



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: INHIBIDORES DE GSK3 β EN EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER**

Autor: Irene Tejedor Martínez

Tutor: José Carlos Menéndez Ramos

Convocatoria: Junio 2017

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo cuyo tratamiento actual se limita a paliar sus síntomas, sin ser capaz de frenar su desarrollo. Un incremento en la actividad de la quinasa GSK-3 β se relaciona con las anomalías asociadas a la enfermedad, sobre todo con la producción de β -amiloide (placas seniles) y la hiperfosforilación de Tau (ovillos neurofibrilares). En consecuencia, el desarrollo de inhibidores biodisponibles, potentes y selectivos de GSK3 β es uno de los objetivos farmacológicos más importantes. En el trabajo se realiza una revisión bibliográfica sobre los diversos inhibidores investigados hoy en día, sus interacciones quinasa-ligando, las limitaciones en su desarrollo y el posible mecanismo de acción que los destina con interés al tratamiento de la EA.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. Enfermedad de Alzheimer (EA).

Desde que fue descrita en 1906, la EA es la patología neurodegenerativa más común, con una prevalencia estimada de más de 47 millones de personas en el mundo en 2016, un número que se espera que alcance los 131,5 millones en 2050, según datos de la organización Alzheimer's Disease International, publicados en sus informes anuales.^[1]

La EA es un trastorno crónico multifactorial caracterizado por la desaparición progresiva de las funciones cognitivas, siendo la pérdida de memoria el síntoma principal. Se extiende generalmente desde regiones límbicas específicas hacia el hipocampo, el neocórtex y varios núcleos subcorticales. En su patología están implicados factores tanto genéticos como ambientales. De hecho, existen dos formas principales de la enfermedad: familiar y no familiar. La forma familiar es dominante, poco frecuente y de aparición temprana, mientras que la forma no familiar es más común y de aparición tardía. El análisis genético de la forma familiar ha permitido identificar mutaciones responsables de la enfermedad en tres genes distintos: la proteína precursora amiloide (APP), y las proteínas presenilina 1 (PS1) y 2 (PS2), mutaciones que ocasionan un aumento en la producción del péptido β -amiloide (A β). Las formas familiares de la EA son más agresivas, y progresan más rápido que la forma esporádica, en 5-10 años ^[2,3]. Estudios epidemiológicos indican que entre los factores de riesgo de la forma no familiar se encuentran la edad, relacionada con el proceso de envejecimiento a medida que aumentan la calidad y esperanza de vida en nuestras sociedades; el sexo, siendo más frecuente en las mujeres; y la existencia de daño cerebral agudo previo (ictus, traumatismo) o enfermedad cardiovascular. ^[4]

En cuanto a los procesos celulares de la enfermedad, dado que la fisiopatología exacta no ha sido demostrada en su totalidad, se han propuesto una serie de hipótesis para explicar las causas de la EA, entre las que se encuentran la hipótesis del estrés oxidativo y neuroinflamación, la predisposición familiar, la hipótesis colinérgica, y en especial la hipótesis de la cascada amiloidea y la hiperfosforilación de la proteína Tau.

La EA presenta dos manifestaciones patológicas características:

a) el depósito extracelular de A β en el parénquima cerebral (placas seniles) en el que se basa la **hipótesis de la cascada amiloide**. El proceso neurodegenerativo está desencadenado por el péptido A β generado por la fragmentación proteolítica anormal de APP. Dicha proteína se procesa preferentemente a través de la vía no amiloidogénica en la que α -secretasa escinde APP, produciendo un fragmento N-terminal (sAPP α) soluble y de gran tamaño, y un fragmento C-terminal de 83 residuos (C83) que es dividido por la γ -secretasa dando lugar a un fragmento corto no patológico (p3). En la vía alternativa amiloidogénica, la primera división de APP se lleva a cabo por la β -secretasa produciéndose también el fragmento sAPP α y un fragmento de 99 residuos (C99) retenido en la membrana cuya escisión por γ -secretasa conduce a la liberación del péptido A β . La mayor parte es la variante de 40 residuos (A β_{40}), a pesar de que también se puede producir una forma más larga de 42 residuos (A β_{42}). Este último contiene dos aminoácidos de más (Ala y Ile) lo cual confiere mayor hidrofobicidad al péptido y mayor capacidad de polimerizar, siendo la isoforma más tóxica presente en las placas. El complejo γ -secretasa presenta su actividad catalítica en la presenilina, es por ello que las mutaciones de PS1 y PS2 del complejo γ -secretasa favorecen la formación de residuos A β_{42} , como plantea la hipótesis relacionada con la predisposición familiar.^[5]

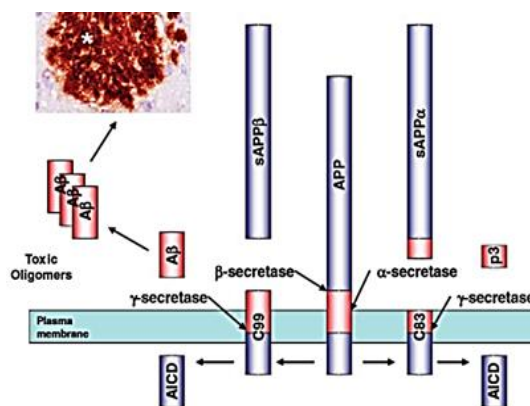


Fig.1. Hipótesis de la cascada amiloide (escisión de APP)

b) el depósito intracelular de ovillos neurofibrilares (NFTs), en los que se basa la hipótesis de la **hiperfosforilación de Tau**. La hiperfosforilación anormal de esta proteína provoca su desprendimiento de los microtúbulos (MTs) y su acumulación en filamentos helicoidales insolubles dentro del citoplasma, formando los ovillos neurofibrilares. Así mismo, la pérdida de la función normal de tau en la estabilización de los MTs conduce a una alteración patológica en las funciones estructurales y reguladoras del citoesqueleto, lo que pondría en peligro el transporte axonal contribuyendo a la disfunción sináptica y a la neurodegeneración. En la EA, tau ya no se une a los MTs, sino que es secuestrado en forma de NFTs en las neuronas y en células gliales como los astrocitos y la oligodendroglía.^[6,7]

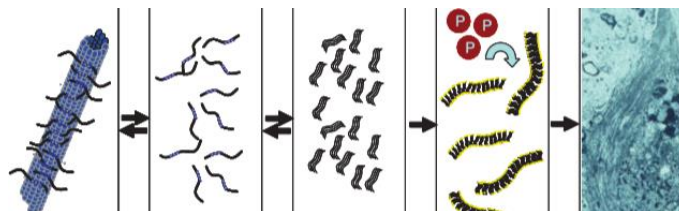


Fig.2. Formación de NFTs a partir de la hiperfosforilación de Tau.

La hipótesis del estrés oxidativo se basa en la teoría de los radicales libres. En condiciones normales, éstos son controlados por una eficiente cascada de mecanismos antioxidantes. Sin embargo, durante los

procesos neurodegenerativos se produce una descompensación entre la producción de radicales libres, especies reactivas de oxígeno en su mayoría (ROS), y la defensa antioxidante celular, produciéndose fallos neuronales. Asimismo, en cerebros con Alzheimer, se producen un gran número de factores neuroinflamatorios como inmunoproteínas y citoquinas generadas por neuronas, astrocitos y microglía, agravando las situaciones del daño oxidativo.^[6,7]

La pérdida de neuronas colinérgicas y, por consiguiente, la deficiencia en acetilcolina, se ha asociado a la disminución de la función cognitiva propia de la enfermedad. Así se habla de la “hipótesis colinérgica”, según la cual la deficiencia de acetilcolina tiene una importancia crítica en los síntomas de la EA. Además se ha demostrado que la enzima AchE, es capaz de promover la agregación de A β , por lo que su bloqueo también disminuiría el depósito amiloide. No obstante el déficit de neurotransmisores en la EA es más complejo, ya que abarca otros sistemas como los de monoaminas, glutamato y ciertos neuropéptidos.^[8]

2. Tratamiento farmacológico actual en la EA

Los tratamientos existentes para la enfermedad del Alzheimer son limitados y se utilizan para proporcionar alivio sintomático. Los únicos fármacos aprobados por la EMEA y la FDA para el tratamiento de la EA son dos: los inhibidores de la acetilcolinesterasa en estadios de grado leve a moderado [tacrina (Cognex[®]), donepezilo (Aricept[®], Eranz[®], Valpex[®]), rivastigmina (Prometax[®], Exelon[®]), galantamina (Reminyl[®], Numencial[®], Razadyne[®]); y un antagonista del receptor de glutamato NMDA (N-metil-D-Aspartato) usado en los estadios de moderado a grave denominado memantina (Namenda[®]) que puede asociarse al donepezilo en una misma forma farmacéutica (Namzaric[®]).^[9]

La **tacrina** fue el primer fármaco eficaz aprobado para la EA. Causa una inhibición potente, reversible y no competitiva de la AchE pero en la actualidad ha sido retirada por su corta semivida plasmática, sus frecuentes efectos adversos y la necesidad de monitorizar las enzimas hepáticas. El **donepezilo** es un derivado piperidínico que inhibe de forma reversible la AchE en el SNC, con gran selectividad y semivida mayor de 60 horas, lo que permite administrarlo en una única dosis diaria. Interacciona con los anillos indólicos de Trp84 y Trp279 de la enzima. La **rivastigmina** es un fenilcarbamato inhibidor de doble acción, que actúa sobre la AchE y la BuChE, estableciendo una unión covalente con la enzima. Aunque su semivida es corta, inactiva la AchE durante 10 horas. La **galantamina** es un alcaloide, inhibidor selectivo, reversible y competitivo de la AchE que posee una semivida plasmática de 4h.

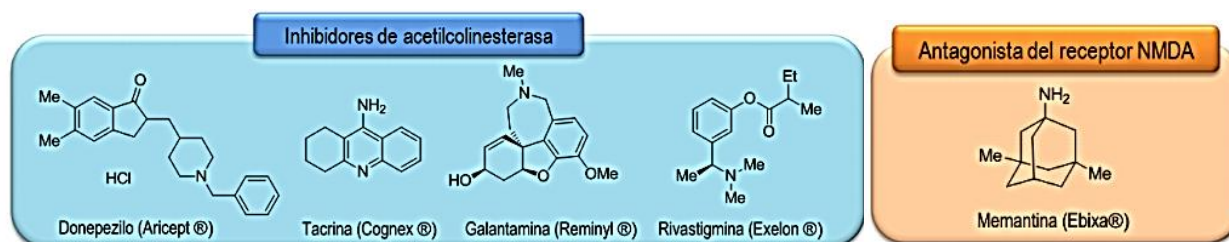


Fig.3. Estructuras químicas y nombres comerciales de los fármacos aprobados para el tratamiento de la EA.

Un flujo excesivo de calcio al interior de las neuronas provocado por $A\beta$ puede activar los receptores NMDA, provocando la apoptosis o muerte neuronal. La **memantina** es un antagonista no competitivo de dichos receptores. Posee una semivida de 60-100 horas y alcanza su concentración plasmática máxima a las 3-8 horas. Se trata de un fármaco con pocos efectos adversos, difíciles de diferenciar del propio cuadro demencial.^[10,11]

OBJETIVOS

A pesar de las extensas investigaciones, el descubrimiento de terapias eficaces en la EA sigue siendo un propósito crucial en la medicina moderna. Por ello, este trabajo se desarrolla planteando los siguientes objetivos: 1. Analizar la enzima GSK-3 β como potencial diana terapéutica en la EA, su estructura y los mecanismos de regulación de la misma. 2. Recopilar y describir detalladamente los diferentes inhibidores de GSK-3 β en la EA. 3. Por último, concluir acerca de la necesidad de inhibidores más selectivos, seguros y potentes de GSK-3 β como horizonte terapéutico, ya que, aunque algunos candidatos están en diferentes fases del desarrollo clínico, la tasa de éxito hasta el momento es baja.^[12]

METODOLOGÍA

El trabajo consiste en una revisión bibliográfica. En su elaboración se han utilizado las bases de datos Pubmed y SciFinder-Chemical Abstracts service, donde se han efectuado búsquedas de artículos usando las palabras clave “GSK3 β ”, “GSK3 β -inhibitors”, “Alzheimer’s disease”, “tau phosphorylation”; con fecha de publicación igual o posterior al 2001. Además, se consultaron libros especializados de farmacología y química farmacéutica. El programa Chimera 1.11.2 fue utilizado para representar estructuras químicas, previamente descargadas de Protein Data Bank.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. GSK-3 β . Características estructurales y funcionales:

Las proteínas quinasas regulan diversas funciones celulares y por lo tanto son utilizadas con frecuencia en los programas de descubrimiento de fármacos^[13]. GSK3 es una serina/treonina quinasa, constitutivamente activa y de expresión ubicua, que está involucrada en numerosos procesos celulares. Por ello, está relacionada con muchas enfermedades y ha sido objetivo para el desarrollo de nuevas moléculas para el tratamiento de enfermedades como la diabetes tipo II, el alzheimer, la hipertrofia muscular, el proceso inflamatorio crónico, el cáncer o el desorden bipolar.

La familia de GSK-3 quinasa se ha mantenido altamente conservada a lo largo de la evolución. Existen dos isoformas: GSK3 α (51 kDa) y GSK3 β (47 kDa), codificadas por dos genes localizados en los cromosomas 19 y 3 respectivamente. También existe una variante de GSK3 β formado por “splicing” alternativo, denominada como GSK3 β 2, que solo es expresada en neuronas. Estructuralmente, ambas isoformas, presentan un 98% de homología en la secuencia aminoacídica del dominio catalítico y una

similitud general del 84%. La diferencia principal es el dominio adicional rico en glicina (63 residuos), presente en el extremo N-terminal de GSK-3 α . Ambas isoformas se expresan de forma ubicua en tejidos de mamíferos y tienen afinidades similares para sus sustratos. Sin embargo, sus funciones fisiológicas no son las mismas, tal como demuestra la deficiencia de una de ellas no compensada por la otra.

Según datos de difracción de rayos X con una resolución en el intervalo de 1,8-2,9 Å, GSK3 β (47kDa) existe como un homodímero en su forma cristalizada. Cada monómero consistente en un pequeño lóbulo N-terminal (residuos 25-138) constituido por siete estructuras (láminas β) encadenadas en forma de barril- β , acompañadas de una pequeña α -hélice (residuos 96-102) entre las láminas- β 5^a y 6^a; y un gran lóbulo C-terminal (residuos 139-343) en forma de α -hélice, en el que se encuentra el bucle de activación (210-GEPNVS YICSR-220), susceptible de ser fosforilado por otras quinasas y localizado en la superficie del lugar de unión al sustrato. El dominio catalítico (residuos Arg96, Arg180 y Lys205) por el que se establece la unión al ATP se localiza entre los dos lóbulos y está bordeados por el bucle rico en glicina y la región bisagra.^[14]

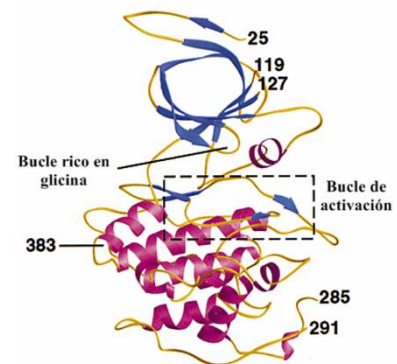


Fig.4. Estructura de GSK3 β

La **especificidad y reconocimiento de sustratos**, es muy similar en las dos isoformas. GSK-3 reconoce la secuencia "Ser/Thr-Pro/X-X-X-Ser/Thr(p)" donde "Ser(p)" es el sitio fosforilado previamente por otra quinasa, "X" puede ser cualquier residuo y "Ser" es el sitio de fosforilación por GSK-3. Diversos estudios han demostrado que esta fosforilación previa ("priming kinase" o "primed phosphorylation") permite la formación de enlaces de hidrógeno e interacciones electrostáticas con la tríada Arg96, Arg180 y Lys205, optimizando la orientación de los dominios N y C terminales y favoreciendo que la actividad catalítica de GSK3 β sea más eficaz. Algunos sustratos de GSK-3 β como glucogeno sintasa (GS), ATP citrato liasa (ACLY), factor 2B de iniciación eucariota (eIF2B) y β -catenina, requieren esta fosforilación previa, mientras que algunos otros como ciclina D3, axina y tau, no la requieren^[15]. Además, los residuos Phe67, Gln89 y Asn95 promueven el posicionamiento óptimo de los sustratos en su sitio de unión lo que mejora las interacciones y la especificidad.

En cuanto a su **regulación**, GSK3 β es constitutivamente activa y su implicación en diversas vías de señalización, hace que su correcto y coordinado funcionamiento sea muy importante. Para lograrlo, GSK-3 se regula a múltiples niveles, principalmente a través de fosforilación. La inhibición de GSK3 β se produce con la fosforilación sobre Ser9, en cuyo caso, el dominio N-terminal actúa como un pseudo-sustrato para la tríada catalítica y bloquea el acceso del sustrato a su sitio de unión. Este mecanismo de inactivación mediado por Akt / PKB, también se puede producir por otras quinasas como AGC, p70-ribosomal-S6 quinasa o PKC. Es un mecanismo regulador usado para el diseño de GSK-3 β inhibidores. Por el contrario, la fosforilación de Tyr216 hace que se cargue negativamente y facilita la posterior

interacción electrostática con Arg220 y Arg223 cargados positivamente, lo que provoca el ensanchamiento de la ranura de unión de ATP mejorando la actividad catalítica de GSK-3 β . La inactivación de GSK-3 β debido a la fosforilación de Thr390 por p38 MAPK también ha sido descrita como mecanismo de regulación. Además, esta inactivación no se produce para GSK3 α ya que este residuo no se conserva en ambas isoformas, luego podría ser un mecanismo alternativo para la inhibición selectiva de GSK-3 β , especialmente en el cerebro.

La regulación también se lleva a cabo por asociación de complejos proteicos (inhibición de GSK3 β por su desplazamiento del complejo APC/axina/GSK3 β), por escisión proteolítica y por localización subcelular (estado de desarrollo y lugar de expresión).[16]

2. Hipótesis de GSK-3 β en la EA:

En la EA, la sobreactividad o sobreexpresión de GSK-3 β se relaciona con todas las anomalías asociadas a la enfermedad: la aparición del deterioro de la memoria, la hiperfosforilación de tau, el aumento de la producción de β -amiloide y los procesos inflamatorios característicos de la enfermedad desencadenados por la respuesta inmunitaria mediada por microglía[18]. Además GSK-3 reduce la síntesis de acetilcolina, lo cual se correlaciona con el déficit colinérgico presentado en la EA; y es un mediador clave de la apoptosis, por lo tanto, podría directamente contribuir a la degeneración neuronal.

a) GSK3 β y la memoria: el fenómeno de LTP (potenciación a largo plazo) es un modelo de sinapsis presente en los fenómenos de aprendizaje y memoria, que se relaciona con la represión de las vías de señalización Wnt o PI3K. GSK3 β está regulada negativamente vía Wnt o vía insulina y esto permite la inducción de LTP. Teniendo en cuenta que la actividad de GSK3 se aumenta en la EA, el fallo de la memoria en este trastorno podría ser atribuible a la inhibición de LTP con la pérdida neuronal subsiguiente conforme la enfermedad progresa. Además GSK3 β fosforila e inhibe cAMP, un modulador universal de la memoria, y otros de sus sustratos, como la Colapsina 2 (CRMP-2) y la poliposis adenomatosa coli (APC), son proteínas que influyen en la dinámica del cono de crecimiento, por lo que la desestabilización de los microtúbulos es consecuencia de su hiperfosforilación en las placas A β . [17]

b) GSK3 β y la hiperfosforilación de Tau: GSK-3 β en la EA hiperfosforila la proteína tau asociada a los MTs en la neuronas, provocando que se desprenda de los mismos. Su acumulación da lugar a filamentos helicoidales emparejados y posteriormente NFTs, que producen sinapsis débiles entre las neuronas y finalmente, la muerte neuronal. Hasta la fecha se conocen más de 30 sitios distintos (31% de los sitios) fosforilados por GSK3 β en la proteína tau. Por ello, GSK3 β se identificó a este respecto como la quinasa

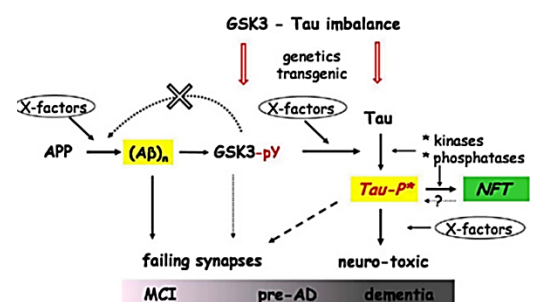


Fig.5. Relación entre A β , GSK3 β , proteína Tau, y otros factores

mayor, denominada "Tau Kinase I". Gran parte de tau hiperfosforilada se mantiene en el citoplasma sin polimerizar, y su toxicidad radica en secuestrar otras unidades de tau sin que puedan llevar a cabo su función fisiológica. Además se ha demostrado que GSK3 β modula el mecanismo de splicing del RNA mensajero de tau a través de proteínas SC35. Parece ser que la inhibición de GSK-3 β podría favorecer la expresión de las isoformas de Tau 4R (contiene axón 10) cuya capacidad para estabilizar los microtúbulos es mayor que en las isoformas de Tau 3R (carente de axón 10).^[18]

Por otra parte, la insulina aumenta transitoriamente la fosforilación de tau en las células de neuroblastoma humano, pero ésta es seguida por una reducción en la fosforilación que se correlaciona con la activación y la posterior inhibición de GSK3 β .

Dickkopf, un regulador negativo de la señalización de Wnt también promueve la fosforilación de Tau y la neurodegeneración a través de la activación de GSK3 β . De la misma manera, formas mutantes de PS-1 asociadas con la forma familiar, inhiben la vía PI3-kinase/Akt, facilitando de este modo la actividad de GSK3 β , la hiperfosforilación de tau y la apoptosis, acelerando la progresión de la enfermedad.

c) GSK3 y β -amiloide: el aumento de la fosforilación de la tirosina en GSK3 β , por parte de los péptidos amiloides, conduce a una mayor activación de la quinasa a través de la inhibición de la señalización de PI3-quinasa, y como consecuencia, a la fosforilación aumentada de la proteína tau. Las especies amiloide y pTau que causan defectos sinápticos y neurodegeneración, no son agregados, sino oligómeros pequeños y solubles en el citosol.

En otro estudio se sugiere que la inhibición de GSK3 β induce la degradación de APP, lo que conlleva una disminución en los niveles de A β , mediante un mecanismo que involucra tanto la activación de la vía lisosomal (autofagia) como la translocación de TFEB, un factor de transcripción regulador de la biogénesis lisosomal. Según este estudio, la inhibición de GSK3 β podría restaurar el pH ácido lisosomal lo que favorecería la eliminación de A β como demuestra un modelo murino 5XFAD, donde el pH lisosomal se encuentra elevado. Por su parte, la vía de señalización de la insulina, suprime la actividad de GSK3 β , demostrando un efecto beneficioso sobre la APP y el procesamiento de amiloide. Además, en personas con EA, la insulina administrada vía intranasal altera favorablemente la relación A β _{40/42} y mejora la cognición.

d) GSK3 β y neuroinflamación: la evidencia de que la inflamación juega un papel importante en la EA es cada vez mayor, ya que la expresión de mediadores inflamatorios en el tejido cerebral se encuentra aumentada y en torno a las células de la microglía se acumulan placas amiloides. En la periferia, la regulación de la actividad de GSK3 β es crítica para la diferenciación de células inflamatorias, su migración, y la secreción de citoquinas proinflamatorias. Si dicha regulación se altera, la respuesta inflamatoria cerebral puede conducir a la secreción sostenida de mediadores inflamatorios neurotóxicos por la microglía, causando los correspondientes daños neuronales.

3. Inhibidores de GSK3β con interés terapéutico en la EA:

Varios compuestos químicos han surgido como inhibidores de GSK-3β. Algunos de ellos tienen origen sintético, pero otros han sido obtenidos directa o indirectamente de pequeñas moléculas de origen natural, principalmente de invertebrados marinos.

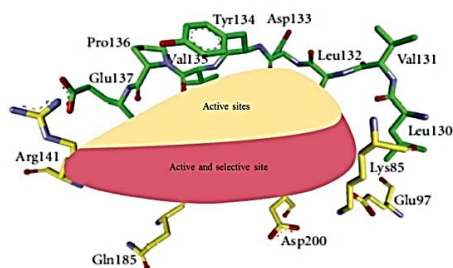


Figura 6. Áreas importantes del bolsillo de ATP de GSK3β para aumentar la actividad y selectividad de los inhibidores

GSK3β está filogenéticamente relacionada con CDK, PKC, MAPKs, y otras quinasas con las que comparte alta homología estructural en el bolsillo de unión del ATP, por ello, incluso los inhibidores más selectivos de GSK-β pueden inhibir además otras quinasas, incluida la isoforma GSK3α. El análisis estructural de estos inhibidores competitivos de ATP ha servido de guía para el desarrollo de inhibidores GSK-3β más

selectivos que interactúen con sitios alostéricos de la enzima. Suelen tener bajo peso molecular, siendo heterociclos planos e hidrofóbicos en su mayoría. Establecen enlaces de hidrógeno con los átomos de la cadena principal de Asp133 y Val135 mejorando la afinidad por GSK-3β. Pro136 aparece en varios complejos para fortalecer la interacción. Además la región caracterizada por los aminoácidos Lys85, Glu97 y Asp200 puede mejorar la actividad inhibidora del compuesto. [19]

| Iones metálicos | Inhibidores ATP-competitivos | | Inhibidores no ATP-competitivos | | Inhibidores fosfopeptídicos |
|--|---|---|---|--|------------------------------------|
| Li ⁺ Zn ²⁺ WO ₄ ²⁻ | Naturales: · Indirrubinas (6BIO) · Himenialdisinas · Dibromocantarelina · Meridianinas | Sintéticos: · Purinas y pirimidinas · Paulonas · Maleimidas · Tiazoles · Triazoles · Oxadiazoles | Naturales: · Palinurina y tricantina · Manzamina | Sintéticos: · Tiazolidinonas · Halometilcetonas · Benzotiazepinonas/ Benzotiazinonas VPO.7 | · FRATide · L803-mts |

Fig. 7. Clasificación de los inhibidores de GSK3β

3.1) Iones inhibidores de GSK3β:

El catión litio fue el primer inhibidor reversible de GSK-3β descubierto capaz de modificar los procesos patológicos específicos de la enfermedad de Alzheimer, tales como la hiperfosforilación de tau y la sobreproducción del péptido β-amiloide. GSK-3β, al igual que la mayoría de las quinasas, requiere Mg²⁺ para la unión del ATP a su bolsillo. El litio inhibe GSK-3β directamente por la competencia con iones de Mg²⁺ e indirectamente a través del aumento de la fosforilación inhibitoria de Ser9. También puede disminuir la disponibilidad de GSK3β inhibiendo la transcripción de su ARNm, y por tanto, reduciendo su expresión proteica. El tratamiento crónico con litio mejoró las funciones cognitivas en pacientes con demencia. Sin embargo, su margen terapéutico es estrecho y es capaz de inhibir otras quinasas, siendo neurotóxico a largo plazo. [19,20]

Otros iones metálicos como Be^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} y Cu^{2+} también han sido mostrados como potentes inhibidores de GSK-3 β con un valor de IC_{50} en el intervalo μmolar . Zn^{2+} (IC_{50} : $15\mu\text{M}$) inhibe GSK-3 β , por competición con Mg^{2+} , y por el aumento de β -catenina.

El tungstato sódico también inhibe de forma indirecta GSK-3 β induciendo la fosforilación de Ser9 por otras quinasas. Es un agente anti-diabético y anti-obesidad que presenta un perfil de toxicidad bajo. Actualmente ha finalizado los ensayos clínicos de fase I, sin embargo, no se ha propuesto como tal para el tratamiento de la EA. La naturaleza no selectiva de estos inhibidores basados en cationes metálicos ha conllevado una disminución en su investigación y desarrollo.

3.2) Inhibidores de GSK3 β ATP-competitivos:

3.2.1. Indirrubinas: son compuestos bisindólicos de origen natural. Constituyen los pigmentos rojizos producidos por moluscos de las familias *Muricidae* y *Thaididae*. La indirrubina, identificada inicialmente en la medicina china para el tratamiento de la leucemia, es un potente inhibidor ATP-competitivo de CDK (IC_{50} : 50-100 nM) y GSK-3 β (IC_{50} : 5-50 nM). Los enlaces de hidrógeno se establecen entre átomos de nitrógeno y oxígeno presentes en el compuesto y el grupo carbonilo de Val-35 y Asp-133 situados en la región bisagra de GSK3 β . La unión de la indirrubina al bolsillo del ATP prohíbe el acceso a la tirosina quinasa responsable de la fosforilación de Tyr216 de GSK-3 β , evitando el aumento de actividad que se produciría con dicha fosforilación. Por lo tanto, este impedimento estérico da lugar a un efecto inhibitorio secundario de GSK-3 β . Otra posibilidad es que la tirosina quinasa que fosforila Tyr216 esté regulada por GSK-3 β en una vía de retroalimentación, de manera que la inhibición de la GSK-3 β por indirrubinas impide la activación de la quinasa que actúa sobre los residuos de tirosina de GSK3 β . El mayor problema de estos compuestos es la falta de selectividad. Para aumentarla, las posiciones 5 y 6 son susceptibles de modificación. La introducción de bromo en compuestos indirrubin-3'-oxima (6-BIO), mejoró la inhibición selectiva hacia GSK-3 β frente a CDK5. Las fuerzas de Van der Waals establecidas por el Br con Leu132 y Met101^[21] de GSK3 β explican dicha preferencia, ya que no están presentes en CDKs, porque en lugar de Leu presenta Phe, cuyo volumen impide esta interacción. Las propiedades farmacocinéticas también se mejoraron, ayudando al desarrollo clínico de estos compuestos hidrófobos y poco solubles.^[19,22,23]

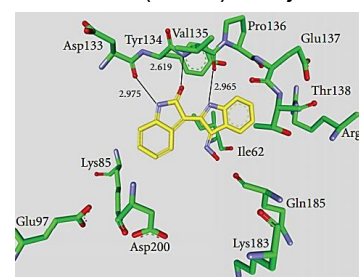


Fig.8. Modelo de unión de GSK3 β con 6-BIO

3.2.2. Himenialdisinas, debromohimenialdisina: son alcaloides de bromopirrol aislados de esponjas marinas (*Axinellidae*, *Agelasidae* y *Halichondriidae*), que actúan como inhibidores ATP-competitivos de varias quinasas, principalmente GSK-3 β (IC_{50} = 35 nM) y CDK5, de ahí que uno de sus problemas sea la falta de selectividad. También inhiben in vivo e in vitro la fosforilación de tau. HD se sitúa en el bolsillo ATP de GSK3 β de manera que los residuos hidrófobos Ile62, Val110, Leu188, y Leu132 forman la cavidad adecuada para los anillos A y B del compuesto. El átomo N_1 de HD forma

un enlace de H directo con el átomo de oxígeno del carbonilo de Asp113. Los átomos de nitrógeno (N₂) y oxígeno del anillo B de HD también establecen puentes de H. con el grupo carbonilo y el átomo de nitrógeno de la cadena principal de Val135. Además, existen interacciones electrostáticas entre el anillo C y algunos residuos polares (Lys85, Asn186 y Asp200) de la quinasa.

Un análogo aislado de la esponja marina *Plakellia flabellate*, la debromohimendialdisina, también inhibe la actividad de varias quinasas, incluyendo CDK5, CK1 γ y GSK3 β (IC₅₀:0.2 nM) entre otras. Además de bromopirrol, contiene grupos guanidina.

3.2.3. Dibromocantarelina (DT): otro metabolito de la esponja *Dibromocantharelline*, muestra una moderada pero selectiva inhibición de GSK-3 β (IC₅₀ de 3 μ M) siendo de gran interés en el desarrollo de inhibidores semisintéticos potentes. Los tres anillos A, B y C encajan en la cavidad hidrofóbica del sitio de unión del ATP, que consiste en cadenas laterales de Val110, Leu132, Leu188 y Cys199. Además se establecen dos puentes de hidrógeno: entre el átomo N₁ de DT y el oxígeno carbonílico de Val135 de GSK3 β y otro más débil entre el átomo de oxígeno del anillo A y la cadena lateral de Arg141. Este enlace de H explica la selectividad hacia GSK-3 β . El anillo de guanidina cargado positivamente también establece interacciones electrostáticas con los residuos de su alrededor.^[24]

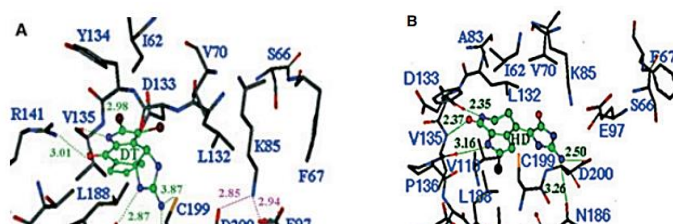


Figura 9. Interacciones establecidas entre A) Dibromocantarelina y B) Himendialdisina (HD) con GSK3 β .

3.2.4. Meridianinas: son 3-(2-aminopirimidina)-indoles bromadas, aisladas de una ascidia (*Aplidium meridianum*). Estos compuestos inhiben diversas proteínas quinasas tales como CDKs, GSK-3 β (IC₅₀ = 2.50 μ M), PKA y CK1. Su interés radica en su capacidad para prevenir la proliferación celular e inducir la apoptosis.^[19]

3.2.5. Purinas y pirimidinas: la purina está formada por un anillo de pirimidina fusionado con un anillo de imidazol. Análogos de la purina, como las aminopirimidinas, desarrollados por “Chiron Corporation” fueron las primeras moléculas sintéticas específicamente descritas como inhibidores de GSK-3 β , mostrando la más activa una inhibición del 63%. Los compuestos como CHIR98014 (CT98014), CHIR98023 (CT98023), CHIR99021 (CT99021), basados en estas estructuras, inhiben selectivamente la enzima dentro del intervalo de concentración nM. El modelo de unión al bolsillo ATP de GSK-3 β muestra que la amina secundaria interactúa con el oxígeno del carbonilo de Val135, y el átomo de N del compuesto con la cadena principal de Val135. Existen dos interacciones adicionales entre -OH y Asp200, y entre el carbonilo y la amina de Lys85.^[19,25]

3.2.6. Paulonas: particularmente alsterpaulona y kenpaulona, son derivados de benzazepinona (estructura en la que un benceno se fusiona a un anillo de azepina), que actúan como potentes inhibidores competitivos de GSK-3 β , con valores de IC₅₀ dentro del rango nM. Alsterpaulona actúa compitiendo con el ATP para unirse a GSK-3 β , inhibiendo de esta forma la fosforilación de tau en aquellos sitios que normalmente son fosforilados por GSK-3 β en la EA. Bloquea también la fosforilación de tau dependiente de CDK5/p25, ya que también son inhibidas por estos compuestos. Las interacciones entre alsterpaulona y GSK-3 β incluyen dos enlaces de hidrógeno con Val135 y una interacción entre el grupo nitro y el grupo amino de la cadena lateral de Lys85. Kenpaulona, se diferencia en la presencia de un halógeno en la posición 9, lo que mejora la actividad inhibidora hacia GSK-3 β , haciendo de las paulonas una alternativa prometedora para el desarrollo de inhibidores potentes y selectivos.^[19,26]

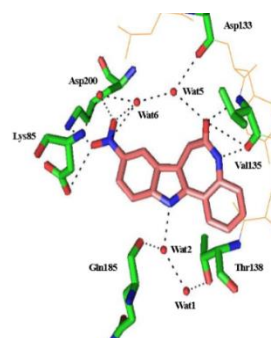


Fig.10. Unión de GSK3 β con alsterpaulona

3.2.7. Maleimidias: los derivados de maleimida, concretamente 3-anilino-4-arilmaleimidias, son potentes inhibidores de GSK-3 β a bajas concentraciones, tal como han publicado investigadores de *SmithKline Beecham Pharmaceuticals*.^[25]

El compuesto denominado I-5, interacciona con GSK-3 β uniéndose al bolsillo del ATP mediante un átomo de N que interacciona con el oxígeno carbonílico de Asp133, y un átomo de oxígeno que interacciona con el N de la cadena principal de Val135. Se observan además dos interacciones adicionales del oxígeno carboxílico con Arg141 y Gln185.

Otro derivado de maleimida denominado SB-216763 inhibe GSK-3 β con una IC₅₀ de 34 nM, presentando neuroprotección máxima en la zona del hipocampo. Existen numerosos compuestos, como SB-415286, de similares características, que han proporcionado resultados prometedores en la terapia frente a la EA, ya que reducen la neurotoxicidad causada por el péptido A β , la hiperfosforilación de tau y la actividad de la Caspasa 3.^[27]

3.2.8. Tiazoles: el compuesto aminotiazólico AR-A014418 desarrollado por *Astra Zeneca* es un competidor selectivo del sitio de unión del ATP (IC₅₀: 100nM) que inhibe la fosforilación de tau, protege las células neuronales de los estímulos apoptóticos e inhibe la neurodegeneración mediada por β -amiloide. El análisis estructural de AR-A014418 y GSK-3 β revela que este compuesto se une a la región bisagra a través de enlaces de hidrógeno con Pro136 y Val135. Un compuesto estructuralmente similar AZD-1080 alcanzó los ensayos clínicos de fase I para la EA en 2006, pero el desarrollo se interrumpió debido a su nefrotoxicidad ^[19,25].

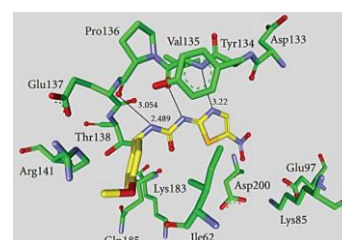
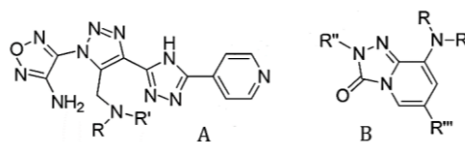


Fig.11. Modelo de unión de GSK3 β con AR-A014418

3.2.9. Triazoles: en los últimos años, la química de los triazoles y sus derivados heterocíclicos fusionados han recibido una gran atención debido a sus importantes propiedades sintéticas y biológicas. Son anillos de 5 miembros, que contienen dos carbonos y tres átomos de nitrógeno. De acuerdo con la posición de los átomos de nitrógeno, existen dos formas isoméricas: 1,2,3-triazol y 1,2,4-triazol. Los primeros recibieron mayor atención en química farmacéutica debido a su síntesis sencilla, y a sus características farmacológicas. Recientemente, *Olesen et al.* y *Chun col.* describieron los compuestos A (Cl_{50} : 0,28 μ M) y B (Cl_{50} : 0.111 μ M) respectivamente, como potentes inhibidores de GSK-3 β . [19,28] Sus interacciones están pendientes de definir.



3.2.10. Derivados de oxadiazol: los oxadiazoles (bioisómeros de amidas y ésteres) presentan un grupo azol (-N = CO-) que contribuye a que sean compuestos lipófilos con gran capacidad para alcanzar su diana, por difusión, a través de la barrera hematoencefálica. Recientemente, 1,3,4-oxadiazoles conjugados con anillos heterocíclicos como benzodioxol, benzofurano, bencimidazol, benzotiazol, imidazopiridina e indazol, han sido mostrados como potentes inhibidores de GSK-3 β . Entre estos, los sustituidos con bencimidazol y benzofurano muestran una gran potencia (IC_{50} : 2,3nM). En el caso del benzodioxol, el análisis mediante rayos X del resto oxadiazol cristalizado con GSK-3 β confirmó la interacción con el sitio de unión del ATP. Un oxígeno y un hidrógeno del benzodioxol establecen enlaces de hidrógeno con la amida y el oxígeno del carbonilo de Val135 en la región bisagra; y los átomos de nitrógeno establecen enlaces de hidrógeno con Lys85-Glu97-Asp200 a través de 2 moléculas de agua. [19,25]

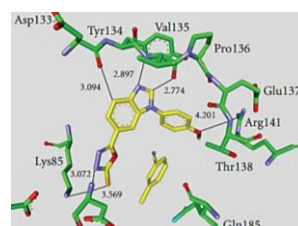


Fig.12. Modelo de unión de GSK3 β con derivado de oxadiazol.

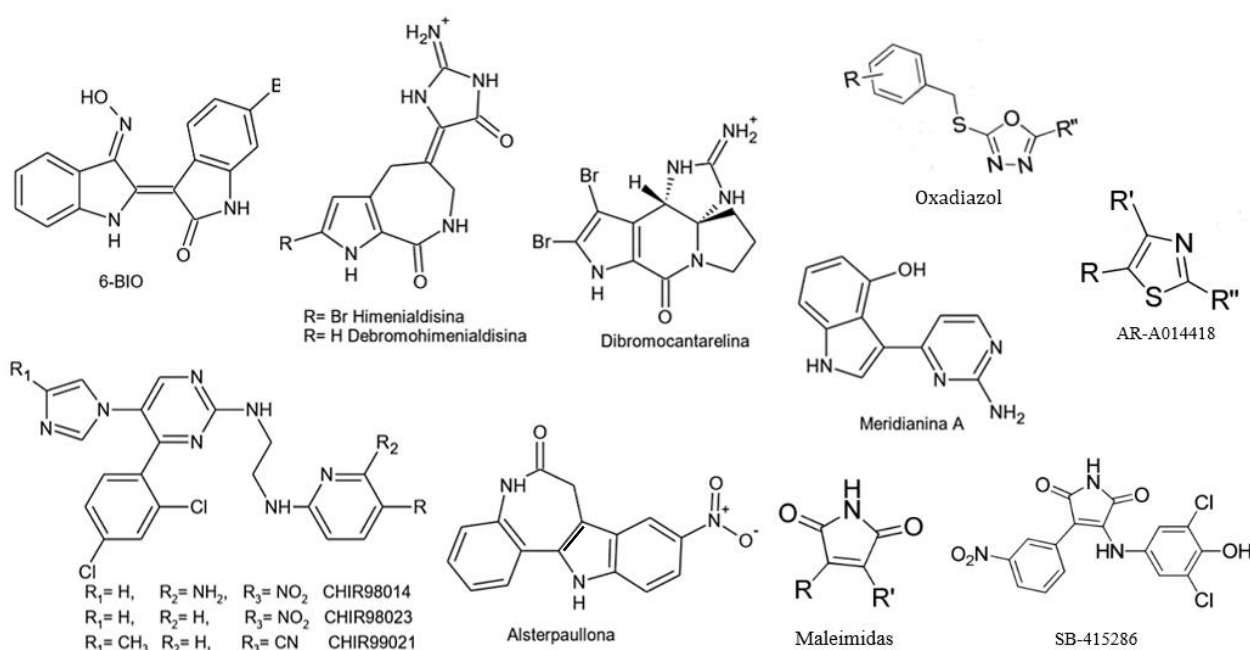


Fig.13. Inhibidores ATP-competitivos de GSK3 β .

3.3) Inhibidores de GSK3 β no ATP-competitivos:

3.3.1. Palinurina y tricantina: son furanosesquiterpenoides aislados de esponjas mediterráneas. Los metabolitos palinurina y tricantina se aislaron principalmente de *Ircinia dendroides* e inhiben GSK-3 β con un valor de IC₅₀ de 7,5 μ M y 4,5 μ M respectivamente. La palinurina es un sesquiterpeno lineal caracterizado por presentar un anillo de furano en un extremo y un ácido tetrónico conjugado en el extremo opuesto. Los resultados obtenidos a partir de datos experimentales y simulaciones sugieren que la palinurina ejerce su inhibición a través de la unión a un sitio alostérico localizado en la estructura barril- β que conforma el lóbulo N-terminal de la enzima. Esta unión varía la orientación de los residuos Phe67 y Ser66 dando lugar a alteraciones en la posición de las láminas- β 3 y 4. Como consecuencia, se limita la flexibilidad y la conformación del bucle rico en glicina situado en dichas láminas, impidiendo el acceso del ATP. Este nuevo mecanismo de acción alostérico confiere tanto a la tricantina como a la palinurina un alto grado de selectividad hacia GSK-3 β con respecto a otras quinasas, por lo que es interesante como molécula candidata para el desarrollo de nuevos fármacos más potentes en el tratamiento de las enfermedades mediadas por GSK-3 β .^[29,30]

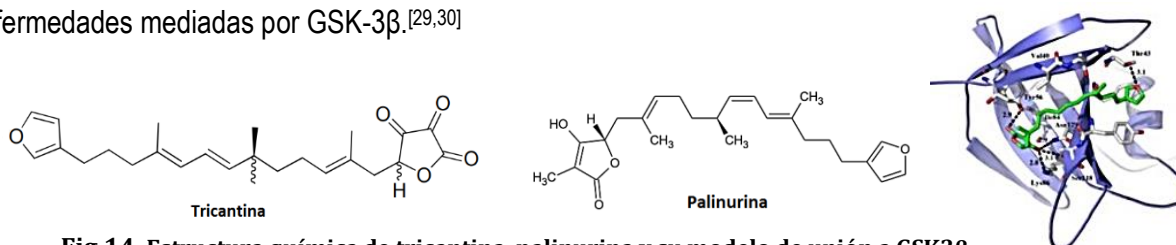


Fig.14. Estructura química de tricantina, palinurina y su modelo de unión a GSK3 β .

3.3.2. Alcaloides de manzamina: son compuestos policíclicos con estructura β -carbolina presentes en las esponjas del océano Índico-Pacífico. Su interés terapéutico radica en trastornos del SNC. La manzamina A, aislada de *Acanthostrongylophora*, compete con el sitio de unión al sustrato de GSK-3 β y CDK5 inhibiendo ambas enzimas con un valor de IC₅₀ de 10 y 1,5 μ M, respectivamente. De esta manera reduce la hiperfosforilación de tau en líneas celulares de neuroblastoma humano (células SH-SY5Y), por lo que son compuestos que pueden ser orientados hacia la EA. La mayoría se unen en las proximidades de la triada catalítica de GSK3 β . En la manzamina A, el grupo farmacóforo lo constituye la molécula completa, siendo inactiva al inhibir alguna de sus partes. Los estudios SAR mostraron que la sustitución del hidrógeno en la posición 6 u 8 de la carbolina con derivados hidroxilo daba lugar a compuestos ligeramente más activos, ya que además del puente de hidrógeno (entre el N del anillo β -carbonílico y el grupo amino de Asp90) y las dos interacciones hidrofóbicas (entre el anillo de ocho miembros y Phe93; y entre el anillo β -carbonílico y Arg96) se establece una cuarta interacción electrostática con Arg96 y Ala204. También se sabe que la eliminación de la insaturación del anillo de ciclooctano aumenta ligeramente la actividad mientras que la ausencia de doble enlace entre las posiciones 15 y 16 origina moléculas inactivas.

La reciente adición de derivados 5-imino-1,2,4-tiadiazol(ITDZ) a los inhibidores competitivos de sustrato

ha dado como resultado inhibidores reversibles de GSK-3 β en el rango μ M que están siendo estudiados como posibles estrategias terapéuticas de gran eficacia.^[14, 19]

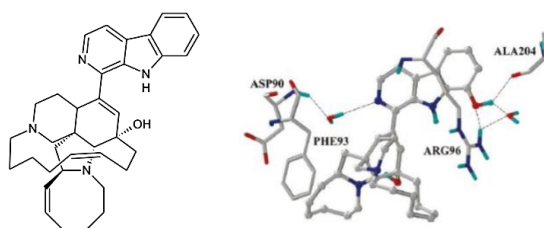


Fig.15. Estructura química y modelo de unión a GSK3 β de manzamina A

3.3.3. Tiazolidinonas (TDZD): en 2002 se desarrollaron las tiadiazolidinonas heterocíclicas (TDZD), la primera familia de inhibidores de GSK3 β , ATP no competitivos, capaces de unirse a la triada catalítica y evitar la correcta orientación del sustrato en su sitio de unión. Se ha demostrado la selectividad de TDZD hacia GSK3 β frente a varias quinasas. El tratamiento de neuronas (cultivo primario) con TDZD redujo la fosforilación de tau y la formación de A β . Tiadiazolidinonas como TDZD-8, NP00111, NP03112 y NP03115 mostraron actividad neuroprotectora en diversos modelos animales. Cabe destacar Tideglusib o NP 12 (NP03112) que llegó a la fase II de ensayos clínicos para el tratamiento de la EA y la parálisis supranuclear progresiva (PSP), una rara tauopatía.

En cuanto a su relación estructura-actividad, la disminución del tamaño del sustituyente unido al N₂ parece ser crucial para la inhibición de GSK-3 β , siendo el resto metilo la mejor sustitución, evitando así el impedimento estérico. Por otra parte, la naturaleza del sustituyente en N₄ también es importante para la inhibición, que mejora al introducir un resto aromático, tal como fenilo, metilfenilo, o grupos naftilo debido a que se establecen interacciones hidrofóbicas favorables con la quinasa. El esqueleto básico 1,2,4-tiadiazol con un grupo carbonilo se mantuvo, mientras que las modificaciones se hicieron en la 3^a y 5^a posición. La sustitución del grupo carbonilo unido al grupo C3 del heterociclo por un fragmento de tiocarbonilo dio lugar a derivados que continuaban inhibiendo a la enzima, pero disminuyó la solubilidad del compuesto y su estabilidad. El grupo C₅-carbonilo es crítico para la unión. Ambos grupos carbonilos interaccionan con la cadena lateral de los residuos Arg 96 y Lys 205 de la enzima. En el interior del bucle de activación la Tyr 216 podría establecer interacciones hidrofóbicas con el radical arilo en posición N₄, lo que explicaría como ya se ha comentado, la mayor actividad de estos inhibidores. Aun así, este modelo de unión debe ser experimentalmente confirmado. ^[19,31]

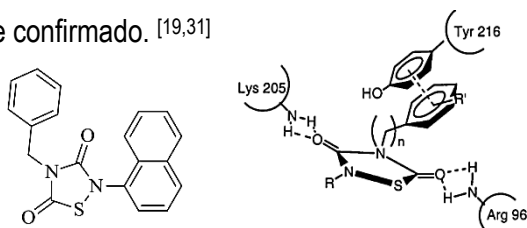


Fig.16. Estructura química y modelo de unión a GSK3 β de Tideglusib o NP12

3.3.4. Derivados de halometilcetona (HMK): inhibidores irreversibles. Fueron los primeros inhibidores irreversibles de GSK3 β sintetizados. En este caso, la inactivación de la enzima se debe a la formación

de un enlace covalente S-C entre Cys199 situado en la entrada del sitio ATP de GSK3 y el resto HMK del compuesto. Estas moléculas se identificaron inicialmente durante el diseño experimental aleatorio, a partir del cual el compuesto 2-cloroacetil-4,5-diclorotiofeno mostró inhibir GSK-3 β a bajas concentraciones. Los derivados α -carboniltienilo y fenilo, de características estructurales comunes, también mostraron una actividad inhibitoria prometedora y se encuentran en la fase II de ensayos clínicos. Además de la presencia del grupo acetilo, la presencia de un sustituyente (α -halometilo) que retira electrones en el carbono α al carbonilo aumenta la actividad en esta serie de compuestos. Varios HMK se utilizan como herramientas farmacológicas para el estudio de GSK-3 β en diferentes modelos de células y estudios realizados en células granulosas del cerebelo probaron su eficacia como inhibidores de la fosforilación de tau.^[19,21,25]

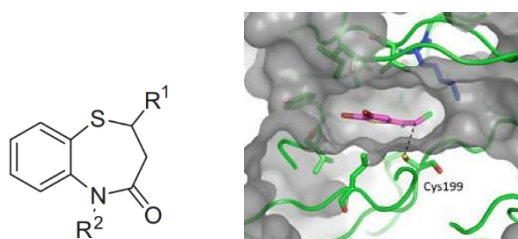


Fig.17. Estructura química y modelo de unión a GSK3 β de los derivados de HMK

3.3.5. Benzotiazepinonas(BTZ) / Benzotiazinonas (BTO): Zhang y colaboradores describieron derivados de BTZs como inhibidores selectivos de GSK-3 β ATP no competitivos por primera vez. En la estructura cristalina obtenida por rayos X de GSK-3 β , el supuesto bolsillo de unión de BTZ mostró como residuos implicados: Phe67, Phe93, Arg 96, Lys205, similares aunque no iguales, a los implicados en la unión de las TDZD. Los sustituyentes en el átomo de nitrógeno tuvieron gran impacto en la actividad y selectividad de la molécula, como demostró la unión de diferentes grupos alquilo y arilo en dicha posición; y el resto arilo en la posición 5 resultó importante para mantener la inhibición, ya que los compuestos con átomo de hidrógeno o sustituyentes alquilo en esta posición no presentaron actividad. El compuesto C (R1= Ph; R2= NO₂-Br) muestra la mayor actividad inhibitoria de GSK-3 β con un valor de IC₅₀ de 25 μ M. Además su inhibición hacia otras quinasas relacionadas fue mínima, lo que le confiere gran selectividad, y por tanto, especial interés como terapia farmacológica en las distintas enfermedades en las que está implicada GSK3 β , habiendo sido especialmente estudiada para las enfermedades neurodegenerativas.^[32]

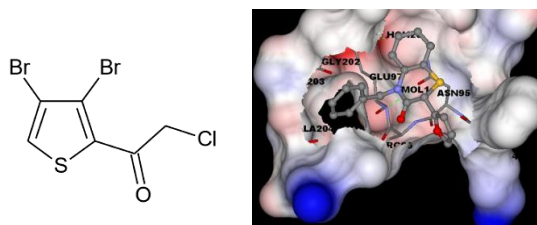


Fig.18. Estructura química y modelo de unión a GSK3 β a la Benzotiazepinona

3.3.6. VPO.7: los ensayos cinéticos demostraron que esta molécula modula GSK3 β de forma alostérica con un valor de C_{I50} del orden de μ M, al comprobar que no compite ni por el sitio de unión del ATP ni por

el sitio de unión del sustrato. Los estudios de acoplamiento con ayuda del software "Autodock" junto con el análisis "f-pocket" indicaron que el bolsillo de unión para el VP0.7 estaría formado por Arg209, Thr235, Ser236, Thr330, Pro331 y Leu169 en el lóbulo C-terminal de la enzima.^[14]

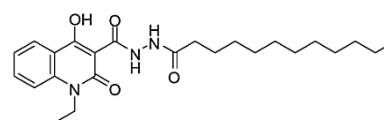


Fig.20. Estructura de VP0.7

3.4) Análogos peptídicos como competidores de sustrato:

Se trata de fosfopéptidos pequeños derivados del extremo amino-terminal de GSK-3 β que se unen al sitio de unión del sustrato y actúan como pseudosustratos inhibidores. Frame et al. describieron la secuencia Thr-Thr-pSer-phe-Ala-Glu-Ser-Cys correspondiente a los residuos 7-14 de GSK-3 β . Otro péptido, correspondiente a los residuos 188-226 llamado Fratide, de secuencia larga, inhibe la fosforilación de GSK-3, IRS-1 y β -catenina. Este péptido forma dos hélices α y se une al lóbulo C-terminal adyacente al canal de acceso del sustrato, pero sin llegar a obstruirlo. Por último, se ha descrito un fosfopéptido de 11 aa, denominado L803-mts, derivado del factor 1 de la proteína de choque térmico (HSF-1) de secuencia "KEAPPAPPQSpP", que también inhibe la fosforilación de GSK-3 β mediante la interacción con Phe93 y una superficie hidrofóbica alejada del lugar de unión del ATP, sin necesidad de alinearse al dominio catalítico como lo hace el sustrato. ^[14,21]

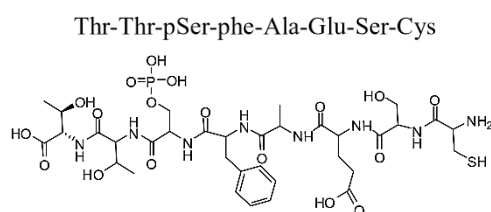


Fig.19. Fosfopéptido inhibidor de GSK3 β

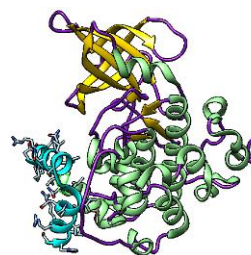


Fig.20. Unión del péptido Fratide (en azul) a GSK3 β

4. Limitaciones en el desarrollo de inhibidores de GSK-3 β

Ninguno de los potentes inhibidores de GSK-3 β ha superado los ensayos clínicos para llegar al mercado. La limitación más importante es su selectividad y seguridad frente a otras quinasas, debido a que la mayoría poseen un bolsillo de unión al ATP bastante conservado, y por lo tanto, similar. Al inhibir otras quinasas, presentan el riesgo de producir efectos secundarios graves ^[19]. Dos factores son los principales responsables de una mayor selectividad: las interacciones con aminoácidos específicos del sitio activo de GSK-3 β (Leu132, Tyr134, Arg141y Cys199) y el mayor tamaño de su bolsillo ATP, siendo más plano y más accesible para grupos voluminosos, en comparación con otras quinasas relacionadas^[15] Los inhibidores ATP no competitivos presentan mayor selectividad. Sin embargo, existen por lo menos dos problemas clave que limitan su investigación. El primero es la aplicación de métodos apropiados para su desarrollo, ya que el screening de alto rendimiento (HTS), ampliamente utilizado, todavía no es una herramienta apropiada para encontrar compuestos ATP no-competitivos, porque la afinidad de la unión fuera del bolsillo ATP es más débil y por tanto más compleja de establecer, siendo necesaria una mayor concentración. El otro problema es cómo mantener el mecanismo de acción en los compuestos sobre

los que se han realizado las modificaciones químicas, ya que el mecanismo de acción tipo ATP no competitivo a menudo deja de serlo con la modificación de la estructura.^[33]

Otra preocupación importante para los inhibidores de GSK-3 β , especialmente en trastornos del SNC, es su distribución específica al cerebro. Los inhibidores necesitan cruzar la barrera hematoencefálica. La vía de administración oral, elegida para el tratamiento de patologías como la EA, exagera el problema, ya que es difícil manejar el equilibrio entre la lipofilia necesaria para atravesar la barrera y la hidrofilia molecular para ser administrado vía oral. Como consecuencia se han descartado varios inhibidores prometedores de GSK-3 β en los ensayos clínicos y preclínicos. También se teme que el uso a largo plazo del inhibidor dé lugar a hipoglucemia o favorezca la proliferación al activar ciertos factores de transcripción y la vía β -catenina, aunque todavía no se ha demostrado ninguna evidencia directa. ^[19]

5. Nuevos compuestos multidiana como estrategia terapéutica prometedora en la EA.

Dado el origen multifactorial de la EA, se ha planteado el desarrollo de compuestos multidiana como estrategia prometedora, partiendo de moléculas con actividad selectiva sobre alguna de las dianas.

Actualmente se estudia la síntesis y evaluación farmacológica de una nueva familia de compuestos multidiana 2,4-dihidropirano [2,3-c] pirazoles capaces de inhibir GSK3 β e inducir la ruta antioxidante y antiinflamatoria de fase II de Nrf2 a concentraciones μ M. La asociación de ambas actividades ha dado lugar a un perfil neuroprotector frente al estrés oxidativo, a una disminución de la hiperfosforilación de tau, y una reducción de la neuroinflamación crónica, siendo una estrategia interesante y prometedora en el tratamiento de la EA. ^[34]

La terapia multidiana ofrece ciertas ventajas con respecto a las anteriores opciones terapéuticas: facilita la posología, reduce la dificultad de formulación y las interacciones farmacológicas y puede usarse en casos donde no sea posible la co-administración de diferentes fármacos. Por ello, constituye una opción terapéutica válida, novedosa y económica que debería continuar desarrollándose.

CONCLUSIONES

La sobreexpresión de GSK-3 β , da lugar al desarrollo de patologías severas como la EA, siendo su inhibición una estrategia clave para el tratamiento de la misma. Aunque se han desarrollado potentes inhibidores, un gran número de ellos, que parecían prometedores, se han descartado debido a su escasa selectividad o capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica. La falta de selectividad de los inhibidores ATP-competitivos está forzando a buscar estrategias alternativas como bloquear el dominio de unión al sustrato, bloquear el dominio de la triada catalítica, usar fosfopéptidos que puedan bloquear ambos centros, ligandos que se unan a sitios alostéricos o desarrollar inhibidores irreversibles que mejoren la estabilidad. Además se utilizan estudios QSAR para optimizar su actividad u otras estrategias como los compuestos multidiana. El fracaso o el progreso de estas moléculas estimulará o desalentará futuras investigaciones que intenten mejorar el tratamiento sintomático actual.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Prince, A. Comas-Herrera, M. Knapp, M. Karagiannidou. World Alzheimer report 2016: improving healthcare for people living with dementia. Alzheimer's Disease International (ADI),UK.
2. P.H. George-Hyslop, G. Levesque, L. Levesque, M. Rosen et al. Two Homologous Genes Causing Early Familial Alzheimer's Disease. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 2016, 61:559-564.
3. A. Kremer, J. Louis, T. Jaworski and F. Leuven. GSK3 and Alzheimer's disease: facts and fiction. Front. Mol. Neurosci., 2011, 4 (art. 17):1-10.
4. T Ikeda, M. Yamada. Risk factors for Alzheimer's disease. Brain Nerve, 2010, 62:679.
5. M.J. Savage and D.E. Gingrich. Advances in the Development of Kinase Inhibitor Therapeutics for Alzheimer's Disease. Drug Devel. Res., 2009, 70:125.
6. M. Rosini, E. Simoni, M. Bartolini, A. Tarozzi, R. Matera et al. Exploiting the lipoic acid structure in the search for multitarget ligands in Alzheimer's disease. Curr Neuropharmacol., 2014, 12:239.
7. A. Castro, A. Martinez. La enfermedad del Alzheimer: bsases moleculares y aproximaciones terapéuticas. Mini-Rev. Med. Chem., 2002, 2:37.
8. P. Lorenzo, A. Moreno, J.C Leza, I. Lizasoain, M.A Moro, A.Portolés. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica, cap. 19. Editorial Panamericana. 2009.
9. J. Wallach, T. Colestock, A. Adejare. Drug Discovery Approaches for the Treatment of Neurodegenerative Disorders, en A. Adejare (Ed.), Receptor Targets in Alzheimer's Disease, capítulo 6. Elsevier, 2017.
10. W. Limapichat, W.Y. Yu, E. Branigan, H.A. Lester, D.A. Dougherty. Chem. Neurosci. 2013, 4:255.
11. L. Tuneu, M. Rojas, M. Sardans, E. Paredes, A. Gaona. Guía de seguimiento farmacoterapéutico para la enfermedad de Alzheimer. Universidad de Granada.
12. Bavelloni A, Piazzini M, Raffini M, Faenza I, Blalock WL. Prohibitin 2: At a communications crossroads. IUBMB Life, 2015, 67:239.
13. L. K. Chico, L. J. van Eldik, D. M. Watterson, Targeting protein kinases in central nervous system disorders. Nature Rev. Drug Dis., 2009, 8:892.
14. M. Arfeen, P. V. Bharatam. Design of Glycogen Synthase Kinase-3 Inhibitors: An Overview on Recent Advancements. Curr. Pharm. Des., 2013, 19:4755.
15. D. Muyliaert, A. Kremer, T. Jaworski, P. Borghgraef et al. Glycogen synthase kinase-3 β , or a link between amyloid and tau pathology?. Genes Brain Behav., 2008, 7 Suppl 1:57.
16. E. Beurel, SF. Grieco, RS. Jope. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases. Pharmacol Ther., 2015, 148:114.
17. C. Hooper, R. Killick. The GSK3 hypothesis of AD. J. Neurochem., 2008, 104: 1433.
18. F. Hernández, M. Pérez, JJ. Lucas, R. Bhat, J. Avila. GSK-3 β plays a crucial role in tau exon 10 splicing and intranuclear distribution of SC35. Implications for AD. J. Biol. Chem., 2004, 279:3801.

19. I. Khan, M.A. Tantray, M.S. Alam, H. Hamid, Natural and synthetic bioactive inhibitors of glycogen synthase kinase. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, 125:464.
20. TD Gould, HK. Manji. Glycogen synthase kinase-3: a putative molecular target for lithium mimetic drugs. *Neuropsychopharmacology* 2005, 30:1223.
21. M. Maqbool, M. Mobashir, N. Hoda, Pivotal role of glycogen synthase kinase-3: A therapeutic target for Alzheimer's disease, *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, 107:63.
22. S. Leclerc, M. Garnier; R. Hoessel, D. Marko, J.A. Bibb et al. Indirubins inhibit glycogen synthase kinase-3beta and CDK5/p25, two protein kinases involved in abnormal tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *J Biol Chem.*, 2001, 276:251.
23. L. Meijer, A.L Skaltsounis, P. Magiatis, P. Polychronopoulos, M. Knockaert et al. GSK-3-selective inhibitors derived from Tyrian purple indirubins. *Chem. Biol.*, 2003, 10:1255.
24. R. Zhong, H. Yan, Y. Jiang. Structural Features Underlying Selective Inhibition of GSK3b by Dibromocantharelline: Rational Drug Design. *Chem Biol Drug Des* 2011;77(3):199–205.
25. T Kramer, B. Schmidt, F. Lo monte. Small-Molecule Inhibitors of GSK-3: Structural Insights and Their Application to Alzheimer's Disease Models. *Int J Alzheimers Dis.*, 2012, 2012:381029.
26. M. Leost, C. Schultz, A. Link, Y.Z Wu, J. Biernat et al. Paullones are potent inhibitors of glycogen synthase kinase-3beta and CDK5/p25. *Eur. J. Biochem.*, 2000, 267:5983.
27. D.G Smith, M. Buffet, A.E. Fennwick, D. Haigh, R.J. Iffe, et al. 3-Anilino-4-arylmaleimides: potent and selective inhibitors of GSK-3. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2001, 11:635.
28. P.H. Olesen, AR. Sorensen, B. Urso, P Kurtzhals et al. Structure-Based Design of 3-(4-Aryl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-Biphenyl Derivatives as P2Y₁₄ Receptor Antagonists. *J Med Chem.*, 2016, 59:6149.
29. G. Ermondi, G. Caron, IG. Pintos, et al. An application of two MIFs-based tools (Volsurf+ and Pentacle) to binary QSAR: the case of a palinurin-related data set of non-ATP competitive glycogen synthase kinase 3β (GSK-3β) inhibitors. *Eur J Med Chem.*, 2011, 46:860.
30. A. Bidon-chanal, A. Fuertes, D. Alonso, et al. Evidence for a new binding mode to GSK-3: allosteric regulation by the marine compound palinurin. *Eur J Med Chem.*, 2013, 60:479.
31. A. Martinez, M. Alonso, A. Castro. First non-ATP competitive GSK-3beta inhibitors: Thiadiazolidinones as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem.*, 2002, 45:1292.
32. P. Zhang, HR. Hu, ZH.Huang, JY. Lei, Y. Chu. Identification of novel scaffold of benzothiazepinones as non-ATP competitive glycogen synthase kinase-3β inhibitors through virtual screening. *Bioorg Med Chem Lett.*, 2012, 22:7232.
33. S. Berg, M. Bergh, S. Hellberg, et al. Discovery of novel potent and highly selective GSK3β inhibitors for Alzheimer's disease: synthesis and characterization of pyrazines. *J Med Chem.*, 2012, 55:9107.
34. I. Gameiro, P. Michalska, G. Tenti, A. Cores et al. Discovery of the first dual GSK3β inhibitor/Nrf2 inducer. A new multitarget therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Sci. Rep.*, 2017, 7:45701.