

CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS

Identificación in silico de moléculas potencialmente inhibitoras de CDK5, proteína relacionada con la enfermedad de Alzheimer**Identification in silico of potentially inhibitive molecules of CDK5, protein related with the Alzheimer's disease**

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

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

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

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

Cómo citar este artículo:

Díaz Medina LM, Medina García M, Duque González AC, Miguélez Nodarse R. Susceptibilidad antimicrobiana en muestras clínicas de pacientes con infecciones asociadas a la atención de salud. Revista Habanera de Ciencias Médicas [revista en Internet]. 2017 [citado];16(3):[325-335]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/1650>

Recibido: 14 de diciembre de 2016.

Aprobado: 3 de mayo de 2017.

AGRADECIMIENTOS

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

RESUMEN

Introducción: La enfermedad de Alzheimer exhibe un compromiso neurodegenerativo e irreversible. Hoy, numerosas investigaciones promueven la inhibición de algunas quinasas

para su tratamiento, de especial mención la CDK5.

Objetivo: Identificación de nuevas moléculas con posibilidad de interactuar con la proteína

quinasa dependiente de ciclina 5, CDK5, inhibiendo su función.

Material y Métodos: Se realizó un estudio in silico, para lo cual se extrajeron 911 moléculas de pubchem, y mediante AutoDock Vina se hicieron acoplamientos moleculares con la proteína CDK5 extraída de Protein Data Bank y con un inhibidor conocido para la proteína. Además se realizó un acoplamiento inverso para la identificación de otros posibles blancos moleculares con los mejores ligandos seleccionados.

Resultados: Con los resultados obtenidos fueron identificadas cinco moléculas con valores de

afinidad entre -11,6 hasta -17,7 Kcal/mol que se unen en el sitio activo de la proteína, de igual forma que lo hace el inhibidor conocido de la misma, e interactúan con los residuos cisteína 83 y glutamina 81.

Conclusiones: Las moléculas identificadas pueden interactuar con la CDK5 a nivel de su sitio activo, por lo que podrían actuar como inhibidores de esta quinasa. Esto abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

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

ABSTRACT

Introduction: The illness of Alzheimer exhibits a neurodegenerative and irreversible commitment. Today, numerous investigations promote the inhibition of some kinases to the treatment, of special mention the CDK5.

Objective: Identification of new molecules witch are able to interact with the cycline dependent kinase protein 5, CDK5, inhibiting their function.

Material and Methods: it was carried out a study in silico, for that 911 pubchem molecules were extracted, and by means of AutoDock Vina molecular joining, were made with the protein CDK5 extracted from the Protein Data Bank and with a well-known inhibitor for the protein. It was also carried out an inverse joining for the identification of other possible molecular targets with the best-selected ligands.

Results: With the obtained results five molecules were identified with values of likeness among -11,6 until -17,7 Kcal/mol that joins in the active site of the protein, in the same form that makes it the well-known inhibitor of the CDK5, and interact with the residuals cysteine 83 and glutamine 81.

Conclusions: The identified molecules can interact with the CDK5 at level of their active place, for what you/they could act as inhibitors of this quinasa. This opens a future therapeutic window in the treatment of the illness of Alzheimer.

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

INTRODUCCIÓN

La epidemiología global de las demencias va en aumento, en 2005, 24,4 millones de personas

presentaron deterioro cognitivo y funcional en todo el mundo, se estima una prevalencia cuatro

veces mayor para 2050,¹ por lo que se establece así, un problema de salud pública.

La enfermedad de Alzheimer (EA) exhibe un compromiso neurodegenerativo e irreversible, expresado en dos lesiones patognomónicas: el depósito extracelular de péptido beta-amiloide (A β) que forma placas y la acumulación intraneuronal de la proteína Tau hiperfosforilada, y produce ovillos neurofibrilares.² Además el A β puede ocasionar procesos inflamatorios y trombóticos por sí solo, puesto que, logra activar el factor XII e interaccionar con la fibrina.³ Hoy, no existe tratamiento que cure o interrumpa el curso de la enfermedad, solo se cuenta con fármacos que restablecen, por un tiempo, los procesos cognitivos y conductuales a nivel cerebral. Se usan inhibidores de la acetilcolinesterasa como donepecilo, rivastigmina y galantamina, también los antagonistas de los receptores N-metil-D-Aspartato, el único aprobado, la memantina.⁴ Nuevas terapias apuntan a tratar la enfermedad desde sus precursores causales. Actualmente, cerebrolysin ha demostrado capacidad para inducir neuroplasticidad y neuroregeneración en murinos.⁵ Otras investigaciones promueven la

OBJETIVO

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es identificar in silico nuevas moléculas con

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio es una investigación de tipo computacional, enfocada en el diseño de nuevos fármacos, y se empleó software y páginas web de libre acceso. Para la realización de este estudio in silico, se descargaron las estructuras tridimensionales de las moléculas en formato sdf

inhibición de algunas cinasas, puesto que son capaces de fosforilar a Tau in vitro en diferentes sitios. Especial mención merece en este sentido, la cinasa 5 dependiente de ciclina (CDK 5), que promueve el autoensamblaje de ovillos de filamentos rectos y helicoidales apareados,⁴⁻⁶ mediante la fosforilación anormal de TAU, esencialmente en residuos Serina-Treonina,⁷ pese a conocerse su función no ha sido ampliamente estudiada.

De hecho, los estudios recientes están enfocados en la búsqueda de moléculas que puedan detener la progresión de la enfermedad, debido a la falta de tratamientos efectivos disponibles,⁸ para lo cual han sido empleadas nuevas tecnologías, entre ellas estudios in silico, los cuales han sido creados para reducir costos y tiempo en el diseño de nuevos fármacos, como complementario a los métodos experimentales.⁹ El acoplamiento molecular entre una proteína y un ligando puede ser simulado si la estructura tridimensional del blanco molecular es conocida o un buen modelo comparativo 3D (tridimensional) está disponible, siendo una excelente herramienta en la primera fase del descubrimiento de nuevos fármacos.¹⁰

posibilidad de interactuar con la CDK5 inhibiendo su función.

de la base de datos Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) y se extrajeron 991 ligandos que fueron subidos a este portal web entre marzo y noviembre de 2014. Se ingresaron al programa OpenBabel y se convirtieron al formato pdbqt [Protein Data

Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)].¹¹ Se descargó la estructura tridimensional de la proteína CDK5, de la base de datos Protein Data Bank (PDB) con el código 3O0G. Se minimizó la proteína utilizando las cargas parciales atómicas por el método de Kollman, que describe el potencial del sistema en términos de las posiciones de energía de los átomos, y está parametrizado para proteínas y ácidos nucleicos. Se utilizó el software MGLTools 1.5.0 para convertir estructuras de pdb a formato pdbqt, agregando hidrógenos polares y asignando cargas parciales de Kollman.¹¹ Se realizaron tres corridas de los ligandos seleccionados con la proteína CDK5 extraída de pdb utilizando AutoDock Vina para determinar posibles sitios de unión entre estos. El sitio de acoplamiento para los ligandos en la proteína CDK5 se definió estableciendo un cubo con una dimensión suficiente para cubrir la proteína completa, con un espaciado de punto de rejilla de 1 Å. Para cada carrera se guardó la mejor pose. Finalmente, el promedio del valor de afinidad en Kcal/mol para la mejor pose fue aceptado como el valor de afinidad de unión para un complejo particular.⁷ Posteriormente se organizaron las moléculas con respecto a su valor de afinidad con CDK5 de mayor a menor, y se seleccionaron

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los mejores valores de acoplamientos moleculares de complejos proteína-ligando; de estos últimos se expone el nombre químico, los ligandos que exhibieron mayores valores de afinidad por CDK5 fueron 15,16-Ethenohexabeno [bc, ef,hi,kl,no,qr] coronene y (3-methyl-8,13-dioxo-4aH-naphtho [2,3-a]phenoxazin-7-yl) 4-methoxybenzoate, con

los ligandos con mayor puntuación.¹¹ Para comprobar la predictibilidad del método utilizado se realizó el acoplamiento molecular con un inhibidor conocido para la proteína evaluada,¹¹ el cual es 4-amino-2-[(4-clorofenil)amino]-1,3-thiazol-5-il}(3-nitrofenil)metanona,¹² empleando AutoDock Vina. Además se evaluó la capacidad de los ligandos estudiados de unirse al mismo sitio activo en el que se une el inhibidor en la proteína, para poder inferir la actividad inhibitoria de los mismos. La identificación de residuos proteicos que interaccionan con los ligandos que poseen las mayores afinidades se llevó a cabo con LigandScout 3.0. Este programa desarrolla farmacóforos para proponer el número y el tipo de las interacciones primarias existentes de ligando-residuo en el sitio activo de la proteína.¹¹ Para la identificación de otros posibles blancos se realizó un acoplamiento inverso empleando la página web "Alzheimer's disease target prediction" (<http://nps.jnu.edu.cn>), la cual es una página web de libre acceso y combina métodos basados en la estructura y en el ligando para identificar blancos moleculares en una librería de 519 sitios activos de 29 blancos contra la EA, generando resultados de puntuación en Kcal/mol.¹³

resultados de -17,7 Kcal/mol y -12,0 Kcal/mol respectivamente. La estructura tridimensional y el sitio de unión de estos ligandos, con la proteína CDK5 se pueden observar en la figura 1, así como los aminoácidos involucrados en la interacción proteína-ligando (Figura 1A-E). La figura 1F-J, muestra que los cinco ligandos son capaces de unirse al sitio activo de la proteína,

de la misma forma que lo hace el inhibidor, por lo que estos podrían actuar como inhibidores.

La Figura 2 presenta la estructura bidimensional de los ligandos con mejores valores de afinidad identificados en el presente estudio. Los valores de acoplamiento inverso realizado entre los ligandos seleccionados en esta investigación y otros blancos de estudio de la enfermedad de

Alzheimer se exponen en la Tabla 2, dentro de las proteínas que obtuvieron interacción molecular con todos los ligandos seleccionados se encuentran: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, Mitogen-activated protein kinase 14, y cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase.

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

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

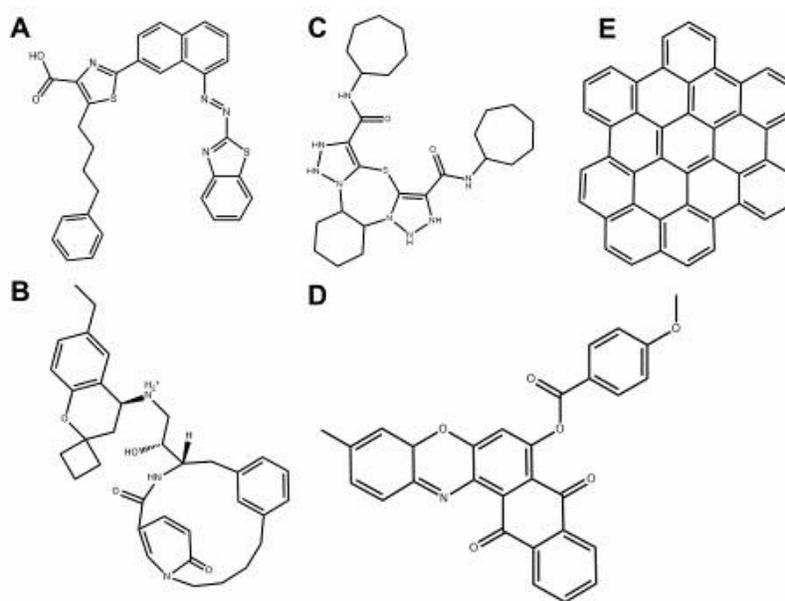


Figura 2. Estructura 2D (Bidimensional) de las moléculas con posibilidad de interacción con CDK5 identificadas. A. 78225395, B. 78225453, C. 78235921, D. 78369689, E. 86223021.

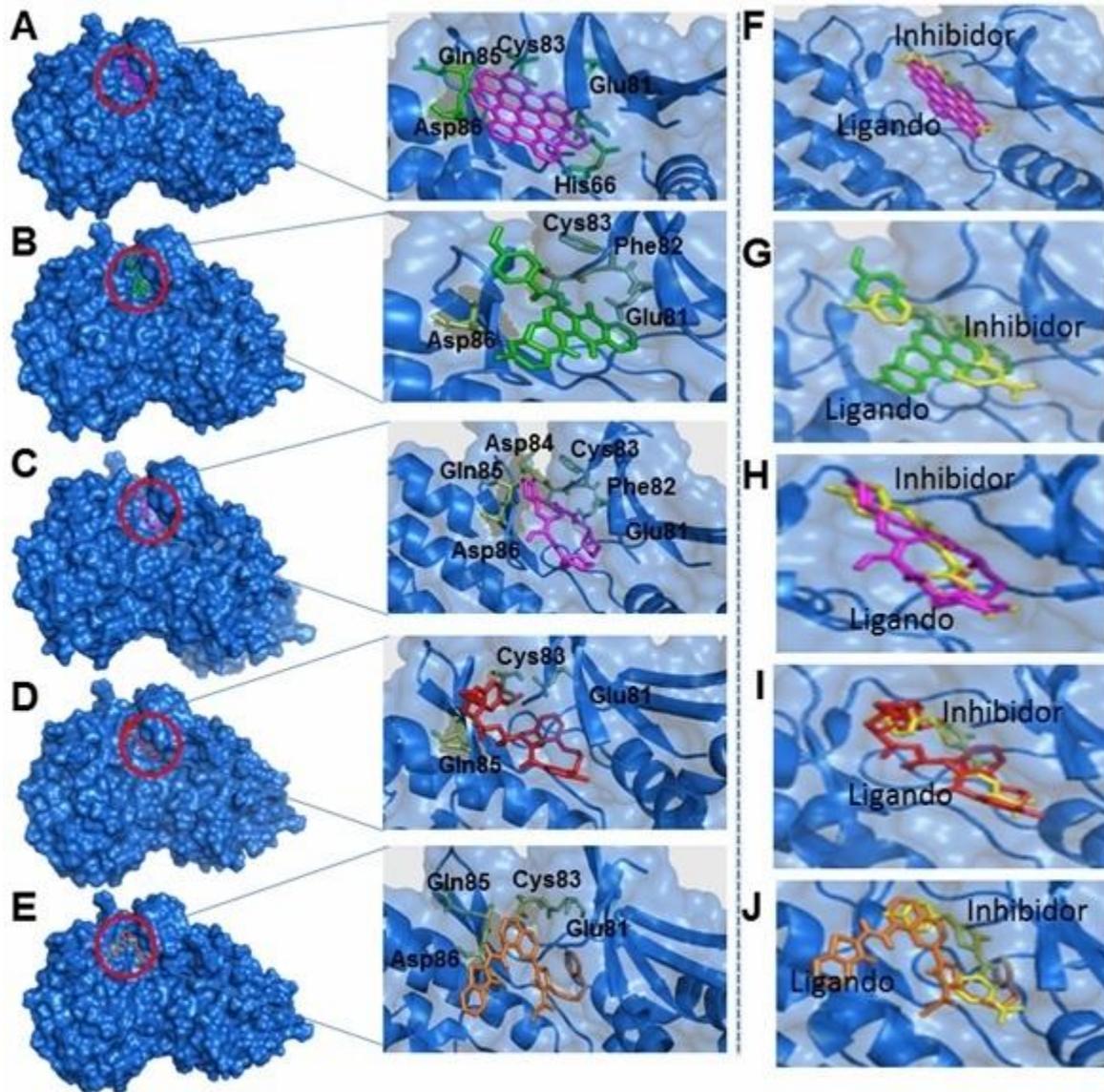


Figura 1. Vista tridimensional de los complejos proteína-ligando, residuos interaccionantes (A-E) de la proteína CDK5 con los ligandos con mejores valores de afinidad y complejos proteína-ligando-inhibidor (F-J). A. Complejo CDK5- 86223021. B. Complejo CDK5- 78369689. C. Complejo CDK5- 78235921. D. Complejo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

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

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

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

2D: bidimensional, PDB: Código Protein Data Bank.

DISCUSIÓN

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

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

Los resultados de acoplamiento molecular de este estudio (Tabla 1), revelan un alto valor de

afinidad si se comparan con los obtenidos de interacciones entre CDK5 y los compuestos flavonoides: sulfuretin, aureusidin, aurone glycoside, aureusidin-6-O-b-D-glucopyranoside, hovetrichoside C, the flavonoid glycoside, quercetin-3-O-b-D-galactopyranoside y Cupressuflavone; la energía de enlace prevista más alta de todas estas uniones fue de -9,60 Kcal/mol.¹⁷ Otras revisiones demuestran afinidades de -14,8 Kcal/mol entre flavonoides y la proteína blanco; sin embargo, en el presente análisis la mejor afinidad encontrada fue de -17,7 Kcal/mol,¹⁸ lo que indica una preferible capacidad inhibidora de los candidatos propuestos en este trabajo cuya estructura molecular 2D se muestra en la Figura 2. En este trabajo se intentó además, identificar otros blancos relacionados con la EA mediante acoplamiento inverso, mostrados en la Tabla 2. Las proteínas que tuvieron interacción con todos los cinco mejores ligandos seleccionados en el presente estudio fueron: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, Mitogen-activated protein kinase 14, y cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase. Nishikawa et al., describieron la inmunoreactividad de Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate en el hipocampo, la corteza entorrinal y el neocortex de 5 pacientes con EA y establecieron que este lípido participa en la degeneración de cuerpos granuvacuolares y en la formación de los ovillos neurofibrilares.¹⁹

Con respecto a la Mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14), pertenece a la superfamilia de las proteína quinasas activadas por mitógenos. La literatura elude estudios in vitro

de fosforilación de Tau por estas proteínas en sitios de prolina Ser/Thr, generando así la producción de ovillos neurofibrilares,²⁰ sin embargo, al aumentar MAPK14 se disminuye la degradación autofágico-lisosómica neural se incrementan así los niveles de BACE1 y se favorece la producción de placas amiloides.²¹ Acerca de la enzima cGMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase, se sabe que actúa por inactivación metabólica bloqueando la señalización de nucleóticos cíclicos implicados en la regulación de la plasticidad sináptica, su sitio activo contiene un residuo de glutamina que contribuye a la unión con cGMP por medio de un doble enlace de hidrógeno. Se maneja la hipótesis de "Glutamine Switch", la cual plantea que los enlaces de hidrógeno alrededor de glutamina sirven para bloquearla en una

CONCLUSIONES

Se concluye que los cinco ligandos identificados virtualmente pueden interactuar con la enzima CDK5 y podrían actuar como inhibidores de la misma, lo que abre una futura ventana terapéutica en el tratamiento de la EA. Además, se evidenció que estas moléculas no solo

conformación fija o producir cambio conformacional.²²

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

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

pueden interactuar con CDK5, sino que también podrían hacerlo con otros blancos moleculares implicados en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer, lo que permite argumentar la posible utilización de estas en el tratamiento de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2014 Consultado: 2016 Ago 02; 88: 640–651. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24398425>
2. Bernhardt R. Neurobiological mechanisms of Alzheimer's disease. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr* [Internet]. 2005 Consultado: 2016 Ago 02]. 43(2):123-132 Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272005000200005

3. Zamolodchikov D, Strickland S. A possible new role for A β in vascular and inflammatory dysfunction in Alzheimer's disease. *Thromb Res* [Internet]. 2016 May Consultado: 2016 Ago 04; 141(2):59–61 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207427>

4. López O. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Arch Med Interna [Internet]. 2015 Consultado: 2016 Ago 06; 37(1):61-67. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-423X2015000200003
5. Sharma HS, Muresanu DF, Sharma A. Alzheimer's disease: cerebrolysin and nanotechnology as a therapeutic strategy. Neurodegener Dis Manag [Internet]. 2016 Dic Consultado: 2016 Ago 10; 6(6):453-456. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27827552>
6. Herrera M, Hernández M, Manzo J, Aranda G. Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. Rev Neurol [Internet]. 2010 Consultado: 2016 Ago 15; 51(3): 153-164 Disponible en: <http://www.neurologia.com/pdf/Web/5103/be030153.pdf>
7. Maccioni C, Arzola M, Mujica L, Maccion R. Nuevos paradigmas en el estudio de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Rev. chil. neuro-psiquiatr [Internet]. 2003 Consultado: 2017 Abr 15; 41(supl 2):33-46.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272003041200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
8. Williams P, Sorribas A, Howes MJ. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. Nat Prod Rep [Internet]. 2011 Consultado: 2017 Abr 15; 28(1):48-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21072430>
9. Li H, Zheng M, Luo X, Zhu W, Jiang H. Computational approaches in drug discovery and development. Wiley encyclopedia of chemical biology [Internet]. 2008 Consultado: 2017 Abr 15]. Disponible en:
- <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470048672.webc098/abstract;jsessionid=F09909716C68BF68B8AE25FC83E1BD3D.f01t01?systemMessage=Pay+Per+View+on+Wiley+Online+Library+wil+be+unavailable+on+Saturday+15th+April+from+12%3A00-09%3A00+EDT+for+essential+maintenance.+Apolo+gies+for+the+inconvenience.&userIsAuthenticated=false&deniedAccessCustomisedMessage=>
10. Pierri C, Parisi G, Porcelli V. Computational approaches for protein function prediction: A combined strategy from multiple sequence alignment to molecular docking-based virtual screening. Biochim Biophys Acta [Internet]. 2010 Consultado: 2017 Abr 15; 1804(9):1695-712. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20433957>
11. Pájaro N, Flechas M, Ocazone R, Stashenko E, Olivero J. Potential interaction of components from essential oils with dengue virus proteins. Bol Latin Carib Plant Medic Aromát [Internet]. 2015 Consultado: 2016 Sep 03; 14(3):141–155. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85638535001>
12. Ahn JS, Radhakrishnan ML, Mapelli M, Choi S, Tidor B, Cuny GD, et al. Defining Cdk5 ligand chemical space with small molecule inhibitors of Tau phosphorylation. Chem Biol [Internet]. 2005 Consultado: 2016 Sep 18; 12:811–23. Disponible en: [http://www.cell.com/cbio/abstract/S1074-5521\(05\)00157-2](http://www.cell.com/cbio/abstract/S1074-5521(05)00157-2)
13. Gao-keng X, Hao G, Xin-sheng Y. Alzheimer's Disease target prediction Institute of Traditional Chinese Medicine and Natural Products, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, China. [Internet]. Consultado: 2016 Nov 05]. Disponible en: <http://nps.jnu.edu.cn>

14. Demange L, Abdellah FN, Lozach O, Ferandin Y, Gresh N, Meijer L, et al. Potent inhibitors of CDK5 derived from roscovitine: Synthesis, biological evaluation and molecular modelling. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2013 Consultado: 2016 Oct 15; 23:125–31. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23218601>
15. Chatterjee A, Cutler SJ, Doerksen RJ, Khan IA, Williamson JS. Discovery of thienoquinolone derivatives as selective and ATP non-competitive CDK5/p25 inhibitors by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2014 Consultado: 2016 Oct 22; 22(22) :6409-21 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Discovery+of+thienoquinolone+derivatives+as+selective+and+ATP+non-competitive+CDK5%2Fp25+inhibitors+by+structure-based+virtual+screening>
16. Dong K, Wang X, Yang X, Zhu X. Binding mechanism of CDK5 with roscovitine derivatives based on molecular dynamicssimulations and MM/PBSA methods. *J Mol Graph Model* [Internet]. 2016 Consultado: 2016 Nov 02;68:57-67. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Binding+Mechanism+of+CDK5+with+Roscovitine+Derivatives+Based+on+Molecular+Dynamics+Simulations+and+MM%2FPBSA+Methods>
17. Shrestha S, Natarajan S, Park JH, Lee DY, Cho JG, Kim GS, et al. Potential neuroprotective flavonoid-based inhibitors of CDK5/p25 from *Rhus parviflora*. *Bioorg Med Chem Lett*. [Internet]. 2013 Consultado: 2016 Nov 11;23(18):5150-54 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+neuroprotective+flavonoid-based+inhibitors+of+CDK5+p25+from+Rhus+parviflora>
18. Mascayano C, Carolina L. Síntesis de derivados de 1-bencilisoquinolinas como posibles inhibidores de CDK5 y estudio de las interacciones en el sitio de unión de ATP. Universidad de Santiago de Chile, Facultad de Química y Biología. [Internet]. 2006 Consultado: 2016 Nov 11. Disponible en: <http://dspace2.conicyt.cl/handle/10533/15016>
19. Nishikawa T, Takahashi T, Nakamori M, Yamazaki Y, Kurashige T, Nagano Y, et al. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulovacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles. *Neuropathol Appl Neurobiol* [Internet]. 2014 Jun Consultado: 2016 Nov 24; 40(4):489-501. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Phosphatidylinositol-4%2C5-bisphosphate+is+enriched+in+granulovacuolar+degeneration+bodies+and+neurofibrillary+tangles>.
20. Haddad J. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention? *Prog Neurobiol* [Internet]. 2004 Ago Consultado: 2016 Nov 28;73(5):359-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Mitogen-activated+protein+kinases+and+the+evolution+of+Alzheimer%E2%80%99s%3A+a+revolutionary+neurogenetic+axis+for+therapeutic+intervention%3F%2C>
21. Alam J, Scheper W. Targeting neuronal MAPK14/p38 α activity to modulate autophagy in the Alzheimer disease brain. *Autophagy* [Internet]. 2016 Dic Consultado: 2016 Dic 03; 12(12):2516-20]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Targeting+neuronal+MAPK14%2Fp38%CE%B1+activit>

[y+to+modulate+autophagy+in+the+Alzheimer+disease+brain](#)

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

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