bend	0.5666	0.3506
Torsion	-7.0412	-6.9077
Non-1,4 VDW	-5.3061	-6.9720
1,4 VDW	20.5975	20.6376
Dipole/Dipole	-9.5649	-7.9136
Total Energy	9.6598	7.4629

La diferencia en la energía de formación entre ambos enantiómeros no es importante, sin embargo, cabe destacar que el compuesto más estable no es el que mejor interacciona con la BACE1.

El compuesto CA-5X (6*R*) cuenta con dos puentes de hidrógeno entre el hidroxilo del fenilglicinol y la Gln72, además del presente entre el grupo amino protonado y la Asp31, resaltando que entre estos dos últimos grupos se presenta un puente salino. Los puentes salinos son de las interacciones no covalentes más fuertes, puesto que es una interacción entre dos moléculas ionizadas mezclando 2 contribuciones, un puente de hidrógeno y una interacción electrostática. [32]

Por otro lado, este isómero presenta 6 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114 y Ile117 y 4 interacciones polares con Ser34, Thr71, Gln72 y Thr230, 2 interacciones de carga positiva con Lys106 y Arg234 y una interacción negativa con Asp31.

Ocurren interacciones hidrofóbicas del compuesto CA-5X (6S) con la cadena lateral de Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117 y Tyr197, 4 interacciones polares con Ser34, Gln72, Thr230 y Thr231. Además, 2 interacciones de carga positiva con Lys106 y Arg234 y 2 de carga negativa con Asp31 y Asp227. Hay dos puentes de H con Gly229 y el hidroxilo del fenilglicinol y de la Asp227 con el amino protonado del radical en la posición 6 del anillo de la piperidona. Adicionalmente, 2 puentes salinos, entre este grupo amino de la posición 6 del anillo con la Asp31 y con Asp227, ambos residuos con carga negativa. Finalmente, ocurre apilamiento π entre el anillo aromático de la Tyr70 y el fenilo del fenilglicinol.



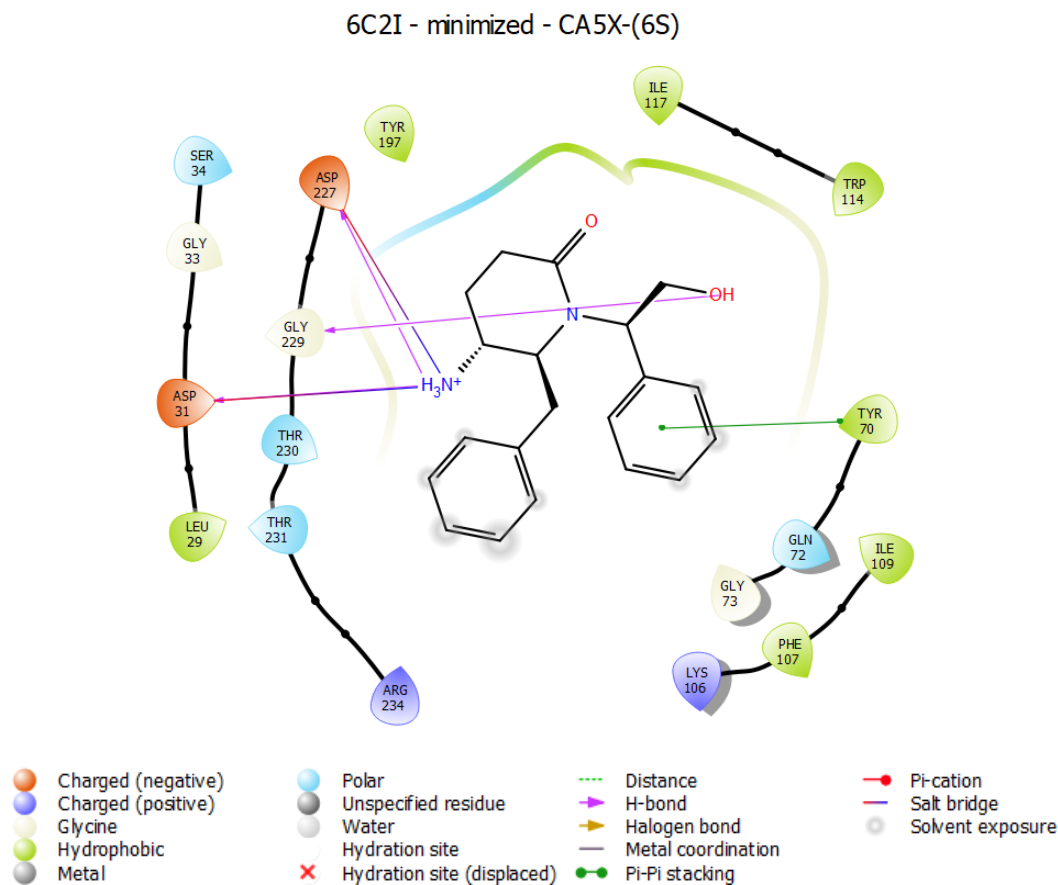
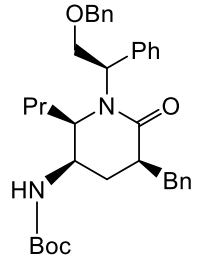
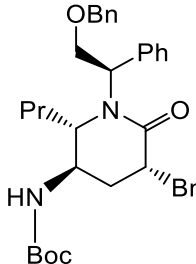
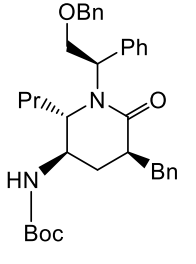
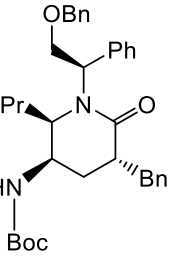


Figura 39. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-5X (6R) y CA-X (6S) con BACE1.

1.7.6 Serie CA-6

En la serie 6, tres de los diastereoisómeros con mejor EA son; CA-6v (3R, 6S), CA-6x (3S, 6S) y CA-6y (3S, 6R) (Tablas 23, 24 y 25) y resultaron ser los más estables. El compuesto CA-6v (3R, 6S) es el más estable dentro de la serie 6 y es el segundo diastereoisómero más estable de los isómeros del compuesto CA-6v, lo cual puede dar pauta a ser elegido para ser sintetizado. Los radicales que generan mejor interacción con BACE1 son el bencilo, fenilo y propilo, siendo el bencilo el más frecuente dentro de los 3 grupos de diastereoisómero mencionados anteriormente.

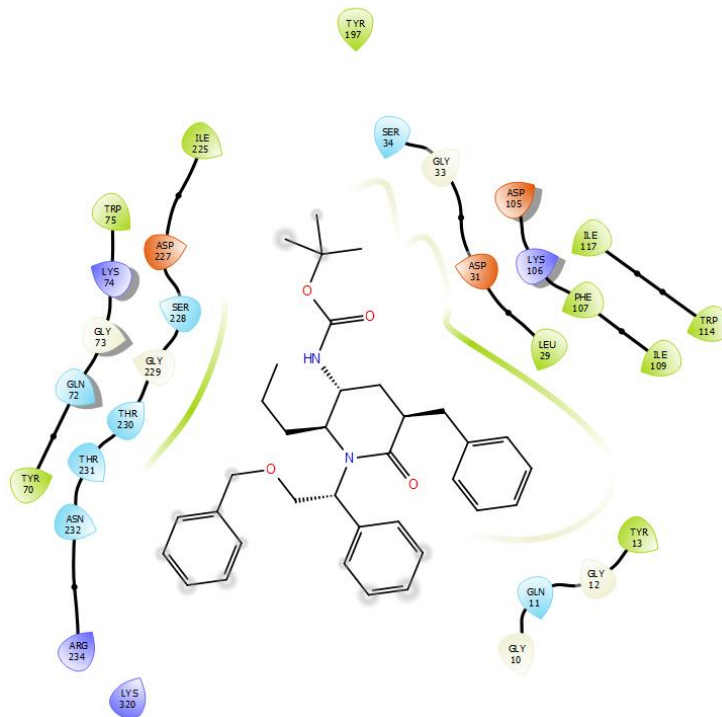
Tabla 22. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-6v.

Energy (kcal/mol)	CA-6v (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-6v (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6v (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6v (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
				
ΔH_f°	-145.915	-156.543	-158.291	-155.705
EA	-3.627	-4.526	-3.665	-3.714
MM2				
Stretch	3.6540	3.1439	3.2315	3.8027
Bend	15.1374	15.0487	14.8442	14.9121
Stretch-Bend	0.9665	0.8416	0.8532	1.0036
Torsion	-10.9217	-8.8982	-8.0000	-12.9238
Non-1,4 VDW	-10.2396	-19.0189	-20.7818	-8.4517
1,4 VDW	35.1044	35.0222	35.3108	35.0857
Dipole/Dipole	-12.9908	-11.9917	-11.9025	-13.2119
Total Energy	20.7101	14.1476	13.5555	20.2167

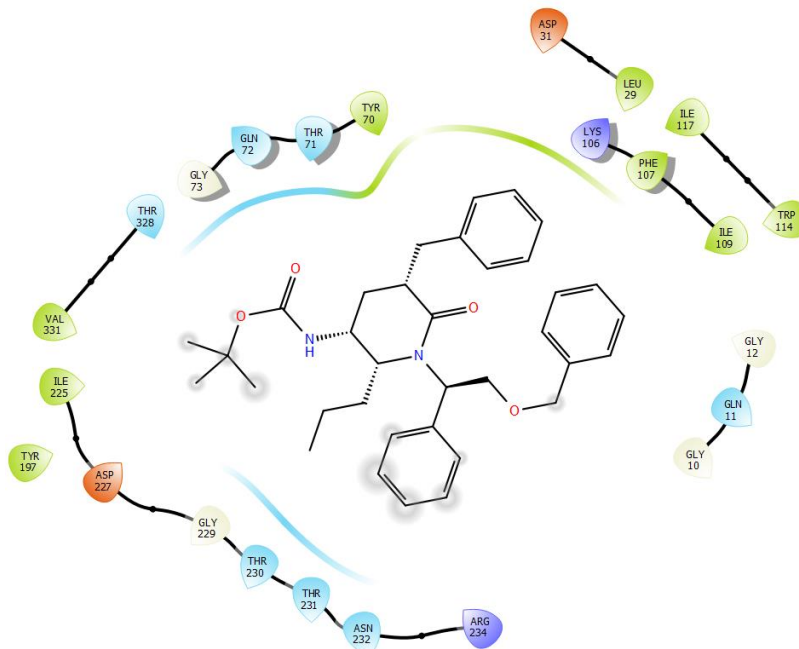
Como se observa en la tabla 23 el compuesto con mejor EA es el segundo más estable. Los compuestos de la serie 6 presentan mayor número de interacciones que el resto de las series debido a que, además de tener los 2 sustituyentes en la posición 3 y 6 del anillo, el grupo amino se encuentra protegido con NBoc, un grupo más voluminoso y el grupo hidroxilo también con protección. El compuesto CA-6v (3*R*, 6*S*), con mejor EA tiene 9 interacciones hidrofóbicas con Tyr13, Leu29, Tyr70, Trp75, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Tyr197 e Ile225. También 7 interacciones polares con Gln11, Ser34, Gln72, Ser228, Th 230, Thr231, Asn232, 4 interacciones positivas con Lys74, Lys106, Arg234 y Lys230 y 3 interacciones con carga negativa con Asp31, Asp105 y Asp227.

De los 4 isómeros de CA-6v, el diastereoisómero con EA menos favorable es el (3*S*, 6*R*). En esta molécula hubo 8 interacciones de tipo hidrofóbico con Leu29, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Tyr197, Ile225 y Val331. Además, 7 interacciones polares con Gln11, Thr71, Gln 72, Thr230, Thr231, Asn232 y Thr328. También 2 interacciones positivas con Asp31 y Asp227 y 2 interacciones negativas con Lys106 y Arg234.

6C2I - minimized - CA6v-(3R,6S)



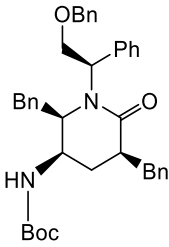
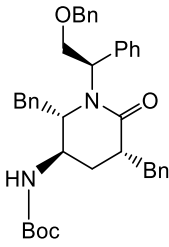
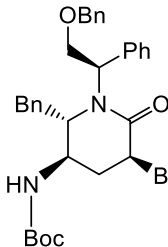
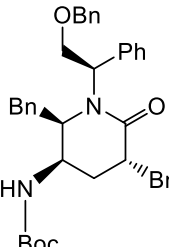
6C2I - minimized - CA6v-(3S,6R)



- | | | | |
|--------------------|----------------------------|--------------------|------------------|
| Charged (negative) | Polar | Distance | Pi-cation |
| Charged (positive) | Unspecified residue | H-bond | Salt bridge |
| Glycine | Water | Halogen bond | Solvent exposure |
| Hydrophobic | Hydration site | Metal coordination | |
| Metal | Hydration site (displaced) | Pi-Pi stacking | |

Figura 40. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-6v (3R, 6S) y CA-6v (3S, 6R) con BACE1.

Tabla 23. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-6x.

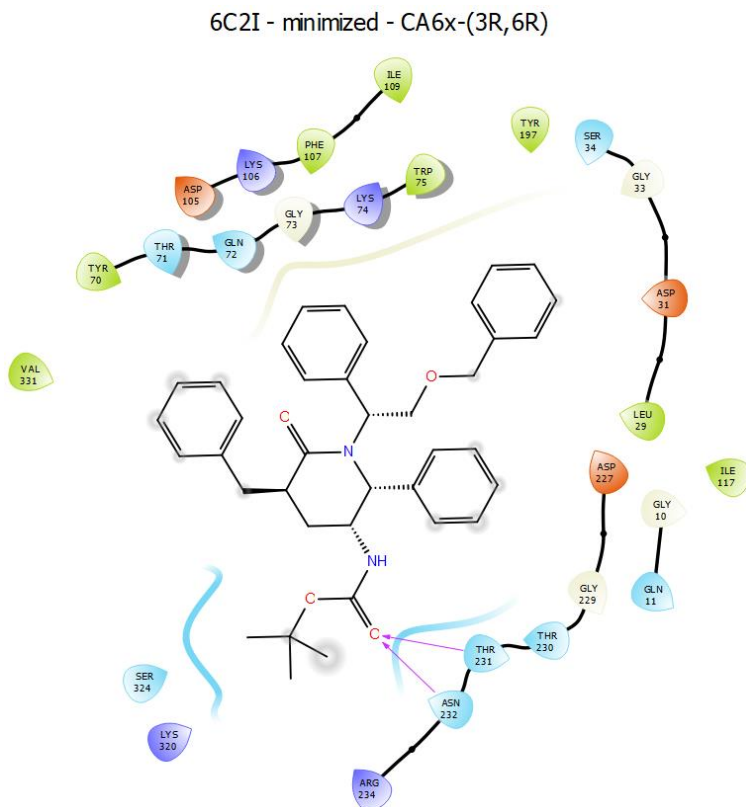
Energy (kcal/mol)	CA-6x (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-6x (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6x (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6x (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
				
ΔH_f°	-121.888	-123.449	-125.444	-124.644
EA	-3.484	-3.574	-4.71	-2.820
MM2				
Stretch	3.8664	3.2283	3.2946	4.0409
Bend	14.7359	14.3038	13.9150	14.6416
Stretch-Bend	0.9252	0.7699	0.7709	0.9743
Torsion	-16.7286	-16.5525	-15.0209	-19.0541
Non-1,4 VDW	-13.3021	-19.7952	-21.8994	-10.7023
1,4 VDW	39.6892	39.3277	39.5306	39.7045
Dipole/Dipole	-12.3586	-11.5626	-11.4950	-12.6722
Total Energy	16.8274	9.7195	9.0958	16.9328

Para esta serie, el compuesto con mejor interacción con BACE1 es el más estable.

El diastereoisómero CA-6x (3*S*, 6*S*) tiene interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117, Tyr197, Ile225, 6 interacciones polares con Gln11, Thr71, Gln72, Thr230, Thr231 y Thr 328, 1 interacción de carga negativa con Asp31 y 3 con carga positiva con Lys106, Arg127 y Arg234. También presentó un puente de hidrógeno con Thr71.

El diastereoisómero CA-6x (3*R*, 6*R*) establece 8 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Ile117, Tyr197, Val331. 8 interacciones polares con Gln11, Ser34, Thr71,

Gln72, Thr230, Thr231, Asn232 y Ser324. 3 interacciones de carga negativa con Asp31, Asp 105, Asp 227 y 4 con carga positiva con Lys74, Lys106, Arg234 y Lys320. Así mismo se observan 2 puentes de hidrógeno, con Thr231 y Asn232.



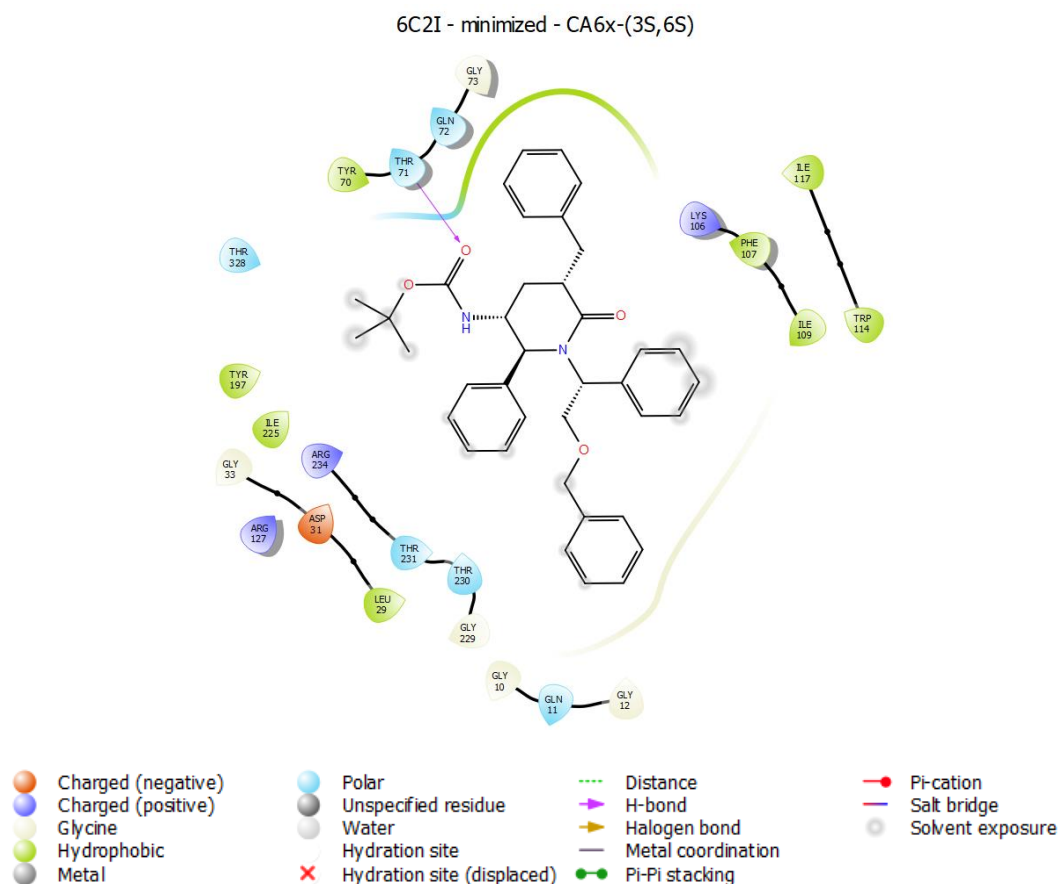


Figura 41. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-6x (3S, 6S) y CA-6x (3R, 6R) con BACE1.

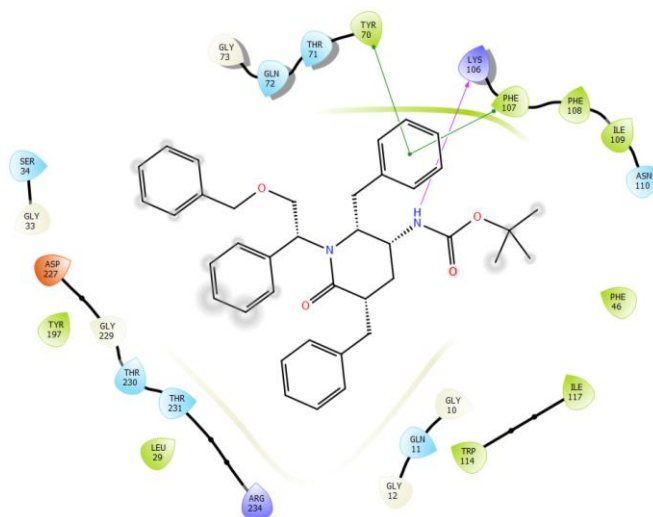
El compuesto CA-6x (3S, 6R) interacciona hidrofólicamente con 9 residuos aminoacídicos: Leu29, Phe46, Tyr70, Phe107, Phe108, Ile109, Trp114, Ile117, Ty 197. También 7 interacciones polares con Gln11, Ser34, Thr71, Gln72, Asn110, Thr230 y Thr231. 2 interacciones de carga positiva con Lys106 y Arg234 y únicamente una interacción con carga negativa con Asp227. En este caso se identifica un puente de hidrógeno con Lys106 y 2 apilamientos π del grupo bencilo de la posición 6 del anillo de la piridona y en los anillos aromáticos de los residuos Tyr70 y Phe107. Tanto el puente de hidrógeno como el apilamiento π , son interacciones fuertes, lo que propicia que esta molécula tenga la EA más favorecida de todos los diastereoisómeros y por lo tanto mejor interacción con BACE1.

Tabla 24. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-6y.

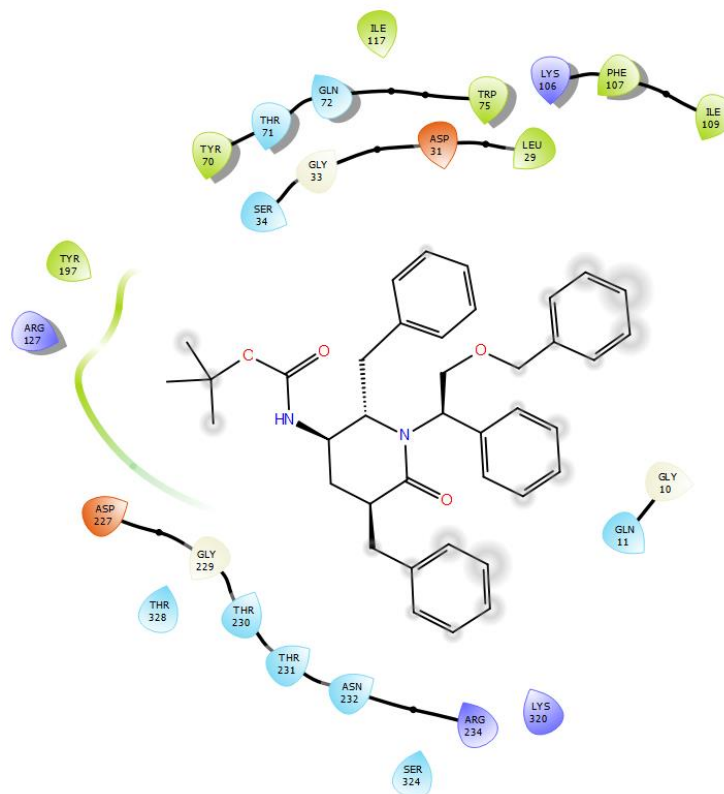
Energy (kcal/mol)	CA-6y (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-6y (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6y (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-6y (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
ΔH_f°	-118.478	-116.920	-118.477	-116.920
EA	-4.586	-4.349	-2.713	-3.22
MM2				
Stretch	3.2325	3.2219	3.2325	3.2219
Bend	13.7988	14.2093	13.7988	14.2093
Stretch-Bend	0.7218	0.7480	0.7218	0.7480
Torsion	-16.8278	-18.2626	-16.8278	-18.2626
Non-1,4 VDW	-20.3323	-19.2169	-20.3323	-19.2169
1,4 VDW	39.2933	39.1768	39.2933	39.1768
Dipole/Dipole	-11.7423	-11.3958	-11.7423	-11.3958
Total Energy	8.1440	8.4807	8.1440	8.4807

Para los compuestos CA-6y también ocurre que el compuesto con mejor EA es el de mayor estabilidad termodinámica. El compuesto CA-6y (3*S*, 6*S*) presenta 7 interacciones hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Trp75, Phe107, Ile109, Ile117, Tyr197. 9 interacciones polares con Gln11, Ser34, Thr71, Gln72, Thr230, Thr231, Asn232, Ser324 y Thr328. Con Asp31 y 227 se establece interacción de tipo negativa. Tiene 4 interacciones de carga positiva con Lys106, Arg127, Arg234 y Lys320. En este caso no se observan ninguna otra interacción fuerte por lo que este diastereoisómero es el menos favorable termodinámicamente.

6C2I - minimized - CA6y-(3S,6R)



6C2I - minimized - CA6y-(3S,6S)



- | | | | |
|--|---|--|--|
| ● Charged (negative) | ● Polar | --- Distance | ● Pi-cation |
| ● Charged (positive) | ● Unspecified residue | ▶ H-bond | — Salt bridge |
| ● Glycine | ● Water | ▶ Halogen bond | ○ Solvent exposure |
| ● Hydrophobic | ● Hydration site | — Metal coordination | |
| ● Metal | X Hydration site (displaced) | ●—● Pi-Pi stacking | |

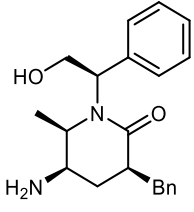
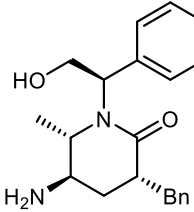
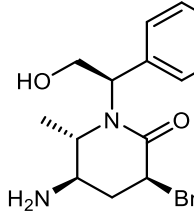
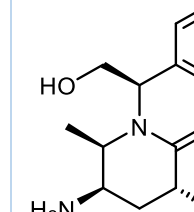
Figura 42. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-6y (3S, 6R) y CA-6y (3S, 6S) con BACE1.

1.7.7 Serie CA-7

Finalmente, los 3 compuestos con mejor EA fueron CA-7u (3*S*, 6*S*), CA-7q (3*R*, 6*S*) y CA-7s (3*R*, 6*S*) dentro de la serie 7 (Figuras 22, 23 y 24) y con el mejor EA vs las otras series. Cabe destacar que estos compuestos son más inestables de todas las series junto con los enantiómeros de las series CA-5X por tener ΔH_f° positiva de mayor valor.

En la serie 7, la EA se favorece cuando el radical de la posición 6 tiene estereoquímica *S*. Esto se vuelve especialmente importante a medida que el radical se vuelve más grande. En este caso, el propilo y fenilo puesto que un grupo voluminoso que se encuentre hacia el mismo lado que el metileno unido al hidroxilo, las nubes de densidad electrónica generan impedimento estérico.

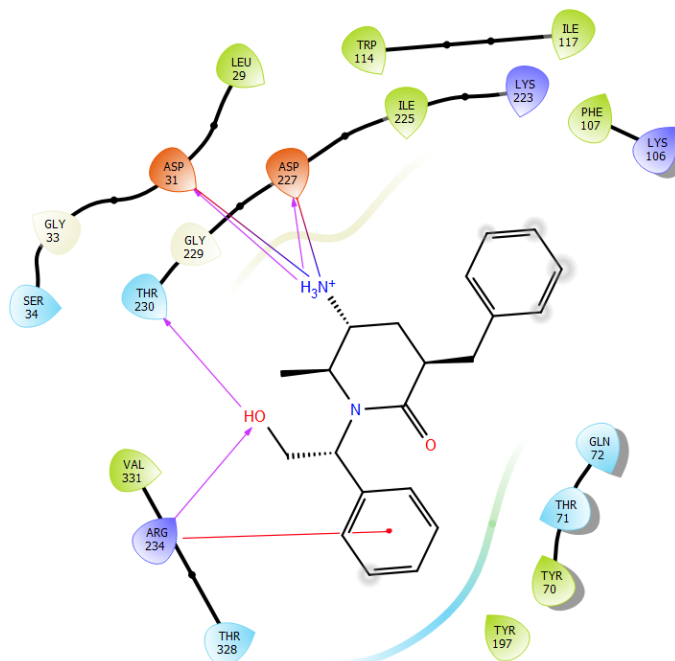
Tabla 25. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-7u.

Energy (kcal/mol)	CA-7u (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-7u (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-7u (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-7u (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
				
ΔH_f°	-52.574	-55.046	-55.001	-53.710
EA	-4.864	-5.128	-6.935	-4.964
MM2				
Stretch	1.9563	1.7465	1.7173	2.1069
Bend	7.9177	6.8571	7.1519	7.8335
Stretch-Bend	0.4898	0.3911	0.3888	0.5388
Torsion	-4.6475	-6.3263	-4.7349	-6.9859
Non-1,4 VDW	-5.2208	-6.5632	-9.0685	-3.8481
1,4 VDW	21.5750	21.3597	21.7193	21.3658
Dipole/Dipole	-9.2141	-7.7588	-7.6571	-9.4740
Total Energy	12.8564	9.7061	9.5167	11.5370

El compuesto CA-7u (3*S*, 6*S*) tiene interacción hidrofóbica con 8 residuos aminoacídicos: Leu29, Tyr70, Phe107, Trp114, Ile117, Tyr197, Ile225 y Val 331. Las interacciones polares fueron 5 con Ser34, Thr71, Gln72, Th230 y Thr 328. 3 interacciones de carga positiva con Lys106, Lys223, Arg234 y 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227. Esta molécula presenta 4 puentes de hidrógeno con As31 y 27, Thr 230 y Arg234. Además 2 puentes salinos entre el grupo amino protonado de la posición 5 del anillo y las Asp31 y 227. Finalmente, se genera una interacción π -catión entre Arg234 y el bencilo del fenilglicinol. Además de las interacciones hidrofóbicas, polares, de carga positiva y negativa, la interacción con el target se refuerza con los 4 puentes de hidrógeno, los 2 puentes salinos y el π -catión; ésta última, es una interacción no covalente relevante en la biología estructural y es considerada como una interacción amino-aromática. Este diastereoisómero es el que mejor interactúa con BACE1.

El compuesto CA-7u (3*S*, 6*R*) es el isómero con EA menos favorable, a diferencia del diastereoisómero (3*S*, 6*S*) con mejor EA, éste compuesto sólo tiene 2 puentes salinos con Asp31 y Asp227, y un puente de hidrógeno con Asp31. Las interacciones comunes son hidrofóbicas con Leu29, Tyr70, Phe107, Trp114, Ile117, Tyr197, Ile225 y Val331. Las interacciones polares ocurren con Ser34, Thr71, Thr230 y Thr328. Se observan 3 interacciones de carga positiva con Lys106, Arg127 y Arg234 y 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227.

6C2I - minimized - CA7u-(3*S*,6*S*)



6C2I - minimized - CA7u-(3S,6R)

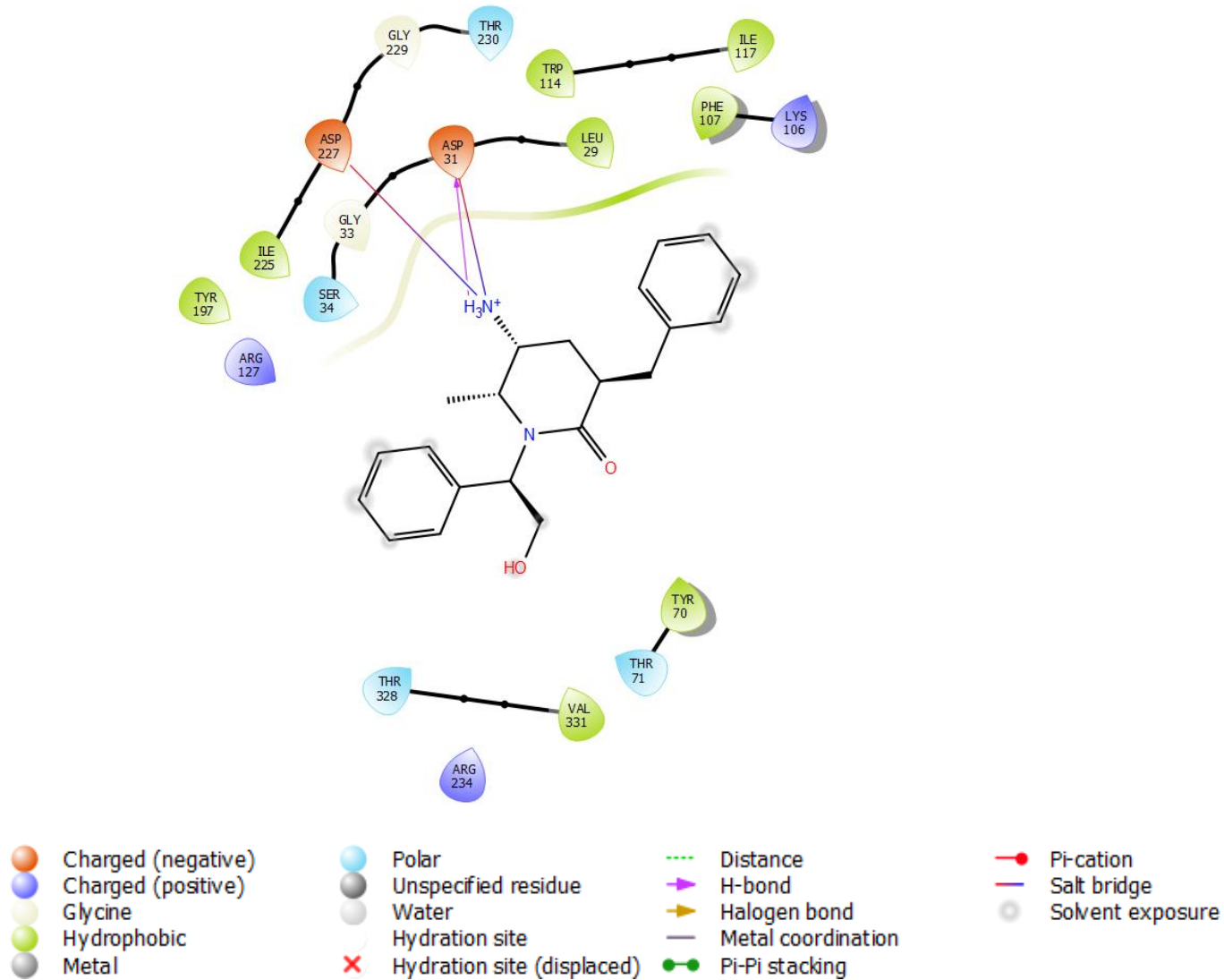
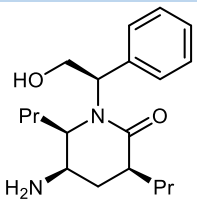
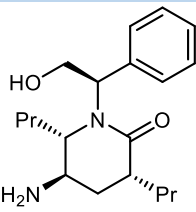
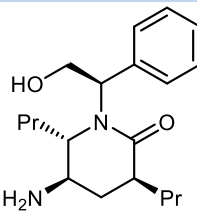
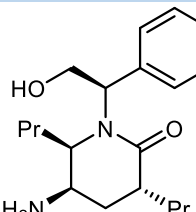


Figura 43. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-7u (3S, 6S) y CA-7u (3S, 6R) con BACE1.

Tabla 26. . ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-7q.

Energy (kcal/mol)	CA-7q (3 <i>S</i> , 6 <i>R</i>)	CA-7q (3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	CA-7q (3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	CA-7q (3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)
				
ΔH_f°	-98.215	-100.988	-104.355	-100.759
EA	-4.413	-6.229	-5.305	-5.654
MM2				
Stretch	2.2932	1.8950	1.8834	2.1130
Bend	10.5060	8.4337	8.5266	8.0557
Stretch-Bend	0.6986	0.5666	0.5632	0.6111
Torsion	1.7645	1.3343	2.6977	2.6113
Non-1,4 VDW	-3.9210	-7.7223	-7.3430	-4.4137
1,4 VDW	18.5917	19.4420	19.0683	18.4108
Dipole/Dipole	-9.8124	-8.2818	-8.3137	-9.8947
Total Energy	20.1207	15.6674	17.0825	17.4935

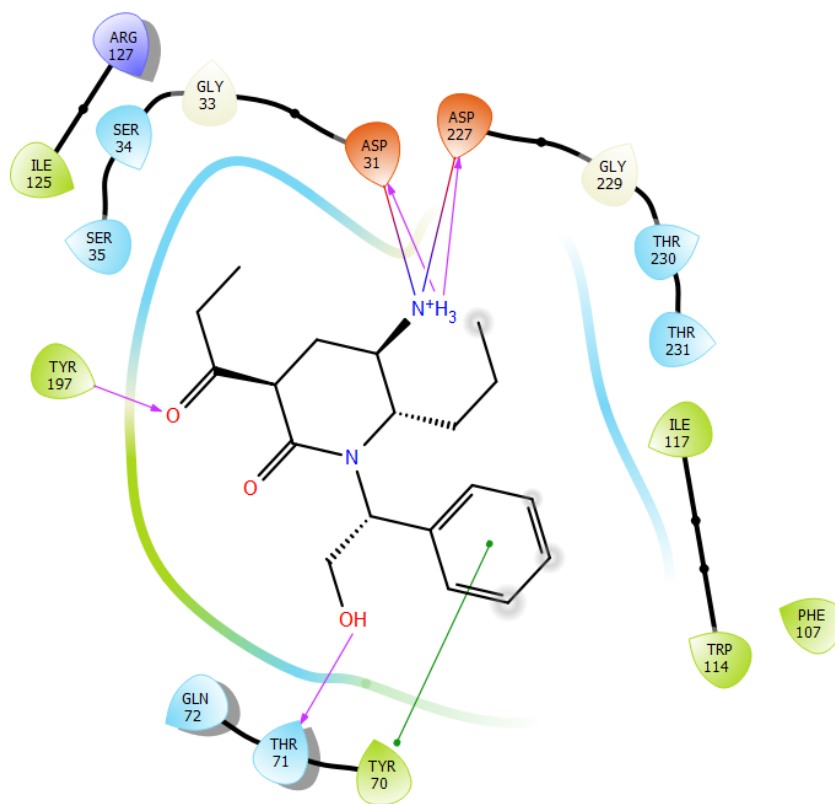
Para los compuestos CA-7q, los valores de calor de formación difieren un poco más del resto; el de mejor EA se encuentra dentro de los más estables.

El compuesto CA-7q (3*R*, 6*S*) es el diastereoisómero con mejor EA de los cuatro, lo cual puede ser confirmado por los 4 puentes de hidrógeno con Asp 31, Thr 71, Tyr 197, 2 puentes salinos con Ap 31 y Asp 227 y el apilamiento π - π que son las interacciones más potententes. Además de presentar interacciones comunes como las hidrofóbicas con Tyr 70, Trp 114, Ile 117, Ile 125 y Tyr 197. Se generan interacciones polares con Ser 34, Ser 35, Thr 71, Gln 72, Thr 230 y Thr 231. Con Asp 31 y 227 se establece interacción de tipo negativa. Únicamente una interacción de carga positiva con Arg 127.

En contraste, la molécula CA-7q (3*S*, 6*R*) (fig. 41) no cuenta con tantas interacciones como la CA-7q (3*R*, 6*S*), por ello, su EA es la menos favorable de los 4 diastereoisómeros. Sin

embargo, se detectan 2 puentes salinos también con los residuos Asp 31 y Asp 227 y únicamente un puente de hidrógeno también con Asp 31. Las interacciones hidrofóbicas se llevan a cabo con Leu 29, Tyr 70, Phe 107, Phe 109, Trp 114, Ile 117, Tyr 197 e Ile 225. En cuanto a las interacciones polares, éstas se presentan con Gln 11, Ser 34, Thr 71, Gln 72 y Thr 230. Se observan 2 interacciones de carga negativa con Asp 31 y Asp 227y una interacción de carga positiva con Lys106.

6C2I - minimized - CA7q-(3R,6S)



6C2I - minimized - CA7q-(3S,6R)

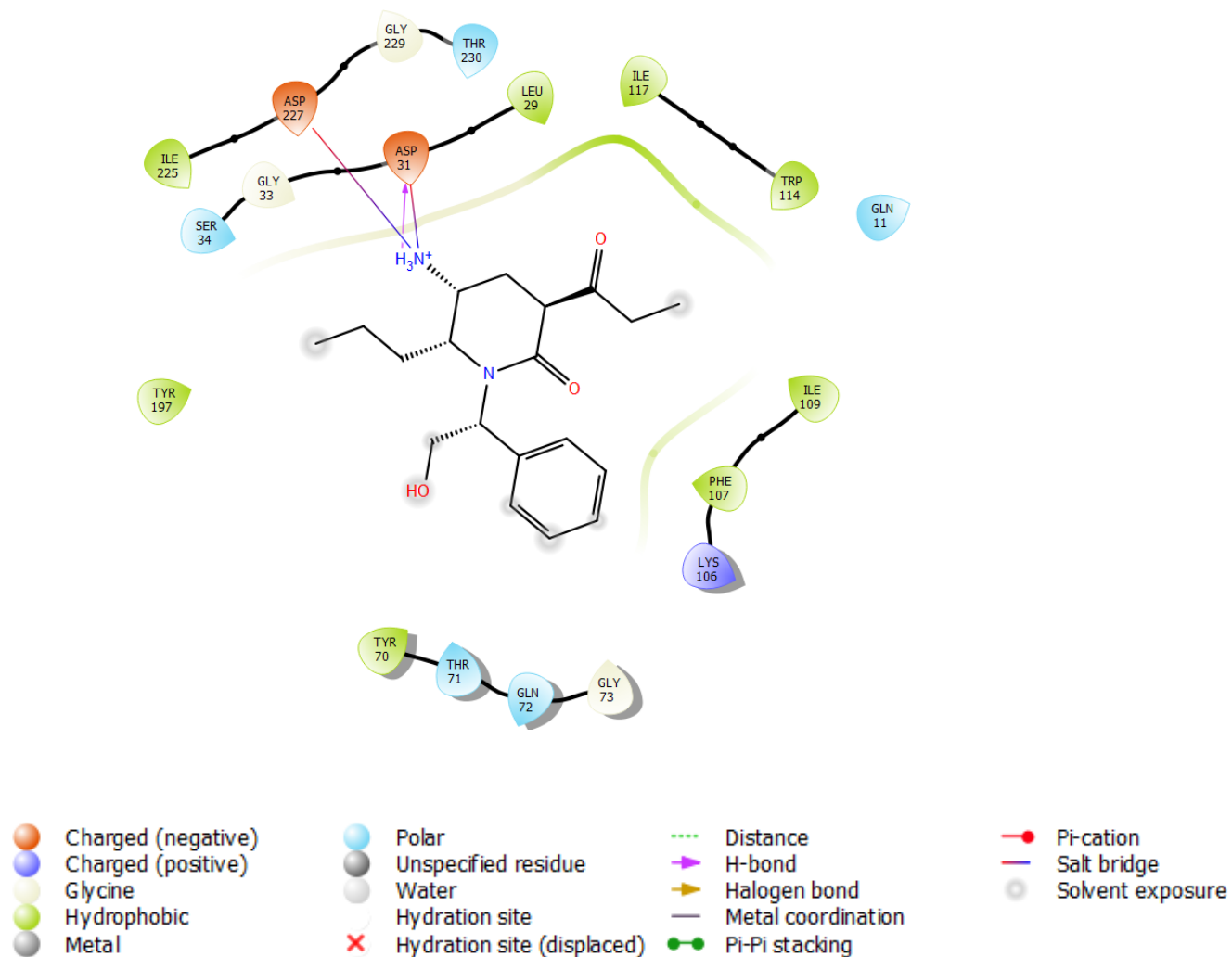
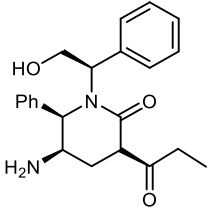
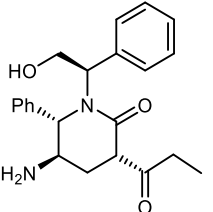
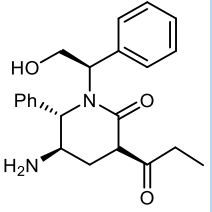
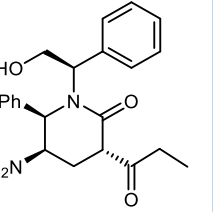


Figura 44. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-7q (3R, 6S) y CA-7q (3S, 6R) con BACE1.

Tabla 27. ΔH_f° , EA y MM2 de los diastereoisómeros del compuesto CA-7s.

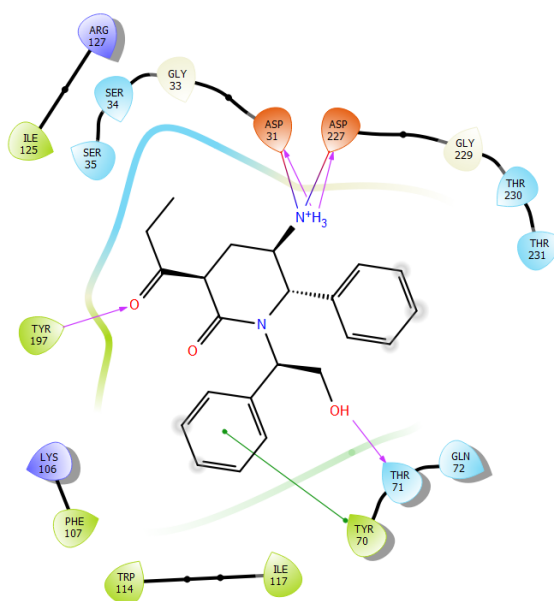
Energy (kcal/mol)	CA-7s (3S, 6R)	CA-7s (3R, 6S)	CA-7s (3S, 6S)	CA-7s (3R, 6R)

				
ΔH_f°	-88.518	-91.915	-91.915	-91.915
EA	-5.298	-6.150	-4.742	-5.276
MM2				
Stretch	1.9911	1.7674	1.7674	1.7674
Bend	7.0962	7.2587	7.2587	7.2587
Stretch-Bend	0.3926	0.3482	0.3482	0.3482
Torsion	-7.8372	-7.4820	-7.4820	-7.4820
Non-1,4 VDW	-7.2177	-8.5125	-8.5125	-8.5125
1,4 VDW	22.5454	22.5469	22.5469	22.5469
Dipole/Dipole	-8.9316	-8.4304	-8.4304	-8.4304
Total Energy	8.0387	7.4963	7.4963	7.4963

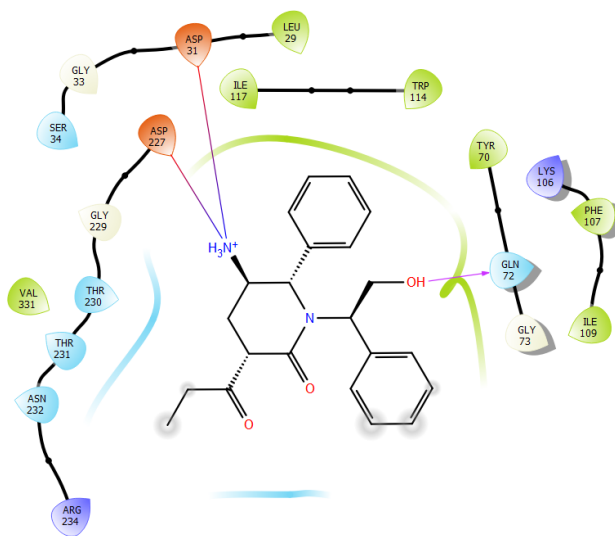
El compuesto con mejor EA es el CA-7s (3R, 6S) debido a las fuertes interacciones por diversos sitios que tiene esta molécula con diversos residuos de BACE1. Cuenta con 2 puentes salinos del amino protonado con Asp31 y Asp227, 2 puentes de hidrógeno del grupo hidroxilo del fenilglicinol con Thr71 y del oxígeno del propionilo con Tyr197. Además, un apilamiento π del fenilo perteneciente al fenilglicinol con el anillo aromático de la Tyr70. Las interacciones hidrofóbicas ocurren con Tyr70, Phe107, Trp114, Ile117, Ile125 y Tyr197. Tiene 6 interacciones polares con Ser34, Ser35, Thr71, Gln72, Thr230 y Thr231, 2 interacciones de tipo negativo con Asp31 y Asp227 y 2 interacciones positivas con Lys106 y Arg127.

El compuesto CA-7s (3S, 6S) es el diastereoisómero con mayor EA, puesto que como puede observarse en la figura 45 no tiene tantas interacciones fuertes como su diastereoisómero (3R, 6S). Posee 2 puentes salinos del amino protonado hacia el Asp31 y Asp227 y un puente de hidrógeno el grupo hidroxilo del fenilglicinol a Gln72. Las interacciones hidrofóbicas se observan con Leu29, Tyr70, Phe107, Ile109, Trp114, Ile117 y Val331. Tiene 5 interacciones polares con Ser34, Gln72, Thr230, Thr231, Asn232. Además, se detectan 2 interacciones de carga negativa con Asp31 y Asp227 y 2 de carga positiva con Lys106 y Arg234.

6C2I - minimized - CA7s-(3R,6S)



6C2I - minimized - CA7s-(3S,6S)



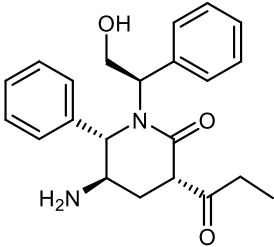
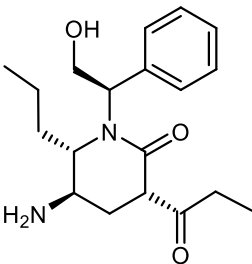
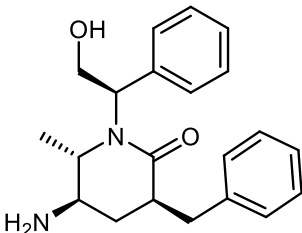
- | | | | |
|--------------------|----------------------------|--------------------|------------------|
| Charged (negative) | Polar | Distance | Pi-cation |
| Charged (positive) | Unspecified residue | H-bond | Salt bridge |
| Glycine | Water | Halogen bond | Solvent exposure |
| Hydrophobic | Hydration site | Metal coordination | |
| Metal | Hydration site (displaced) | Pi-Pi stacking | |

Figura 45. Diagrama 2D de interacción de los compuestos CA-7s (3R, 6S) y CA-7s (3S, 6S) con BACE1.

1.8 Selección de candidatos.

Los tres candidatos seleccionados para llevar a cabo el diseño retrosintético son los siguientes Tabla 46.

Tabla 28. Candidatos a síntesis.

<i>Estructura</i>	CA-7s(3R, 6S)	CA-7q (3R, 6S)	CA-7u (3S, 6S)
			
<i>EA</i> (<i>kcal/mol</i>)	-6.150	-6.229	-6.935

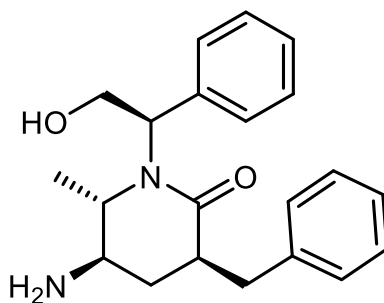
Después de haber realizado el análisis de cada una de las moléculas a través del docking molecular, aquellas con mejor energía de acoplamiento se encuentran dentro de la serie 7. Estas moléculas son la CA-7s (3R, 6S) con EA= -6.150, CA-7q (3R, 6S) con EA= -6.229 y CA-7u (3S, 6S) EA= -6.935. Así mismo, se escogieron estos compuestos por poseer mejores resultados en el docking molecular que los 2 fármacos de referencia, el verubecestat (inhibidor comercial) con EA= -4.298 y el EJ7 (inhibidor teórico) con EA= -6.050, resaltando así que los compuestos propuestos de la serie 7, de manera teórica, interaccionan mejor con BACE1 y podrían ser buenos candidatos a sintetizar, posiblemente teniendo un mejor efecto al inhibir la acumulación de las placas β -amiloide y ser de mayor efectividad en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

CONCLUSIONES

Se diseñaron (*in silico*) derivados piperidínicos que tienen como base el feniglicinol, los cuales se analizaron en la plataforma Swiss Target Prediction y se encontró que pueden funcionar como posibles inhibidores de la β -secreasa-1. Dicho target se encuentra relacionada con la enfermedad de Alzheimer por la producción anormal de placas β -amiloide.

Después de haber analizado cada una de las moléculas propuestas en la ruta sintética incluyendo cada uno de los sustituyentes R_1 y/o R_2 (según el caso), la molécula con mejor EA resultó ser la CA-7u (3*S*, 6*S*).

CA-7u (3*S*, 6*S*)



Todas las moléculas en mayor o menor medida tienen interacciones con glicina, hidrofóbicas, polares, de carga positiva o negativa; sin embargo, las interacciones que tienen mayor impacto al interactuar con el target son los puentes de hidrógeno, los puentes salinos e interacciones π -catión, donde, al analizar los diagramas 2D de interacción con el target, los aminoácidos clave fueron la aspartato 31 (Asp 31), la aspartato 227 (Asp 227), la treonina 230 (Thr 230) y la arginina 234 (Arg 234).

Con los datos que se tienen hasta el momento, se concluye que la diastereoisomería sí tiene un efecto en la interacción con el target, puesto que cuando ambos sustituyentes R_1 = bencilo y R_2 = metilo tienen estereoquímica 3*S*, 6*S*, la EA es la más favorecida termodinámicamente (EA= -6.935 kcal/mol), mientras que cuando los mismos sustituyentes tienen estereoquímica 3*S*, 6*R*, la EA es menos favorecida (EA= -4.864 kcal/mol).

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Coqueiro, A; Verpoorte, R. *Encyclopedia of Analytical Science* (Second Edition), **2015**, 56.
- [2] (a) Roberts, M.F.; Wink, M., *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*, Springer, New York, 1998, 1-7. (b) Anisewski, T, *Alkaloid-Secrets of Life*, 1a Ed. Elsevier, **2007**, 1-13.
- [3] Gnecco, D.; Marazano, C.; Enriquez, R; Terán, J.; Sanchez, M.; Galindo, G.; *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 2027. Terán, J.; Gnecco, D.; Galindo, A.; Juárez J.; Enriquez, R; Reynolds, F.; *Molecules* **2000**, 5, 1175.
- [4] Terán, J. L.; Gnecco D.; Galindo, A.; Juárez, J.; Bernés, S.; Enríquez, R.G. *Tetrahedron Asymmetry*, **2001**, 12, 357.
- [5] Roa L. F.; Gnecco D.; Galindo A.; Terán J. L.; *Tetrahedron Asymmetry*, **2004**; 15, 3393
- [6] Gnecco, D.; Lumberras, A. M.; Terán, J. L.; Galindo, A.; Juárez, J. R.; Orea, M. L.; Castro, A.; Enríquez, R. G.; Reynolds, W. F; *Heterocycles*, **2009**, 78, 2589. b) Lumberras A. M. Gnecco D. Terán J. L. Juárez J. Orea M. L. Enríquez R. G. Hernández S. New. *J. Mex. Chem. Soc.* **2007**; 51,103.
- [7] Escolano, C.; Amat, M.; Bosch, J.; *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8198.
- [8] Childers, W.E., Havran, L. M., Asselin, M., et al. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010** 53 (10), 4066-4084.
- [9] Pourshojaei, Y., Abiri, A., Eskandari, K. *et al. Sci Rep.*, **2019**. 9, 19855.
- [10] Asmaa M.Fahim, Ahmad M.Farag, ArifMermer, HacerBayrak, YakupŞirin. *Journal of Molecular Structure.* (**2021**) 1233, 2021.
- [11] Espadinha, M., Dourado, J., Herrera-Arozamena, C., Gonçalves, L., Lopes, J., dos Santos, D.,Rodríguez-Franco, M, de los Rios, C., Santos, M. *4th Intenational Electronic Conference on Medicinal Chemistry.* **2018**. Lisboa.
- [12] Gnecco, D. Marazano, C. Terán, J.L. et al. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1998**, 9, 2027.
- [13] a) Terán, J.; Gnecco, D.; Galindo, A.; Juárez, J.; Enríquez, R; Soriano, M.; Reynolds, W.F. *Molecules*, **2000**, 5, 1175. Terán, J; b) Gnecco, D.; Galindo, A.; Juárez et al. *Analytical Sciences*, **2001**, 17, 1247 a) Coffen, D. L.; Hengartner, U.; Katonak, A.; Mulligan, M. E.; Burdick, D. C.; Olson, G. L.; Todaro, L. J. *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 5109; b) Amat, M.; Llor, N.; Hidalgo, J.; Hernández, A.; *Molecules* **2000**, 5, 1181; c) Bosch, J. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, 7, 4, 977; d) Kuethe, J. T.; Padwa, A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1505 y referencias citadas; (d) Mabic, S.; Castagnoli, Jr. N. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 309; e) Munchhof, M. J.; Meyers A. I. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7086; f) Möhrle, H.; Weber, H. *Tetrahedron*, **1970**, 26, 2953; g) Micouin, L.; Bonin, M.; Cherrier, M-P.; Mazurier, A.; Tomas, A.; Quirion, J-Ch.; Husson, H-P. *Tetrahedron*, 1996, 52, 22, 7719.
- [14] a) Terán, J. L. Gnecco D.; Galindo, A.; Juárez, J.; Bernés, S.; Enríquez, R.G.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12, 357. (b) Hiemstra, H.; Speckamp, W. N. *Tetrahedron*,

1985, 41, 4367; (c) Meyers, A. I.; Brengel, G. P. *Chem. Commun.* 1997, 1; d) Kiguchi, T.; Nakazono, Y.; Kotera, S.; Ninomiya, I.; Naito, T. *Heterocycles*, **1990**, 31, 1525. (e) Husson, H.-P.; Royer, J. *Chem. Soc. Rev.* 1999, 70, 54; f) Husson, H.-P.; Royer, J. *Advances in the Use of Synthons in Organic Chemistry*; *JAI Press*, **1995**; Vol. 2, pp. 1–68; g) Royer, J.; Husson, H.-P. *Heterocycles*, 1993, 36, 11493; h) Micouin, L.; Varea, T.; Riche, C.; Chiaroni, A.; Quirion, J.-C.; Husson, H.-P. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 2529; i) Amat, M.; Llor, N.; Bosch, J. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 2223; j) Mabic, S.; Castagnoli, Jr., *N. J. Org. Chem.* **1996**, 61, 309.

[15] a) Amat M.; Llor N.; Huguet M.; Molins E.; Espinosa E.; Bosch J, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3257. b) Rodríguez, R.; Estiarte, M. A.; Diez, A.; Rubiralta, M.; Colell, A.; García-Ruiz, C.; Fernández-Checa, J. C. *Tetrahedron*, 1996, 52, 7727.

[16] a) Roa L. F. Gnecco D. Galindo A. Terán J. L. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**; 15, 3393. b) Roa, L. F. Gnecco D. Galindo A., Juárez, J. and Bernes S. *Analytical Sciences*, 2003, 19, 1.

[17] Gnecco, D.; Lumbreras, A. M.; Terán, J. L.; Galindo, A.; Juárez, J. R.; Orea, M. L.; Castro, A.; Enríquez, R. G.; Reynolds, W. F; *Heterocycles*, **2009**, 78, 2589. b) Lumbreras A. M. Gnecco D. Terán J. L. Juárez J. Orea M. L. Enríquez R. G. Hernández S. *New. J. Mex. Chem. Soc.* **2007**; 51,103.

[18] Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. *British journal of pharmacology*, **2007**, 152(1), 21–37.

[19] Espadinha, M., Dourado, J., Herrera-Arozamena, C., Gonçalves, L., Lopes, J., dos Santos, D., Rodríguez-Franco, M, de los Rios, C., Santos, M. *4th Intenational Electronic Conference on Medicinal Chemistry.* **2018**. Lisboa.

[20] Huang, T., Mi, H., Lin, Cy. et al. *BMC Bioinformatics.* **2017**. 18, 165.

[21] Gordon, D. (5 Enero 2016) *Sounding the alarm on a future epidemic: Alzheimer's disease*. Recuperado el 26 mayo de 2021 de www.newsroom.ucla.edu/stories/sounding-the-alarm-on-a-future-epidemic:-alzheimer-s-disease.

[22] Chackalamannil, S., Ward, S., Rotella, D. (2017). *Comprehensive Medicinal Chemistry III. The Netherlands: Elsevier.* <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/beta-secretase-1>

[23] Das, B., Yan, R. *CNS drugs.* **2019**, 33(3), 251–263.

[24] Vassar R. *J Mol Neurosci.* **2004**; 23(1-2):105-14.

[25] (16 mayo 2017) *US Department of health & Human Services.* Recuperado en abril 2021.

[26] Irwin, D. J., Lee, V. M.-Y., & Trojanowski, J. Q. (2013). *Nature Reviews Neuroscience*, 14(9), 626–636.

- [27] The Human Protein Atlas. Recuperado en marzo 2021.
- [28] Basiri, A., Abd Razik, B., Oday Ezzat, M., Kia, Y., Suresh Kumar, R., Almansour, A., Arumugam, N., Murugaiyah, V. 2017. *Bioorganic Chemistry*, 75, 210-216.
- [29] Hostalkova, A., Marikova, J., Opletal, L., Korabecny, J., Hulcova, D., Kunes, J., Novakova, L., Perez, D., Jun, D., Kucera, T., Andrisano, V., Siatka, T., Cahlikova, L. *J. Nat. Prod.* **2019** 82 (2), 239-248
- [30] Xray Validation Report Help link:
<https://www wwpdb.org/validation/2016/XrayValidationReportHelp>. Recuperado en marzo 2022
- [31] Low, J., Bartberger, M., Cheng, Y., Whittington, D., Xue, Q., Wood, S., Allen, J., Minatti, A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2018. 28 (6), 1111-1115.
- [32] Kurczab, R., Śliwa, P., Rataj, K., Kafel, R., & Bojarski, A. J. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **2018**, 58 (11), 2224-2238.
- [33] McGaughey, G., Gagné, M., Rappé, A. 1998. *Journal of Biological Chemistry*. Volumen 273, issue 25.
- [34] Infield, D, Rasouli, A, Galles, G, Chipot, C, Tajkhorshid, E, Ahern, C. *Journal of Molecular Biology*. **2021**. 433, 17.

