

Nuevos compuestos, afines a las placas β -amiloideas, para el manejo potencial de la Enfermedad de Alzheimer

Autores Principales: Chryslaine Rodríguez - Tanty¹, Suchitil Rivera - Marrero¹, Marquiza Sablón - Carrazana¹, Alberto Bencomo Martínez¹, Alejandro Perera Pintado² y Anaís Prats Capote².

Otros Autores: Rafaela Perez Perera¹, Orestes de Jesús Diaz Garcia¹, Peter Valdes Sosa¹, Myriam Altamirano Bustamante³, Isaac Fernández Gómez³, Laura Fernandez Masa⁴ y Marcin Balcerzyk⁴.

Colaboradores: 8

Filiaciones:

¹ Dpto. Neuroquímica, Centro de Neurociencias de Cuba, Cubanacán, Playa, La Habana, Cuba.

² Centro de Investigaciones Clínicas, La Habana, Cuba. ³Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Metabólicas, Hospital de Cardiología

³ Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México D.F.

⁴ Centro Nacional de Aceleradores (CNA). University of Seville, CSIC, Junta de Andalucía.

Autor para la correspondencia: Chryslaine Rodríguez-Tanty
Centro de Neurociencias de Cuba. Rotonda La Muñeca, 15202 Avenida 25,
La Habana 11600. Cuba
(7)2085236 ext.354
chris@cneuro.edu.cu

1. Resumen

Los nuevos compuestos son candidatos potenciales para ser empleados en el diagnóstico temprano, como sondas para la visualización de las placas seniles constituidas por depósitos de proteína β -amiloide ($A\beta$), así como para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer (EA), ya que inhiben el proceso de plegamiento anómalo de proteínas. La EA es un trastorno neurodegenerativo que conlleva a la pérdida de las capacidades cognitivas y de memoria y se evidencia fundamentalmente en la tercera edad. Cuba es un país con un 18,3 % de sus habitantes que supera los 60 años y para el año 2020 se convertirá en el país de la región con mayor proporción de adultos mayores. La prevalencia de la EA es de 150 000 personas y esta cifra alcanzará para el 2040 el 2.7 % de la población cubana adulta mayor. (J.J. Libre Anales de la Academia de Ciencias de Cuba; 2011 2(2):1-18). La aparición de las placas seniles ocurre 20 años antes de que aparezcan los síntomas de la EA. Por esto, resulta de gran valor disponer de un medio de diagnóstico precoz e in vivo que permita visualizarlas con el propósito de implementar una terapia temprana que puede retardar el inicio de la manifestación de la EA. Así, en el Centro de Neurociencias de Cuba (CNEURO) se sintetizaron nuevos compuestos derivados del naftaleno, mediante métodos de síntesis convencionales. Estos compuestos son marcados con diferentes nucleidos (^{99m}Tc , ^{131}I , ^{11}C y ^{18}F) y pueden ser utilizados como sondas para la visualización de $A\beta$ fibrilos, mediante tomografía por emisión de positrones (PET) y tomografía computarizada de emisión de fotón simple (SPECT). Se comprobó, in vivo, que los radiofármacos con ^{131}I , ^{11}C y ^{18}F , son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) en animales sanos y transgénicos (tipo EA), siendo su captación y tiempo de retención mayor en el caso de los animales transgénicos. Por otra parte, los estudios in silico de los compuestos evidenciaron que interactúan con los aminoácidos de la $A\beta$, responsables de la agregación proteica, desestabilizando su conformación β , por lo que pueden modular el proceso de plegamiento anómalo de proteínas. Esto se comprobó en los estudios in vitro, en donde los compuestos modularon la cinética del proceso de fibrilogénesis de proteínas modelos, lo cual fue monitoreado por técnicas espectroscópicas y microscópicas. También, los compuestos presentaron actividad citoprotectora en cultivos de células granulares de cere-

belo expuestos a estímulos citotóxicos, lo cual se evidenció por los ensayos de viabilidad celular y apoptosis realizados. Los resultados obtenidos avalan las posibilidades de que los compuestos sean empleados como radiofármacos para el diagnóstico de la EA. Algunos de los compuestos resultan versátiles a ser marcados con distintos radionucleidos lo que permite su adaptabilidad al equipamiento disponible en el servicio de medicina nuclear. Los resultados en la modulación de la fibrillogénesis como agentes terapéuticos para la EA, sustentan futuros estudios encaminados hacia la evaluación preclínica de estos compuestos. Los compuestos y sus procedimientos de síntesis son novedosos. Los resultados de este trabajo forman parte de tres patentes, dos aprobadas por la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial (OCPI) y de ellas, una aprobada por la Oficina Europea y de Sudáfrica, y la tercera solicitada ante la OCPI. También aparecen publicados en tres artículos nacionales y tres internacionales. El trabajo ha sido expuesto en forma de cartel o presentación oral, en varios eventos internacionales y ha contribuido a la formación de nuevos profesionales.

2. Comunicación Corta

2.1. Introducción

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo que conlleva a la pérdida de las capacidades cognitivas y de la memoria, desorientación, trastornos del lenguaje y cambios de conducta; problemas que se agravan rápida e indeteniblemente en el tiempo, incidiendo de manera desfavorable en la calidad de vida de los pacientes. Es devastadora, tanto para la persona que la sufre, como para su entorno familiar y social.¹⁻³ Después de los 65 años, la probabilidad de desarrollar EA se duplica cada cinco años, en la misma medida en que se envejece, de tal manera que a los 85 años esta probabilidad se aproxima al 50 %^[1, 2, 3]. Dadas las tendencias demográficas actuales, ha sido llamada la epidemia del siglo, por lo que se encuentra entre las seis afecciones incluidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una prioridad en relación con la salud mental. Se calcula que, a escala mundial, 36 millones de personas sufren de EA o alguna demencia relacionada, cifra que deberá alcanzar los 66 millones en el año 2030 y los 115 millones para el 2050^[4].

La EA se caracteriza por la presencia en el cerebro de depósitos neuropatoló-

gicos (enrejados neurofibrilares y placas seniles), los cuales están involucrados en el proceso que conduce a la degeneración neuronal progresiva y a la muerte neuronal[5, 6]. Las placas seniles se encuentran fuera de ellas y están formadas fundamentalmente por depósitos de péptidos β -amiloides ($A\beta$, 39-42 aminoácidos)[7]. Está descrito que la implementación de una terapia temprana puede retardar el inicio de la manifestación de la EA en cinco años y disminuir su prevalencia en un 50 %, por lo que se requiere un diagnóstico precoz de la enfermedad[8, 9].

Como agentes prometedores para el tratamiento de la EA se encuentran los moduladores del plegamiento β -amiloide¹⁰ y entre ellos, se encuentran las chaperoninas^{11, 12} o compuestos. Estas moléculas, de bajo peso molecular, permiten estabilizar la conformación de las proteínas frente al estrés térmico así como inhibir la formación de estructuras mal plegadas y subsecuentemente impedir la formación de fibras amiloideas[13]. En el caso de la EA, aunque no se ha descrito aún una terapia efectiva, la inhibición de la formación de $A\beta$ fibrilos se considera una estrategia terapéutica razonable[14, 15]. Por ello, han surgido diferentes investigaciones en la búsqueda de moléculas que manifiestan esta propiedad. Entre estos se destaca el manejo de compuestos con estructuras similares a los fármacos anti-inflamatorios no-esteroidales, ya que a raíz de estudios epidemiológicos se sabe que estos compuestos reducen el riesgo relativo de padecer la EA. Estos compuestos pueden ser empleados como diagnosticadores o fármacos para el manejo de esta enfermedad[16]. Por otra parte, en el mundo hace más de diez años se trabaja en el desarrollo de métodos de neuroimágenes, que permitan el diagnóstico precoz de la EA[17]. Varios son los compuestos desarrollados con el fin de visualizar la presencia de las placas seniles o los enrejados neurofibrilares (EN).

Actualmente, el Florbetapir, el Flutemetamol y el Florbetaben han sido aprobados por la Agencia Reguladora de Alimentos y Medicamentos de los EEUU (FDA de sus siglas en inglés Food Drug Administration), para su uso clínico en humanos mediante la tomografía de emisión positrónica (PET: de sus siglas en inglés Positron Emission Tomography)[18]. El costo de cada dosis, de cualquiera de estos diagnosticadores, ronda los 1 600 USD. Investigaciones recientes se han encaminado al desarrollo de radiofármacos que posibiliten la realización de estudios de tomografía de emisión de fotón único (SPECT: de sus siglas en inglés Single Photon Emission Computed Tomography), tanto marcados con tecnecio-99m, como con yodo-123. Esta técnica resulta menos sensible que la técnica PET, pero más económica ya que el equipamiento es menos costoso, y tiene como ventaja que está disponible en un número mayor

de servicios de Medicina Nuclear[19, 20].

En este sentido, un compuesto que pueda ser marcado alternativamente con tecnecio-99m o con radioisótopos de yodo (yodo-123,-131,-124), o con un emisor de positrones (fluor-18), tiene un gran potencial comercial y una utilidad clínica mayor en el diagnóstico de esta enfermedad.

Esta situación describe un problema, Cuba es un país en vías de desarrollo con indicadores de salud similares a los de países desarrollados y con un rápido envejecimiento de su población total. El 18,3 % de su población supera los 60 años y la esperanza de vida al nacer es de 77.97 años, (76 años para los hombres y 80.02 para las mujeres) y de 22.09 años a los 60 años y 8.8 años más a los 80 años. Se estima que para el año 2020 Cuba se convertirá en el país de Latinoamérica con mayor proporción de adultos mayores (25 % de la población con 60 años y más de edad) (Anuario Estadístico MINSAP 2012; <http://www.sld.cu/servicios/estadísticas>). De acuerdo con las investigaciones realizadas sobre la prevalencia de la enfermedad, se estima una cifra de 150 000 personas con enfermedad de Alzheimer u otro tipo de demencia, cifra que alcanzará 273 000 personas en el año 2030. Sin una intervención efectiva, es decir si no se logra una cura para esta enfermedad en los próximos años, el número de cubanos con demencia se incrementará en 2.3 veces para el 2040 (300 000 personas con demencia), lo que significa el 2.7 % de la población cubana. Anualmente aparecen 28 570 casos nuevos (incidentes), de manera que en los próximos 30 años, la demanda de cuidados a largo plazo para personas con demencia se incrementará en 10 veces las necesidades actuales. (J.J. Llibre Anales de la Academia de Ciencias de Cuba; 2011 2(2):1-18). Por ello, resulta imperioso el desarrollo de medios de diagnósticos certero y de terapia que puedan ser implementados en nuestro país. Con este trabajo se ha desarrollado una serie de estudios que engloban la síntesis de derivados mono- y di-sustituidos de naftaleno, estudios in silico de los compuestos para evaluar su afinidad por los péptidos β -amiloides, estudios in vitro para evaluar la potencialidad de estos compuestos como agentes desagregaste de proteínas β -plegadas y estudios in vivo para evaluar la potencialidad de los compuestos como radiofármacos para el diagnóstico de la EA.

3. Resultados

3.1. Obtención de nuevos derivados de naftaleno para el manejo de la Enfermedad de Alzheimer

En este trabajo se obtuvieron nuevos derivados de naftaleno mono sustituidos, que portan cadenas amidoalquílicas de diferentes longitudes y distintos grupos terminales, a través de métodos convencionales de síntesis. Como resultado, se sintetizaron diez derivados de naftaleno, con rendimientos superiores a un 50 %, cuyas estructuras fueron confirmadas por IR, RMN y Masas. Asimismo, se obtuvieron nuevos derivados di-sustituidos de naftaleno mediante un esquema de síntesis de cinco pasos. Todos los compuestos obtenidos fueron caracterizados adecuadamente mediante sus propiedades físico-químicas. Como resultado de este esquema de síntesis, se obtuvo el 3-(6-metoxi-2-naftil)propil-4-metilbencenosulfonato, nuevo compuesto precursor para el marcaje con ^{18}F , y se obtuvo el 2-(3-fluoropropil)-6-metoxinaftaleno (^{19}F), compuesto que fue empleado para la caracterización del derivado con ^{18}F . Todos los compuestos obtenidos son nuevos y se encuentran protegidos por dos patentes otorgadas por la OCPI.

3.2. Predicción in silico de la zona de interacción entre el péptido β -amiloide y los compuestos derivados del naftaleno

Investigaciones reciente sugieren que la agregación del péptido pequeño β -amiloide ($A\beta$) juega un papel importante en el desarrollo de EA. La comprensión de las interacciones de $A\beta$ con inhibidores de la agregación a nivel atómico es esencial para el desarrollo racional de las herramientas de diagnóstico y de terapia. Varios compuestos derivados de naftaleno (CDN) se han identificado previamente como inhibidores de la agregación de $A\beta$ y algunos de ellos fueron estudiados por QSAR. En este trabajo se utilizaron técnicas de acoplamiento para encontrar y describir los posibles sitios de interacción de los CDN con $A\beta$. Según los cálculos, estos compuestos interactúan preferentemente con los aminoácidos S8-G9 E11-H13 Q15-L17 F19. Esta región ha sido reportada como crucial para la formación de fibrilos amiloides. Se realizó un cribado virtual y se encontró que las energías de interacción entre los CDN y $A\beta$ se encontraban en el rango de -7,2 y -5,7 kcal/mol. Se realizaron los

cálculos de dinámica molecular para evaluar la estabilidad del complejo CDN- $A\beta$. Las simulaciones mostraron que las interacciones hidrofóbicas y polares estabilizan la formación de este complejo. Por último, se calcularon las energías ΔG para evaluar la afinidad de los compuestos predichos a $A\beta$. Todos estos estudios sugirieron que los CDN podrían ser utilizados como inhibidores potenciales de la agregación amiloide.

3.3. Evaluación in vitro de nuevos derivados de naftaleno como potenciales fármacos para la Enfermedad de Alzheimer

De los compuestos derivados monosustituidos sintetizados, seis modularon, de forma tan favorable como la referencia empleada (naproxeno), la cinética del proceso de fibrillogénesis de proteínas empleadas como modelos (BSA, HSA y un fragmento de la amilina). Estas cinéticas fueron monitoreadas por técnicas espectroscópicas (espectroscopia de fluorescencia y UV-Vis) y los resultados fueron corroborados por técnicas microscópicas (TEM y AFM). Dos de los compuestos presentaron actividad citoprotectora en cultivos de células granulares de cerebelo expuestos a estímulos citotóxicos, evidenciados por ensayos de viabilidad celular y apoptosis. Todos estos resultados implican un aporte novedoso al conocimiento científico y además sustentan futuros estudios encaminados hacia la evaluación preclínica de estos compuestos como potenciales agentes terapéuticos de enfermedades asociadas al mal plegamiento proteico, como la EA. Este resultado está protegido por una solicitud de patente realizada a la OCPI.

3.4. Evaluación in vivo de nuevos derivados de naftaleno como potenciales radiofármacos para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer

Algunos de los compuestos sintetizados mono- y di- sustituidos de naftaleno fueron marcados con radionúclidos emisores de radiaciones gamma o emisores de positrones.

En el caso de los derivados monosustituidos, se marcaron la N1 -(2 - aminoetil)-N4-(1- naftil)succinimida con tecnecio - 99m y yodo-131. Asimismo, se obtuvo la [N-metil- ^{11}C] N -[2-(metilamino)etil]- N' - 1- naftilsuccinamida a través de

una N-alquilación directa con el empleo de $^{11}\text{C}[\text{CH}_3\text{I}]$ y la amina primaria correspondiente. Los compuestos marcados con yodo-131 y carbono-11, fueron evaluados in vivo para determinar su capacidad de atravesar la BHE en animales sanos. De acuerdo con las imágenes obtenidas, ambos compuestos atraviesan la BHE de forma bidireccional sin que se produzca deposición en el tejido del cerebro de rata, según las imágenes obtenidas mediante las técnicas PET-TAC y SPECT[11].

Por otro lado, se obtuvo un precursor disustituido de naftaleno para el radiomarcage con ^{18}F . Este marcaje se realizó mediante una reacción de sustitución nucleofílica en un módulo automático (TRACERlabFX F-N). Así, se obtuvo el 2-(3-[^{18}F]-fluoropropil)-6-metoxinaftaleno, con una pureza radioquímica mayor del 95 % y una elevada actividad específica (63.4 PBq/mol). El radiofármaco resultó estable por más de 6 horas. El 2-(3-[^{18}F]-fluoropropil)-6-metoxinaftaleno, se inyectó vía intravenosa en dosis de 3 a 6 MBq/g de peso del animal, en ratones transgénicos tipo Alzheimer y en controles. Se realizaron estudios dinámicos PET/TAC y se analizaron las curvas tiempo-actividad. El 2-(3-[^{18}F]-fluoropropil)-6-metoxinaftaleno, atravesó la barrera hematoencefálica del cerebro de los animales de experimentación. Al comparar las curvas tiempo-actividad de corteza frente SUV relativo a cerebelo, en animales transgénicos se observa mayor captación de actividad con relación a los controles.

3.5. Impactos científicos y sociales del resultado

En Cuba la esperanza de vida al nacer es de alrededor de 78 años, de 22,09 años a los 60 años y 8,8 años más a los 80 años. Actualmente el 18,3 % de la población cubana supera los 60 años. De acuerdo con el Anuario Estadístico del MINSAP 2012, se estima que para el año 2020 nuestro país se convertirá en el país de Latinoamérica con mayor proporción de adultos mayores (25 % de la población con 60 años y más de edad). En los Anales de la Academia de Ciencias de Cuba; 2011 se reporta que en Cuba 150 000 personas padecían de enfermedad de Alzheimer u otro tipo de demencia en el 2010, cifra que alcanzará 273 000 personas en el año 2030. Sin una intervención efectiva, es decir si no se logra una cura para esta enfermedad en los próximos años, el número de cubanos con demencia se incrementará en 2.3 veces para el 2040 (300 000 personas con demencia), lo que significa el 2.7 % de la población cubana. Anualmente aparecen 28 570 casos nuevos (incidentes), de manera que en los próximos 30 años, la demanda de cuida-

dos a largo plazo para personas con demencia se incrementará en 10 veces las necesidades actuales. Por todo esto, este trabajo tiene un gran impacto social porque responde a la necesidad imperiosa desarrollar de medios de diagnósticos certeros y de terapias para la EA, que puedan ser implementados en nuestro sistema nacional de salud. Esto concuerda con el objetivo del gobierno cubano de proporcionar a su población una mejor calidad de vida, lo cual se refleja en el Lineamiento 144 de la Política Económica y Social, consistente en "Brindar particular atención al estudio e implementación de estrategias en todos los sectores de la sociedad para enfrentar los elevados niveles de envejecimiento de la población". El impacto científico de este trabajo se resume en que se ha desarrollado una serie de estudios que engloban la síntesis de nuevos derivados mono- y di-sustituidos de naftaleno, estudios in silico de los compuestos para evaluar su afinidad por los péptidos β -amiloides, estudios in vitro para evaluar su potencialidad agentes desagregante de proteínas β -plegadas y estudios in vivo para evaluar su potencialidad como radiofármacos para el diagnóstico de la EA.

Así, el presente estudio permitió profundizar desde el punto de vista científico, en la obtención por síntesis química y la caracterización estructural de algunas moléculas, derivadas del naftaleno. Además, con la evaluación in vitro realizada a estos compuestos, a través de técnicas espectroscópicas y microscópicas, se podrán abordar los estudios futuros donde se estudie la proteína $A\beta$, específica de la EA. Esto será extensivo a los estudios in vitro en líneas celulares neuronales. Además, estos compuestos podrían ser empleados como radiofármacos versátiles para el diagnóstico temprano de la EA, debido a las posibilidades que presentan sus estructuras para unirse a distintos radionucleidos, lo que los hace únicos a nivel mundial.

Los resultados de este trabajo forman parte de tres patentes, dos aprobadas por la Oficina Cubana de la Propiedad Industrial (OCPI) y de ellas, una aprobada por la Oficina Europea y por Sudáfrica, y la tercera solicitada ante la OCPI. También aparecen publicados en tres artículos nacionales y tres internacionales. El trabajo ha sido expuesto en forma de cartel o presentación oral, en más de 15 eventos internacionales, y ha contribuido a la formación de capital humano: una tesis de doctorado, dos de maestría y cuatro tesis de grado universitarias.

Referencias

- [1] Maya Y, Ono M, Watanabe H, Haratake M, Saji H, et al. Novel Radioiodinated Aurones as Probes for SPECT Imaging of β -Amyloid Plaques in the Brain. *Bioconjug Chem.* 2009; 20: 95-101.
- [2] Behrens MI, Vergara F. Cien años de la enfermedad de Alzheimer. La inmunoterapia ¿una esperanza? *Rev. Méd. Chile.* 2007; 135: 103-110.
- [3] Mathis CA, Lopresti BJ, Klunk WE. Impact of Amyloid Imaging on Drug Disease. *Nucl. Med. Biol.* 2007; 34: 809-822.
- [4] World Health Organization. Dementia: a public health priority. Geneva: World Health Organization. 2012.
- [5] Zhao, W-Q y Townsend, M., *Biochimica et Biophysica Acta* 2009, 1792, 482-496;
- [6] Profenno, L. A.; Porsteinsson, A. P.; Faraone, S. V. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biol. Psychiatry.* 2010; 67: 505-512.
- [7] Gong, Y.; Chang, L.; Viola, K. L.; Lacor, P. N.; Lambert, M. P.; Finch, C. E.; Krafft, G. A.; Klein, W. L. Alzheimer's disease-affected brain: presence of oligomeric A beta ligands (ADDLs) suggests a molecular basis for reversible memory loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100: 10417-10422
- [8] Monsonego A, Weiner HL. Immunotherapeutic Approaches to Alzheimer's Disease. *Science.* 2003; 302: 834-838.
- [9] DeKosky ST, Marek K. Looking backward to move forward: early detection of neurodegenerative disorders. *Science.* 2003; 302:830-834.
- [10] Benjamin, I.J; McMillan, D.R. Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* 1998; 83(2): 117-132.
- [11] Chaudhuri, T.K.; Paul, S. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. *FEBS Journal.* 2006; 273(7): 1331-1349.

- [12] Morello, J. P.; Petäjä-Repo, U.E.; Bichet, D.G.; Bouvier, M. Pharmacological chaperones: a new twist on receptor folding. *Trends Pharmacol. Sci.* 2000; 21(12): 466-469.
- [13] Yoshida, H.; Yoshizawa, T.; Shibasaki, F.; Shoji, S.; Kanazawa, I. Chemical chaperones reduce aggregate formation and cell death caused by the truncated Machado-Joseph disease gene product with an expanded polyglutamine stretch. *Neurobiol. Dis.* 2002; 10(2): 88–99. Findeis, M.A. Peptide inhibitors of beta amyloid aggregation. *Curr. Top Med. Chem.* 2002; 2: 417–423.
- [14] Yang, D.S.; Serpell, L.C.; Yip, C.M.; McLaurin, J.; Chrishti, M.A.; Horne, P.; Boudreau, L.; Kisilevsky, R.; Westaway, D.; Fraser, P.E. Assembly of Alzheimer's amyloid-beta fibrils and approaches for therapeutic intervention. *Amyloid.* 2001; 8 Suppl 1: 10-19.
- [15] Agdeppa, E.D.; Kepe, V.; Petric, A.; Satamurthy, N.; Liu, J. In vitro detection of (S)-naproxen and ibuprofen binding to plaques in the Alzheimers brain using positron emission tomography molecular imaging probe 2-(1-(6-[(2-[18F]fluoroethyl)(methyl)amino]-2-naphthyl)ethylidene)malononitrile. *Neuroscience.* 2003; 117(3): 723-730.
- [16] Volder AG. Functional brain imaging of childhood clinical disorders with PET and SPECT. *Developmental Science.* 2002; 5: 344-360.
- [17] Choi S, Schneider J, Bennett D, Beach T, Bedell B, et al. Correlation of amyloid PET ligand florbetapir F 18 binding with Abeta aggregation and neuritic plaque deposition in postmortem brain tissue. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2012; 26: 8-16.
- [18] Cui M, Tang R, Li Z, Ren H, Liu B. 99mTc- and Re-labeled 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as imaging probes for β -amyloid plaques. *Bioorg Med Chem Letters.* 2011; 21: 1064-1068.
- [19] Ono M, Ikeoka R, Watanabe H, Kimura H, Fuchigami T, et al. 99mTc/Re complexes based on flavone and aurone as SPECT probes for imaging cerebral β -amyloid plaques. *Bioorg Med Chem Letters.* 2010; 20: 5743-5748.

- [20] Ferri, C.P.; Prince, M.; Brayne, C.; Brodaty, H.; Fratiglioni, L.; Ganguli, M. Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: A Delphi consensus study. *Lancet*. 2005; 366: 2112-2117.
- [21] Comprehensive mental health action plan 2013–2020. 2015 http://www.who.int/mental_health/action_plan_2013/
- [22] Anuario Estadístico MINSAP. 2012. <http://www.sld.cu/servicios/estadisticas>.
- [23] Llibre, J.J. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*. 2011; 2(2): 1-18.
- [24] Zhao, W. Q.; Townsend, M. Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta*. 2009; 1792: 482-496.
- [25] Panzhinskiy E1, Hua Y, Lapchak PA, Topchiy E, Lehmann TE, Ren J, Nair S. Novel curcumin derivative CNB-001 mitigates obesity-associated insulin resistance. *J Pharmacol Exp Ther*. 2014; 349(2):248-57.
- [26] Yang, D.S.; Serpell, L.C.; Yip, C.M.; McLaurin, J.; Chrishti, M.A.; Horne, P.; Boudreau, L.; Kisilevsky, R.; Westaway, D.; Fraser, P.E. Assembly of Alzheimer's amyloid-beta fibrils and approaches for therapeutic intervention. *Amyloid*. 2001; 8 Suppl 1: 10-19.
- [27] Frisardi, V.; Solfrizzi, V.; Seripa, D.; Capurso, C.; Santamato, A.; Sancarlo, D.; Vendemiale, G.; Pilotto, A.; Panza, F. Metabolic-cognitive syndrome: a cross-talk between metabolic syndrome and Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev*. 2010; 9: 399-417.
- [28] Breitner, J.C.S.; Welsh, K.A.; Helms, M.J.; Gaskell, P.C.; Gau, B.A.; Roses, A.D. Delayed onset of Alzheimer's disease with nonsteroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. *Neurobiol Aging*. 1995; 16: 523–530.
- [29] Stewart, W.F.; Kawas, C.; Corrada, M.; Metter, E.J. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. *Neurology*. 1997; 48: 626–632.
- [30] Lim, G.P.; Yang, F, Chu T.; Chen, P.; Beech, W.; Teter, B. Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflammation in a mouse model for Alzheimer's disease. *J. Neurosc*. 2001; 20(15): 5709-5714.

- [31] Rogers, J.; Kirby, L.C.; Hempelman, S.R.; Berry, D.L.; McGeer, P.L.; Kaszniak, A.W. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993; 43: 1609-1611.
- [32] Jaturapatporn, D.; Isaac, M.G.; Mc Cleery, J.; Tabet, N. Aspirin, steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Feb 15; 2: CD006378.
- [33] Guo, J.P.; Yu, S.; McGeer, P.L. Simple in vitro assays to identify amyloid-beta aggregation blockers for Alzheimer's disease therapy. *J. Alzheimers Dis*. 2010; 19(4): 1359-70.
- [34] Hubbard, J. L.; Carl III J.M.; Anderson G.D.; Rankin G.O. Synthesis and H NMR spectra of some 1-aryl-2,5-pyrrolidinediones (1). *J. Heter. Chem*. 1992; 29: 719-721.
- [35] Dolzhenko, A.V.; Koz minykh, V.O.; Kolotova, N.V.; Syropyatov, B.Y.; Novoselova, G.N. Substituted amides and hydrazines of dicarboxylic acids. Part 16. Synthesis and antibacterial activity of some amides and acylhydrazides of succinic acid. *Pharm. Chem. J*. 2003; 37(5): 229-231.
- [36] Yuan, J.L. Synthesis, structure and properties of 1-(1-naphthyl)-2,5-pyrrolidinedione. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*. 2002; 22: 259-263.
- [37] Gholap, A. D. Cyclic anhydrides convenient reagents for aromatic primary amines. *Indian J. Chem. Edu*. 1980;7: 26-27.
- [38] Meyer R. Studien über die Ringschliessung. *Liebigs Ann Chem*. 1906; 347: 17-54.
- [39] Koelsch, C. (1955) 6-Bromo-2-naphthol [2-naphthol,6-bromo]. *Organic Synthesis* 3, 132.
- [40] Reddy, G. B. (1999) Process research and structural studies on Nabumetone. *Organic process research and development* 3, 121-125.
- [41] Plietker, B., (Ed.2008) *Iron Catalysis in Organic Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim.
- [42] Fürstner, A. M., R.; Krause, H.; Seidel, G.; Goddard, R.; Lehmann, C.W. (2008) *J. Am. Chem. Soc.* 130, 8773.

- [43] Meijere, A., y Diederich, F., (Eds.2004) Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions, Wiley-VCH, Weinheim.
- [44] Miyaura, N. y Suzuki, A. (1995) Chem. Rev 95, 2457.
- [45] Tsuji, J., (Ed.) (1995) Palladium Reagents and Catalysts, Wiley-VCH.
- [46] A.Forman, y Orgel, L. E. (1959) The Jahn-Teller effect in manganic acetylacetonate. Department of Theoretical Chemistry, University Chemical Laboratory, Lensfield Road, Cambridge.
- [47] Small GW, Cole GM, Barrio JR. In Vitro Detection Of (S) -Naproxen And Ibuprofen Binding To Plaques In The Alzheimer ' S Brain Using The Positron Emission Tomography Molecular Imaging Probe 2- (1- (6- [(2- [18 F] Fluoroethyl) (Methyl) Amino] -2-Naphthyl) Ethylidene). Neuroscience. 2003;117:723–30.
- [48] Di Santo R, Costi R, Cuzzucoli Crucitti G, Pescatori L, Rosi F, Scipione L, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationship of N-arylnaphthylamine derivatives as amyloid aggregation inhibitors. Journal of medicinal chemistry [Internet]. 2012 Oct 11;55(19):8538–48.
- [49] Herrera-Rivero M, Hernández-aguilar ME, Manzo J, Aranda-abreu GE. Enfermedad de Alzheimer : inmunidad y diagnóstico. Revista de Neurología. 2010;51(3):153–64.
- [50] Lührs T, Ritter C, Adrian M, Riek-Loher D, Bohrmann B, Döbeli H, et al. 3D structure of Alzheimer's amyloid-beta(1-42) fibrils. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [Internet]. 2005 Nov 29;102(48):17342–7.
- [51] Kim S, Chang WE, Kumar R, Klimov DK. Naproxen interferes with the assembly of A β oligomers implicated in Alzheimer's disease. Biophysical journal [Internet]. Biophysical Society; 2011 Apr 20;100(8):2024–32.
- [52] Ferrao-Gonzales AD, Robbs BK, Moreau VH, Ferreira A, Juliano L, Valente AP, et al. Controlling -Amyloid Oligomerization by the Use of Naphtalene Sulfonates: Trapping Low Molecular Weight Oligomeric Species. Journal of Biological Chemistry [Internet]. 2005 Jul 22;280(41):34747–54.

- [53] Sharma S, Ding F, Dokholyan N V. Probing protein aggregation using discrete molecular dynamics. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* [Internet]. 2008 Jan;13:4795–808.
- [54] Hetényi C, Szabó Z, Klement E, Datki Z, Körtvélyesi T, Zarándi M, et al. Pentapeptide amides interfere with the aggregation of beta-amyloid peptide of Alzheimer's disease. *Biochemical and biophysical research communications* [Internet]. 2002 Apr 12;292(4):931–6.
- [55] Chen Z, Krause G, Reif B. Structure and orientation of peptide inhibitors bound to beta-amyloid fibrils. *Journal of molecular biology* [Internet]. 2005 Dec 9;354(4):760–76.
- [56] Landau M, Sawaya MR, Faull KF, Laganowsky A, Jiang L, Sievers SA, et al. Towards a pharmacophore for amyloid. *PLoS biology* [Internet]. 2011 Jun;9(6):e1001080.
- [57] Davis IW, Baker D. RosettaLigand docking with full ligand and receptor flexibility. *Journal of molecular biology*. 2009 Jan;385(2):381–92.
- [58] Favrin G, Irba A, Mohanty S. Oligomerization of Amyloid Ab 16 – 22 Peptides Using Hydrogen Bonds and Hydrophobicity Forces. *Biophysical Journal*. 2004;87:3657–64.
- [59] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry* [Internet]. 2010 Jan 30;31(2):455–61.
- [60] Sablón Carrazana M, Rodríguez-Tanty C, Perera Pintado A, Rivera Marrero S, Perez Perera R, López Barroso RM, et al. Method for obtaining novel derivatives of naphthalene for the in vivo diagnosis of alzheimer 's disease. *Patente cubana concedida 2009-0057*..
- [61] Juárez, J.; Taboada, P.; Mosquera, V. Existence of different structural intermediates on the fibrillation pathway of human serum albumin. *Biophys. J*. 2009; 96: 2353-70.
- [62] Sen, P.; Fatima, S.; Ahmad, B.; Khan, R.H. Interactions of thioflavin T with serum albumins: spectroscopic analyses. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc*. 2009; 74: 94-99.

- [63] Yang, F.; Lim, G.P.; Begum, A.N.; Ubeda, O.J.; Simmons, M.R.; Ambegaokar, S.S.; Chen, P.P.; Kaye, R.; Glabe, C.G.; Frautsch, S.A.; Cole, G.M. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(7): 5892-901.
- [64] Moran, J.; Itoh, T.; Reddy, U. R.; Chen, M.; Alnemri, E. S.; Pleasure, D. Caspase-3 expression by cerebellar granule neurons is regulated by calcium and cyclic AMP. *J. Neurochem.* 1999; 73: 568-577.
- [65] Moran, J.; Patel, A.J. Effect of potassium depolarization on phosphate-activated glutaminase activity in primary cultures of cerebellar granule neurons and astroglial cells during development. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1989; 46: 97-105.
- [66] Bhattacharya, B.; Nakka, S.; Guruprasad, L.; Samanta, A. Interaction of bovine serum albumin with dipolar molecules: fluorescence and molecular docking studies. *J. Phys. Chem. B.* 2009;113(7): 2143-50.
- [67] .Smith, M.D.; March, J. *Advanced Organic Chemistry*. 5th ed.; 389-674. 2001. New York, Wiley-Interscience. Ref Type: Serial (Book, Monograph).
- [68] Holm, N.K.; Jespersen, S.K.; Thomassen, L.V.; Wolff, T.Y.; Sehgal, P.; Thomsen, L. A.; Christiansen, G.; Andersen, C.B.; Knudsen, A.D.; Otzen, D.E. Aggregation and fibrillation of bovine serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1774: 1128-1138.
- [69] Hom, R.K.; Katzanellenbogen, J.A. Tc-99m-labeled receptor-specific small-molecule radiopharmaceuticals-recent developments and encouraging results. *Nuclear Med. Biol.* 1997; 24(6): 485-498.
- [70] Chang KW, Chem CC, Lee SY, Wang HE. Acute toxicity of two Alzheimer's disease radiopharmaceuticals: FDDNP and IMPY. *Drug Chem Toxicol.* 2009; 32: 429-437.
- [71] Cui MC, Li ZJ, Tang RK, Liu BL. Synthesis and evaluation of novel benzothiazole derivatives based on the bithiophene structure as potential radiotracers for β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem.* 2010; 18: 2777-2784.

- [72] Cui M, Ono M, Kimura H, Kiu BL, Saji H. Synthesis and biological evaluation of indole-chalcone derivatives as β -amyloid imaging probe. *Bioorg Med Chem Letters*. 2011; 21: 980-982.
- [73] <http://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/loop/>
- [74] Garcia-Alloza, M., E. M. Robbins, S. X. Zhang-Nunes, S. M. Purcell, R. A. Betensky, S. Raju, C. Prada, S. M. Greenberg, B. J. Bacskai and M. P. Frosch (2006). Characterization of amyloid deposition in the APPs-we/PS1dE9 mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiology of Disease* 24(3): 516-524
- [75] Maeda, J., B. Ji, T. Irie, T. Tomiyama, M. Maruyama, T. Okauchi, M. Staufenbiel, N. Iwata, M. Ono, T. C. Saido, K. Suzuki, H. Mori, M. Higuchi and T. Suhara (2007). "Longitudinal, quantitative assessment of amyloid, neuroinflammation, and anti-amyloid treatment in a living mouse model of Alzheimer's disease enabled by positron emission tomography." *Journal of Neuroscience* 27(41): 10957-10968