

EVALUACION *IN SILICO* DE LA VIABILIDAD TERAPÉUTICA DE LOS METABOLITOS
DE LA GENISTEÍNA COMO POTENCIALES MODULADORES DE LA ENFERMEDAD
DE ALZHEIMER



VICTOR FERNANDO ARCOS ANGULO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2023

EVALUACION *IN SILICO* DE LA VIABILIDAD TERAPÉUTICA DE LOS METABOLITOS
DE LA GENISTEÍNA COMO POTENCIALES MODULADORES DE LA ENFERMEDAD
DE ALZHEIMER

Trabajo de Grado para optar al título de Biólogo

VICTOR FERNANDO ARCOS ANGULO

Director

WILLIAN ORLANDO CASTILLO ORDONEZ. Ph.D

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2023

Nota de aceptación

Director : _____
William Orlando Castillo Ordoñez. PhD

Jurado: _____
MSc. Mayra Alejandra Velasco Reyes

Jurado: _____
Jose Beltran Vidal. PhD

Lugar y fecha de sustentación: Popayán, 17 de Agosto de 2023

CONTENIDO	Pag
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABLAS.....	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA.....	8
AGRADECIMIENTOS	9
Resumen.....	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS	17
4.1. OBJETIVO GENERAL	17
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
5. MARCO TEÓRICO	18
5.1 Enfermedad de Alzheimer	18
5.1.1. Etiología de la Enfermedad de Alzheimer	18
5.1.2. Patología de la Enfermedad de Alzheimer	19
5.2 Terapia de reemplazo hormonal	19
5.2.1 Fitoestrógenos	19
5.3 Barrera hematoencefálica.....	20
5.3.1. Difusión pasiva.....	21
5.3.2. Transporte mediado por proteínas transportadoras	21
5.3.3. Transcitosis mediada por receptores	22
5.3.4. Transportadores ABC.....	22
5.4 Glicoproteína P	22
5.5 Estudios in silico para actividad farmacológica	22
6. ANTECEDENTES	23
7. METODOLOGÍA	27
7.1 TIPO DE ESTUDIO: <i>In silico</i>	27
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
8.1 METABOLISMO DE LA GENISTEÍNA.....	29
8.2. BIODISPONIBILIDAD ORAL DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.....	33
8.2.1. Tamaño o peso molecular (MW)	35

8.2.2. Flexibilidad	35
8.2.3. Solubilidad (logS)	35
8.2.4. Saturación (fracción Csp3).....	36
8.2.5. Polaridad	36
8.3. FARMACOCINÉTICA.	37
8.4. CARACTERÍSTICAS DRUGLIKENESS (SEMEJANZA CON FÁRMACOS).	41
8.5. TOXICIDAD.	42
8.6. INTERACCIÓN CON RECEPTORES ANDROGÉNICOS Y ESTROGÉNICOS. .	43
8.7. COMPORTAMIENTO CARDIOTÓXICO Y SU INTERACCIÓN CON LA PROTEÍNA HERG.	44
9. CONCLUSIONES	46
10. RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS.....	48

LISTA DE FIGURAS

	Pag
Figura 1. Formula estructural de los metabolitos de la genisteína. Tomado de del banco de estructuras químicas PubChem.	32
Figura 2. Radar de biodisponibilidad	34
Figura 3. diagrama BOILED-Egg.....	40

Tabla 1. Metabolitos de la genisteína resultado de su biotransformación en humanos y en ratones.	32
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los metabolitos de la genisteína.	33
Tabla 3. Evaluación de lipofilicidad de los metabolitos de la genisteína.	37
Tabla 4. Propiedades farmacocinéticas de los metabolitos de la genisteína.	38
Tabla 5. Druglikeness de los metabolitos de la genisteína.	41
Tabla 6. Predicción de toxicidad de los metabolitos de la genisteína.	42
Tabla 7. Interacción de los metabolitos de la genisteína con receptores androgénicos y estrogénicos.	43
Tabla 8. Comportamiento cardiotoxico e interacción con la proteína hERG	45

DEDICATORIA

A las dos personas más importantes de mi vida, mis hijos Juan José y Paulina, a quienes quiero servir de ejemplo para que logren todo lo que se propongan en la vida y siempre persigan lo que les apasione.

A mis hermanas Karol y Leidy por todo el apoyo y amor que me brindan y para quienes siempre serán mi ejemplo a seguir

A mi tía María Arcos (Marucha), por el amor, la bondad y su alegría.

Y por supuesto para mi amor y compañera de vida, Montserrat, por haberme acompañado y amado durante todo este proceso y con quien quiero seguir creciendo y construyendo un lindo hogar.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por brindarme la oportunidad de vivir esta bella experiencia de vida.

Quiero agradecer a todos los profesores que, durante todo mi recorrido académico, desde la escuela hasta la universidad transmitieron tantas enseñanzas que hicieron que amara esta bella profesión y viera en la educación una forma de eliminar brechas de pobreza.

Quiero agradecer a mi familia, a todos y cada uno que me brindaron su apoyo, cariño y amor. A mis padres Fidencio Arcos y Berly Angulo por darme la vida y de alguna u otra manera haber forjado la persona que soy el día de hoy. A mi tía María Arcos por haberme recibido en su casa siendo aun un niño, echándose una responsabilidad más en su vida y brindarme tanto amor y bondad. A mi hermana Karol Ibáñez a quien siempre he visto como mi imagen materna desde que tengo memoria, por amarme cuidarse y siempre estar ahí para mí, nunca dejarme solo y ser mi ejemplo de perseverancia, tenacidad y pujanza, espero algún día poderte retribuir todo lo que haces por mí. A mi hermana Leidy Ibáñez por su amor, entrega y quien siempre me guio por el camino correcto, es a quien le debo ser una persona honesta y bondadosa. A el amor de mi vida Montserrat Coral, por tanto, amor y apoyo durante este largo camino, por salvarme de muchas maneras y por supuesto por dame el mayor regalo de vida que son mis hijos. Te amo y espero seguir creciendo a tu lado. Y por su puesto quiero agradecer a mis hijos Juan José y Paulina para quienes quiero ser un ejemplo que impulse en ellos el amor por la formación académica y la ciencia.

Agradezco al profesor William Orlando Castillo. PhD por haberme orientado durante el tiempo de desarrollo de este proyecto, por asesorarme en su tiempo de descanso para que no se cruzara con mi horario laboral, por haberme motivado a aportar en el conocimiento y búsqueda de soluciones frente a esta compleja enfermedad.

Agradezco a la Universidad del Cauca, quien fue mi hogar durante este largo tiempo y donde viví tantas experiencias de vida que me confortaron y me convierte en el profesional en que soy el día de hoy, al programa de Biología por proporcionarme a mí y a todos mis compañeros el amor por la ciencia y todas las formas de vida.

Agradezco a mi amiga Gabriela Lara, quien fue parte importante en la construcción de este documento, por sus palabras de motivación y quien me demostró que un amigo siempre esta de manera incondicional sin importar que pasen meses sin hablar.

Y por supuesto agradezco a todas las personas que se cruzaron en mi camino durante este proceso de formación y espero también haber aportado a su vida cosas positivas.

RESUMEN

Considerando que la enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las demencias con mayor prevalencia en la población anciana, para la cual los tratamientos disponibles son paliativos y que se presenta con mayor incidencia en mujeres que en hombres; algunos estudios sugieren que esta condición puede deberse a la carencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas; sin embargo, se ha encontrado que la terapia de reemplazo hormonal con fitoestrógenos actúa como un neuroprotector frente a la demencia tipo Alzheimer; entre los fitoestrógenos, compuestos como la genisteína han mostrado efectos promisorios de neuroprotección; pero, los mecanismos de protección frente a la EA no son claros. Existe controversia, si la genisteína es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica o no. Teniendo en cuenta lo anterior se evaluó *in silico* si los mecanismos de neuroprotección de la genisteína están asociados a metabolitos generados durante los procesos de biotransformación, por lo cual, utilizando herramientas de bioinformática se describió el comportamiento biológico y fisicoquímico de siete metabolitos generados en el proceso biotransformación de la genisteína (p-etilfenol, 6- hidroxigenisteína, 8- hidroxigenisteína, 3'- hidroxigenisteína, dihidrogenisteína, 5-hidroxi-equol, 6'-hidroxi O demetilangolensina), además utilizar los fármacos tacrina y galantamina como control. A partir de lo anterior se encontró que p-etilfenol y 5-hidroxi-equol presentan una mayor biodisponibilidad oral, con capacidad de atravesar la BHE, destacándose p-etilfenol al no ser sustrato de P-gp indicando su posible neuroprotección.

Palabras claves: Enfermedad de Alzheimer, estrógenos, fitoestrógenos, genisteína, *in silico*.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta principalmente a los adultos mayores (Cervantes, Alvarado et al. 2017, Vázquez 2020). Es considerada la principal causa de demencia y se caracteriza por el deterioro gradual de las funciones cognitivas, perceptivas, lingüísticas y emocionales (Vasconcelos 1990). La EA se ha convertido en un desafío para la medicina moderna (Castillo, Peña et al. 2015). Actualmente, los tratamientos disponibles son paliativos y se centran en aliviar los síntomas de la enfermedad (Ovares, Parra et al. 2021).

la EA es más prevalente en mujeres que en hombres (Matthews, Arthur et al. 2013, Ferreira 2020), entre las posibles causas podría estar la reducción de estrógenos en mujeres después de la menopausia (Moreno 2021) y se ha evidenciado que la terapia de reemplazo hormonal (TRH) ha mostrado beneficios para la salud (Espitia 2021).

La terapia de reemplazo hormonal (TRH) se ha utilizado para controlar los síntomas de la menopausia, esta técnica consiste en administrar pequeñas dosis de estrógenos y progestinas para controlar los síntomas de la menopausia (Edey, Rundle et al. 2018). Sin embargo, el uso de estrógenos sintéticos se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer en mujeres ya que los estrógenos desencadenan la proliferación celular, lo que puede generar errores genómicos en tejidos como el mamario, el ovario y el endometrio (Cendales, Silva 2011). Para abordar este problema, se ha propuesto el uso de fitoestrógenos, como alternativa a los estrógenos sintéticos.

Los fitoestrógenos, como las isoflavonas presentes en la soja, tienen una estructura similar a los estrógenos humanos (Sirotkin, Alwasel et al. 2021) y han demostrado efectos beneficiosos en la salud, como la reducción del estrés oxidativo y la mejora de los síntomas menopáusicos. Entre ellos, la genisteína se ha destacado por su selectividad hacia los receptores estrogénicos beta (RE β) y su menor incidencia de efectos secundarios carcinogénicos; además, se ha sugerido que podría tener propiedades neuroprotectoras frente a la EA (Abreu, Armas et al. 2018). Sin embargo, hay controversia sobre si la genisteína atraviesa la barrera hematoencefálica y cuál es su actividad biológica en la neurodegeneración (Roqué, Arnau et al. 2018, Castillo, Palomino et al. 2020) por lo que se plantea la hipótesis de que sus metabolitos generados durante los procesos de biotransformación podrían estar asociados a sus mecanismos de neuroprotección.

Teniendo en cuenta lo anterior este estudio se basa en la evaluación *in silico* de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de los metabolitos de la genisteína. En el cual se describen las vías biológicas asociadas al metabolismo de la genisteína en humanos y se analiza las propiedades ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) de cada metabolito. Además, de identificar los principales descriptores de viabilidad terapéutica para estos.

La metodología utilizada se basa en un enfoque *in silico*, utilizando herramientas computacionales y bases de datos químicas públicas y gratuitas, que permitió a obtención de siete metabolitos de la genisteína (p-etilfenol, 6- hidroxigenisteína, 8- hidroxigenisteína, 3'- hidroxigenisteína, dihidrogenisteína, 5-hidroxi-equol, 6'-hidroxi O demetilangolensina) a partir de una revisión bibliográfica sobre sus vías metabólicas. Seguidamente, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de estos metabolitos utilizando el software SwissADME, que calcula diferentes descriptores como peso molecular, refractividad molecular, tipos de átomos específicos y área topológica de superficie polar.

Además, se presenta un análisis ADME para estimar parámetros como la absorción gastrointestinal, la capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y la interacción con enzimas del citocromo P450 y aplicando filtros farmacéuticos se evaluaron parámetros de genotoxicidad, citotoxicidad, mutagenotoxicidad, carcinogenicidad, inmunotoxicidad e interacción con receptores estrogénicos y androgénicos. Por último, se utilizó el servidor Pred-hERG para predecir el comportamiento cardiotoxico de los metabolitos y su interacción con la proteína hERG.

Con base a lo anterior se observa y concluye que los metabolitos p-etilfenol y 5-hidroxi-equol presentan una mejor biodisponibilidad oral y capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica. Además, se observó que p-etilfenol muestra características fisicoquímicas favorables y no presenta violaciones a las reglas de Lipinski, lo que lo hace un candidato potencial para el desarrollo de fármacos. Sin embargo, es necesario profundizar en análisis que permitan comprobar su carácter de neuroprotección.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad de Alzheimer (EA) es considerada la principal causa de demencia en adultos mayores (Cervantes, Alvarado et al. 2017, Vázquez 2020); se trata de una enfermedad neurodegenerativa progresiva, donde el paciente empeora de forma gradual, siendo notable las falencias de orden perceptivos, de lenguaje y emocionales;

las cuales aumentan conforme la enfermedad avanza (Vasconcelos 1990). El origen de la enfermedad es multifactorial y los procesos patológicos, físicos y químicos son complejos, reportándose un caso nuevo a cada siete segundos (Ferri, Prince et al. 2005). Conforme la población humana alcanza una mayor expectativa de vida, la EA se convierte en un reto de la medicina moderna (Castillo, Peña 2015).

La esperanza de vida de una persona diagnosticada con EA puede variar entre 3 a 10 años, la cual se puede reducir si el paciente supera los 70 años o presenta algún tipo de limitación a nivel cognitivo y funcional (Zanetti, Solerte et al. 2009, Martínez, Rivera et al. 2021). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la EA se encuentra entre las 10 principales causas de muerte en todo el mundo (Falcón 2020). Además, ocasiona el 30% de las muertes en hombres mayores de 85 años y 50% en mujeres de esa misma edad (Jiménez, Martínez 2017, James, Bennett 2019).

La EA es una patología compleja, por lo cual, hasta el momento, los tratamientos disponibles son paliativos (Ovares, Parra et al. 2021, Schwartz, Barrocas et al. 2021). Actualmente existen dos grupos de fármacos aprobados como tratamiento para la EA, el antagonista de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) conocido como memantina, y los inhibidores de la acetilcolinesterasa (ACHEI) como tacrina, donepezil, rivastigmina y galantamina (García Gutiérrez 2021) y más recientemente el aducanumab (Fillit and Green 2021), los cuales han sido aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) (Peralta 2021); sin embargo, los efectos adversos que presentan estos fármacos en pacientes con EA limitan su efectividad, debido a que se tiene que ajustar la dosis hasta su máxima tolerancia, ocasionando así efectos secundarios como trastornos gastrointestinales, alteraciones hepáticas, insomnio, síncope y bradicardia (Bautista 2020, Arrechea, Uriguen et al. 2021, Nguyen, Abraham et al. 2021).

Diversos estudios han determinado que la EA es más prevalente en mujeres que en hombres (Matthews, Arthur et al. 2013, Ferreiro Pantín 2020, Gil Luque 2020), lo que puede deberse en gran medida a que las mujeres presentan mayor esperanza de vida (Haeblerer, Noguer et al. 2015, Bravo, Ayuso et al. 2021, Lluesma, Ruiz et al. 2021), otra posible causa podría ser la reducción de estrógenos en mujeres después de la menopausia (Martínez, Rivera et al. 2021, Moreno 2021); una vez que los estrógenos ejercen efectos genómicos pleiotrópicos en el sistema nervioso central, los cuales influyen en acciones neurotróficas en zonas fundamentales de la cognición y la memoria, encontrándose niveles de estrógenos más bajos en mujeres con EA, en comparación con aquellas que no padecen la enfermedad (Martínez, Rivera et al. 2021).

Considerando lo anterior, el estudio dio respuesta a la pregunta de investigación. ¿Una vez que la genisteína es incapaz de atravesar la barrera hematoencefálica, sus mecanismos de neuroprotección estarán asociados a metabolitos generados durante los procesos de biotransformación? Y si es así, entonces, ¿cómo es el comportamiento biológico y fisicoquímico de cada uno de estos metabolitos?

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el ser humano ha logrado aumentar su esperanza de vida, en parte, gracias a los diferentes tratamientos farmacológicos frente a diversas enfermedades; sin embargo, no se puede desconocer que el envejecimiento tiende a ser factor de riesgo para el deterioro cognitivo, llevando paulatinamente a la pérdida de funciones físicas y mentales (Holmager, Thygesen et al. 2021, Niedermaier, Gredner et al. 2021).

La EA es una de las demencias con mayor prevalencia en la población anciana, con mayor incidencia en mujeres que en hombres (Donoso 2003, Orozco, Ortiz et al. 2018), algunos estudios sugieren que esta condición puede deberse a la carencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas (Ghanbari, Akhlaghi 2018, Uddin, Rahman et al. 2020, Zhou, Wu et al. 2020); no obstante, la terapia de reemplazo hormonal (TRH) para tratar los síntomas propios de esta alteración ha mostrado beneficios para la salud, reduciendo enfermedades como las cardiovasculares, hepáticas y depresión; además, muestra resultados positivos al prevenir efectos asociados a la EA (Espitia 2021, Langer, Hodis et al. 2021, Ragaz, Shakeraneh et al. 2021); no obstante, la discusión sobre los beneficios de la terapia hormonal aun es controversial.

La TRH consiste en administrar pequeñas dosis de estrógenos y progestinas para controlar la sintomatología propia de la menopausia (Peralta 2006, Pinkerton 2020) y, aunque este tipo de abordajes terapéuticos ha mostrado reducir los efectos de la EA (Salas 2016), el uso de estrógenos de origen sintético puede estar asociado a la proliferación de distintos tipos de cáncer en la mujer (Cóppola, Nader et al. 2005, Salas 2016); una vez que los estrógenos actúan uniéndose a sus receptores estrogénicos alfa y beta ($RE\alpha$ y $RE\beta$), induciendo un efecto transcripcional, el cual sigue una vía conocida como elemento de respuesta estrogénica (ERE) (Salas 2016). El riesgo asociado a cáncer se debe a que los estrógenos desencadenan una mayor proliferación celular, lo cual puede generar errores en la replicación genómica, principalmente en tejidos con alta capacidad proliferativa como tejido mamario, ovario y endometrio (Cendales, Silva 2011). Receptores estrogénicos como los alfa ($RE\alpha$) presentan una mayor expresión en

el útero, mama y riñón; mientras que, la beta ($RE\beta$) lo hacen en tejido nervioso como cerebro e hipófisis (Cendales, Silva 2011).

Considerando lo anterior, se ha propuesto como alternativa el uso de estrógenos de origen vegetal o fitoestrógenos (Goyal, Gupta et al. 2021), estos han demostrado producir una proliferación controlada en las células mamarias y pre cancerígenas, además, de un efecto antioxidante y a su vez, se ha determinado que no existe estimulación de la actividad endotelial del Óxido Nítrico con propiedades antitrombóticas y anti escleróticas (Díaz, Munévar 2009). En mujeres menopáusicas, tienen actividad frente a los síntomas vasomotores y oleadas de calor, al actuar en la reducción de la temperatura corporal central como agonistas estrogénicos en el centro termorregulador del hipotálamo (Cendales, Silva 2011); adicionalmente, se ha reportado que los fitoestrógenos presentan mayor interacción con los $RE\beta$ que con los $RE\alpha$ (Díaz, Méndez et al. 2020, Chávez, Ceballos et al. 2021, Martínez Díaz 2021).

Actualmente, el potencial terapéutico de las diferentes especies de flora es valorado por toda la comunidad científica, por lo cual se ha realizado múltiples tratamientos para combatir enfermedades como cáncer, Parkinson y VIH (Campos Bortolucci, Trettel et al. 2020, Feitoza, de Souza Terra et al. 2021). Los fitoquímicos provenientes de las plantas proveen efectos benéficos para la salud humana al reducir la probabilidad de padecer enfermedades crónicas como el cáncer o a su vez ayudar a mitigar los efectos de estas (Chacín, Acuña et al. 2013, Villacres, Segovia et al. 2020). Un ejemplo son los carotenoides, flavonoides e indoles que reducen el estrés oxidativo, factor determinante en la etiología de múltiples enfermedades (Waliszewski, Blasco 2010, Maguiña Alfaro, Suárez et al. 2021).

Los fitoestrógenos se definen como cualquier sustancia de origen vegetal o metabolito que induce la respuesta biológica en vertebrados y puede imitar la acción de los estrógenos (Davis, Dalais et al. 1999, Carranza 2021). Además, han demostrado sus beneficios frente a las alteraciones de neurotransmisores lo que se expresa en una mejoría notable en los cambios emocionales (Zárate, Hernández et al. 2014). Entre los fitoestrógenos más estudiados están las isoflavonas como la genisteína y daidzeína; las cuales derivan principalmente de la soja (Frigo, de Barros et al. 2021, Gupta, Chen et al. 2021). Estas fitohormonas presentan una alta similitud estructural con los estrógenos humanos, lo que las convierte en estrategias atractivas para los investigadores, destacándose por ser una alternativa importante en el tratamiento de reemplazo hormonal posmenopausia (Ludueña, Mastandrea et al. 2007, Sirotkin, Alwasel et al. 2021).

La genisteína como fitoestrógeno ha demostrado mayor selectividad por el RE β y poca regulación mediada por los RE α (Bonilla 2004, Martínez Díaz 2021), lo que se traduce en menor incidencia de efectos secundarios asociados a proliferación carcinogénica (Perez, Salazar et al. 2005). Considerando lo anterior, resulta una alternativa importante en el tratamiento de reemplazo hormonal posmenopausia (Ludueña, Mastandrea et al. 2007, Sirotkin, Alwasel et al. 2021), inclusive para aquellas mujeres con predisposición para cáncer. Adicionalmente, por estimular los RE β se han planteado hipótesis como reguladores de la neurodegeneración y, por tanto, podría tener efecto protector frente a la EA (Abreu, Armas et al. 2018); sin embargo, aún existe controversia respecto si la genisteína alcanza o no la barrera hematoencefálica; y a la vez, si es sustrato o no de la glicoproteína P (P-gp) (Ludueña, Mastandrea et al. 2007, Hassumi 2021). Algunos investigadores han reportado que la genisteína atraviesa la barrera hematoencefálica (Roqué, Solà et al. 2018, Chávez, Ceballos, Ramírez et al. 2021); sin embargo, estudios recientes *in silico* señalan incapacidad de la fitohormona para hacerlo (Castillo, Palomino et al. 2020); por lo tanto, existe un vacío acerca de cómo la genisteína ejerce actividad biológica como reguladora de la neurodegeneración. Frente a esta ambigüedad, se ha planteado que posiblemente los mecanismos de neuroprotección ejercidos por la genisteína están dados por sus metabolitos.

Actualmente, uno de los enfoques que ha ayudado a los investigadores a determinar vías metabólicas y posibles efectos secundarios de diferentes compuestos o moléculas con potencial farmacéutico son los análisis *in silico*, los cuales vienen siendo utilizados con éxito para identificar y diseñar nuevos fármacos con afinidad hacia una diana (López, Santos et al. 2017, Herrera 2021). Esta metodología de estudio está basada en la aplicación y análisis a través de herramientas de bioinformática utilizando diferentes softwares, lo que permite disminuir costos, tiempo y a la vez, hacer una proyección de hacia dónde puede ir guiada la investigación; al mismo tiempo, permite una reducción en el uso de animales como modelos biológicos, favoreciendo así el desarrollo de fármacos en un menor tiempo y otorgando mayor eficacia a los resultados obtenidos (Saldívar, Prieto et al. 2017, Cabanillas, Risco et al. 2021, Pacheco Capcha, 2021). La investigación y desarrollo de fármacos a través de las vías tradicionales requiere analizar por separado efectos y parámetros como los ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción); sin embargo, los abordajes *in silico* facilitan evaluar computacionalmente cada uno de estos eventos toxicodinámicos; de esta manera, los modelos bioinformáticos son una alternativa válida en el desarrollo de fármacos y actúan como complemento a los ensayos *in vitro* e *in vivo* (López, Santos et al. 2017, Ramirez Reyes 2019). Su aplicación cobra importancia especialmente en la parte inicial de los estudios, cuando se investiga numerosas estructuras químicas con escasa disponibilidad e información sobre su comportamiento biológico, disminuyendo así la fracción de fracaso relacionado con la farmacocinética en las fases clínicas (Hay, Thomas et al. 2014, Wang, Xing et al. 2015, Daina, Michielin et al. 2017, Ramirez Reyes 2019, Pacheco Capcha 2021).

Un factor clave para impulsar esta práctica de investigación a través de los abordajes *in silico* fue la formulación de la iniciativa “Toxicología en el Siglo XXI (Tox 21)” la cual fue lanzada en el 2008 en Estados Unidos y cuyo objetivo fue el desarrollo de métodos más rápidos y efectivos para la evaluación a gran escala de la toxicidad, para identificar sustancias químicas que podrían potencialmente apuntar a diversas vías biológicas dentro del cuerpo humano, priorizando la implementación de productos químicos para la investigación de sus efectos tóxicos, construir progresivamente modelos de toxicidad y desarrollar ensayos que midan la respuesta biológica hacia estos productos químicos (Schmidt 2009, Banerjee, Siramshetty et al. 2016).

Teniendo en cuenta lo anterior con este estudio se logró evaluar *in silico* la viabilidad terapéutica de los metabolitos de la genisteína como posibles moduladores de la enfermedad de Alzheimer, describiendo las vías biológicas asociadas a su metabolismo en humanos, analizando *in silico* las propiedades ADME de los metabolitos de la genisteína e Identificando los principales descriptores de viabilidad terapéutica de los metabolitos.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar *in silico* la viabilidad terapéutica de los metabolitos de la genisteína como posibles moduladores de la enfermedad de Alzheimer.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir las vías biológicas asociadas al metabolismo de la genisteína en humanos.
- Analizar *in silico* las propiedades ADME de los metabolitos de la genisteína.
- Identificar los principales descriptores de viabilidad terapéutica de los metabolitos de la genisteína.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La demencia tipo Alzheimer es una enfermedad progresiva que generalmente se manifiesta con pérdida de memoria en sus estadios más tempranos (Tomaru, Ito et al. 2021). El paciente muestra un deterioro progresivo de orden perceptivo, de lenguaje y emocional (López 2021, Vasconcelos, Oliveira et al. 2021). La EA genera un fuerte impacto en la sociedad mundial debido a que hasta el momento no existe un tratamiento que logre revertir en su totalidad sus efectos (Miró Fuentes 2021). Además, es catalogada como el tipo de demencia más frecuente en la población anciana (Martínez, Rivera et al. 2021, Salas 2021). La etiología de la enfermedad es desconocida y según el rango de edad en el que aparece se puede clasificar como precoz si se presenta antes de los 65 años o en tardía si se presenta después de los 65 años de edad. Además, se puede catalogar como enfermedad de Alzheimer de origen familiar, si existe historial de esta demencia en la familia o en esporádica si no existe (Romano, Nissen et al. 2007).

5.1.1. Etiología de la Enfermedad de Alzheimer. La etiología de la enfermedad es desconocida, se cree que se produce por una combinación entre susceptibilidad genética y exposición a factores ambientales y epigenéticos (Galende, Ortiz et al. 2017, Serna, Osorio et al 2020), dándose una interacción entre factores de riesgo y factores protectores en un periodo prolongado de tiempo que genera un efecto diferente según la carga genética (Sperling, Aisen et al. 2011).

El 5% de los casos de la EA se presentan debido a antecedentes familiares y el 90% se dan esporádicamente, siendo la edad el principal factor de riesgo; sin embargo, para algunos autores los datos de antecedentes familiares son controversiales y para otros, solo aumentaría escasamente el riesgo (Qiu, De Ronchi et al. 2007, Fontán 2012, Serna, Osorio et al 2020). Por otra parte, estudios epidemiológicos han demostrado la existencia de otros factores de riesgo como bajo nivel de escolaridad, presencia del alelo *Apo4* de la lipoproteína E (ApoE) y el sexo femenino (Sperling, Aisen et al. 2011).

Los estudios sobre la EA no solo han establecido los factores de riesgo sino también los factores protectores, principalmente los asociados al control de factores de riesgo vascular como la hipertensión arterial (HTA), diabetes y al estilo de vida como ejercicio, interacción social, actividad intelectual novedosa y una alimentación mediterránea. Así

se ha establecido que el uso de algunos medicamentos como estatinas, antiinflamatorios no esteroideos, estrógenos (en mujeres post-menopáusicas) actúan como factor protector para el desarrollo de EA; sin embargo, no se han podido replicar los resultados en ensayos clínicos controlados (Qiu, De Ronchi et al. 2007, Fontán 2012).

5.1.2. Patología de la Enfermedad de Alzheimer. Existen dos lesiones neuropatológicas que definen el diagnóstico de la EA, el primero de ellos es el depósito del péptido amiloide 42 ($A\beta_{(42)}$), la segunda lesión corresponde a la formación de ovillos neurofibrilares asociados a la fosforilación de la proteína Tau Martínez, Rivera et al. 2021). El depósito de $A\beta_{(42)}$, se caracteriza por la formación extracelular de placas amiloides (o placas seniles). El amiloide se genera por un clivaje anormal de una proteína integral la Proteína Precursora de Amiloide (APP) (de Lange, Barth et al. 2020). Respecto a los ovillos neurofibrilares estos se forman por la hiperfosforilación de la proteína Tau, formando filamentos helicoidales pareados asociados a la ubiquitina, reflejando así la destrucción de microtúbulos y neurofilamentos, generando posteriormente la muerte neuronal (Trullen 2007).

Por otra parte, la disminución de la acetilcolina cortical es el punto de partida del compromiso neuropatológico precoz en el Núcleo Basal de Meynert, el cual es la principal fuente de acetilcolina y se ubica entre los pedúnculos cerebrales. Este hecho fisiopatológico da el sustento racional para el uso de inhibidores de la acetilcolinesterasa, enzima central como tratamiento (Fontán 2012, Vargas, Casales 2021).

5.2 TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL

La TRH hace referencia a la administración de hormonas sintéticas como estrona, estradiol, estrógenos conjugados quinos y tibolona o compuestos naturales como fitoestrógenos con el fin de complementar los niveles de estrógenos circulantes en mujeres quienes por su estado fisiológico de déficit de la función ovárica conlleva a una disminución estrogénica sintomática, característico del periodo de la menopausia (Cendales, Silva 2011, Edey, Rundle et al. 2018, de Jonge, de Kroon et al. 2021).

5.2.1 Fitoestrógenos. Los fitoestrógenos son compuestos no esteroides de origen vegetal, biológicamente activos, con diversas funciones en las plantas, tienen actividad bactericida, quelante de metales, protectores de la radiación ultravioleta y moduladores del crecimiento y la diferenciación. Su nombre deriva de la capacidad para ejercer

actividad estrogénica en los animales y seres humanos (Sandoval, Cepeda et al. 2020). La principal fuente de fitoestrógenos son las leguminosas, entre las que se destaca la soja. La concentración de estos compuestos en los vegetales depende de la ubicación geográfica, las condiciones del cultivo y la época de la cosecha (Fukutake, Takahashi et al. 1996).

La clasificación de los fitoestrógenos está relacionada con su estructura química, encontrándose fitoestrógenos de tipo flavonoide, lignanos y derivados del resorcinol (Sandoval, Cepeda et al. 2020). Dentro de los flavonoides, se encuentran las isoflavonas, destacándose la genisteína y daidzeína, las cuales corresponden a los fitoestrógenos con mayor bioactividad (Anselmo, Barrios et al. 2021). Estos fitoestrógenos, se ingieren en forma de glucósidos y se hidrolizan por acción de la enzima glucosa pirofosforilasa (UDP) producida por bacterias del tracto intestinal, generando así las agliconas las cuales se absorben rápidamente, favoreciendo su conjugación en el hígado, distribución sistémica y excreción especialmente a través de la orina y en menor medida en heces (Sandoval, Cepeda et al. 2020, Vázquez 2020).

El estrógeno humano 17 β -estradiol y las isoflavonas son compuestos análogos, por lo que los fitoestrógenos tienen la capacidad de unirse a los receptores de estrógenos e inducir acciones estrogénicas a través de vías genómicas y no genómicas (Gencel, Benjamin et al. 2012, Alvarado, Erazo 2020). Además, algunos autores han encontrado que los tres tipos de receptores de estrógenos, es decir, los citosólicos nucleares (RE α y RE β) y los acoplados a la proteína G (GPR30) participan en la acción biológica de los fitoestrógenos, estos últimos, actúan como moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM) generando respuestas antagonistas o agonistas estrogénicas. La respuesta agonista estrogénica parece depender de la distribución tisular de los diferentes tipos de receptores estrogénicos, la afinidad por los receptores, las vías de señalización y los correguladores de la expresión génica reclutados intracelularmente; sin embargo, la concentración de un mismo fitoestrógeno en el medio extracelular puede inducir acciones biológicas opuestas (Sanin, Gómez et al. 2010, Siow, Mann 2010).

5.3 BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

A nivel cerebral la barrera entre sangre-líquido cefalorraquídeo, denominada barrera hematoencefálica (BHE) y la barrera entre líquido cefalorraquídeo-sangre, corresponden a las estructuras encargadas de proteger a las neuronas de sustancias circulantes en el torrente sanguíneo, de ayudar a mantener la homeostasis y a aportar el medio necesario para el funcionamiento neuronal (Bernacki, Dobrowolska et al.

2008). De estas barreras, la BHE se caracteriza por presentar la mayor superficie, cuenta con aproximadamente 600 km de longitud y una superficie de 20m², formando un entramado capilar denso a través del parénquima (Reichel 2009, Domínguez, Álvarez et al. 2014). La BHE se encarga de mantener la homeostasis en el microambiente del Sistema Nervioso Central (SNC), logrando una permeabilidad mínima al agua y los solutos, también aísla y protege el tejido nervioso cerebral y controla el paso de sustancias xenobióticas (Pardridge 2007). Esta barrera está conformada por endotelio microvascular, astrocitos, lámina basal, pericitos y neuronas y conforman una unidad neurovascular completamente funcional (Delgado Minjares 2022). Las células endoteliales microvasculares cerebrales (CEMC) se encargan del transporte de nutrientes, la señalización mediada por receptores y la osmorregulación; por otra parte, las demás células del endotelio no cuentan con fenestraciones y tienen una cantidad mínima de vesículas de endocitosis. Por su parte, las CEMC se encargan de impedir el paso de compuestos hidrofílicos, formando una barrera homogénea, protegiendo así al cerebro (Domínguez, Álvarez et al. 2014).

Todas las características asociadas a la BHE se mantienen gracias a los procesos astrocitarios, los cuales cubren los capilares cerebrales y ayudan a mantener la integridad de la BHE sintetizando y secretando factores de crecimiento solubles esenciales encargados de mantener su funcionamiento. Además, la interacción entre astrocitos y CEMC que incrementa las uniones estrechas de las células del endotelio y genera un incremento en la densidad de astrocitos y sus factores de crecimiento; a esto se le debe agregar la función de mantener la integridad estructural de la BHE, de la cual se encargan los pericitos al ubicarse de manera perivascular y realizando multifunciones contráctiles en la proximidad a las células endoteliales (Domínguez, Álvarez et al. 2014). Así, la BHE no solo corresponde a una capa pasiva de células, pues es considerada un complejo metabólico activo que transporta solutos por vía transcelular haciendo uso de la difusión pasiva, proteínas transportadoras, transcitosis mediada por receptores o transportadores ABC (Domínguez, Álvarez et al. 2014), así:

5.3.1. Difusión pasiva. La difusión pasiva se da bien entre células adyacentes por vía paracelular o a través de las células por vía transcelular. Sin embargo, solo los solutos capaces de penetrar a través de la membrana de la célula endotelial son capaces de atravesar la BHE por difusión pasiva cuando las uniones estrechas bloquean la ruta paracelular a través de la BHE (Domínguez, Álvarez et al. 2014).

5.3.2. Transporte mediado por proteínas transportadoras. Favorece la movilización de pequeñas moléculas hidrofílicas como los aminoácidos o la glucosa (Domínguez, Álvarez et al. 2014, Ortiz González 2022).

5.3.3. Transcitosis mediada por receptores. A diferencia de las pequeñas moléculas que son transportadas por proteínas, los compuestos de alto peso molecular como péptidos y proteínas son demasiado grandes para ser movilizados por estas mismas, es por ello que para atravesar la BHE requieren de la transcitosis mediada por receptores; tales receptores se encuentran dentro de vesículas de clatrina formando endosomas primarios que se transportan a los lisosomas donde se degradan y son específicos para ciertos ligandos como la transferrina o la insulina (Domínguez, Álvarez et al. 2014).

5.3.4. Transportadores ABC. Son proteínas integrales de membrana, de las células del endotelio, dentro de estas se encuentra la glicoproteína P (P-gp), proteínas resistentes a múltiples fármacos (MRP) y la proteína resistente al cáncer de mama (BCRP), las cuales se caracterizan por utilizar la energía de hidrólisis del ATP para el transporte contra gradiente de sustratos, cuentan con diversidad de estos mismos y su gran influencia en la farmacocinética de los medicamentos, además de su función principal en la protección frente a toxinas naturales o xenobióticos (Löscher, Potschka 2005).

5.4 GLICOPROTEÍNA P

La glicoproteína P (P-gp), es una glicoproteína de membrana con actividad ATPasa que actúa como una bomba multi específica, actuando como una “puerta” que impide la entrada de fármacos al cerebro, a pesar de ello, presenta una alta afinidad por una gran variedad de sustratos dentro de los que se incluye medicamentos anticancerígenos, antipsicóticos y antiepilépticos, agentes inmunosupresores, inhibidores de proteasas del VIH, entre otros (Zhang, Schuetz et al. 2004, Domínguez, Álvarez et al. 2014, Stefany, Yemima et al. 2020). La P-gp tiene un papel importante en la farmacocinética, limitando el paso de numerosos fármacos a la BHE y la acción sobre sistema nervioso central (Lanusse, et al. 2005).

5.5 ESTUDIOS IN SILICO PARA ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

El desarrollo de fármacos es un proceso largo y laborioso que requiere de una alta disponibilidad de tiempo y recursos, por lo cual era necesario implementar estrategias que ayuden a reducir el trabajo. Una alternativa eficiente son los estudios *in silico*, pues basan su metodología de estudio en la aplicación y análisis a través de herramientas de bioinformática utilizando diferentes softwares; reduciendo así tiempo y dinero (López, Santos et al. 2017), además, sus resultados permiten proyectar la investigación hacia

los abordajes *in vitro* e *in vivo*; por esta razón, muchos investigadores han utilizado los estudios *in silico* para seleccionar las moléculas de interés que se podrían sintetizar, probar y promover, con el fin de ser adoptados como medicamentos eficaces en el tratamiento de diferentes patologías, motivo por el cual, tales moléculas deben mostrar una alta actividad biológica sumada a una baja toxicidad (Wang, Xing et al. 2015). En la actualidad, se realiza una gran cantidad de proyectos de investigación enfocados en el tratamiento del cáncer, Parkinson, VIH y Alzheimer, utilizando metodologías *in silico* en los que se estudia una variedad de dianas biológicas con múltiples perfiles toxicológicos (Maziasz, Kadambi et al. 2010, Daina, Michielin et al. 2017, Herrera 2021, Cabanillas, Risco et al. 2021).

Entre los factores importantes que ha motivado la implementación de estudios *in silico*, es la aplicación de las 3R (reemplazar, reducir y refinar), permitiendo la evaluación de varios criterios de valoración toxicológicos y la reducción de la experimentación en modelos animales y el costo de estas, la comprensión de la biología y química de los compuestos químicos activos, que ha motivado un progreso considerable en las legislaciones de la Unión Europea y Norteamérica (Vedani, Smiesko 2009, Banerjee, Siramshetty et al. 2016, López, Santos et al. 2017).

6. ANTECEDENTES

La EA fue descrita por primera vez en 1906 por el neuropatólogo Alois Alzheimer, como una enfermedad degenerativa progresiva, al observar el cerebro post mortem de una paciente quien presentaba una rara demencia. Alzheimer descubrió alteraciones anatómicas encontrando depósitos anormales (placas seniles) y una acumulación de estructuras fibrilares entrelazadas (ovillos neurofibrilares) (Martínez, Rivera et al. 2021).

J.A. Hardy, G.A. Higgins en el año de 1992 propusieron la hipótesis de la toxicidad amiloide, como posible causa de la enfermedad; esta hipótesis sugiere que la formación de depósitos intra y extracelulares de la proteína $A\beta_{(42)}$, que conforman las placas seniles, provoca una neurotoxicidad directa de la proteína β amiloide dañando las neuronas locales, ocasionando la pérdida de sinapsis y una disminución de la concentración de diferentes neurotransmisores (Levy, Lahad, Bird et al. 1996).

Markesberry, en el 1997 asocia la hipótesis de radicales libres propuesta por Denham Harman en el año 1956, como la posible causa de la EA, la neurotoxicidad se da por daño oxidativo y el uso de antioxidantes pretende preservar el endotelio vascular

(Markesbery 1997); a esto se suma los planteamientos de Heinze, en 1999 quien expresa que, en personas inteligentes con altos niveles educativos, se da un diagnóstico tardío, lo cual indica que los cerebros que han desarrollado un intenso trabajo intelectual deben estar muy deteriorados antes de presentar los síntomas demenciales debido a que las áreas no afectadas compensan aquellas con pérdida neuronal (Heinze 1999).

En el año 2004 Mahendra y Luchsinger en sus respectivos estudios reportaron que las vitaminas B12, B6 y ácido fólico ayudan al mantenimiento de las funciones cognitivas en los pacientes (Luchsinger, Mayeux 2004, Mahendra 2004). Esto se complementa con lo expuesto por otros autores (Romano, Nissen et al. 2007) quienes reportan que no existe un tratamiento que cure la enfermedad, por lo que los tratamientos implementados son netamente paliativos, pues su función es disminuir el progreso de la enfermedad, manejar los problemas de comportamiento, confusión y agitación.

El primer fármaco comercializado fue un anticolinesterásico conocido como tacrina (Romano, Nissen et al. 2007), sin embargo, su uso fue descontinuado debido a su alta hepatotoxicidad (Peña 2020). A pesar de ello, existen los fármacos donepezilo, rivastigmina y galantamina, que presentan un perfil de eficacia similar al de la tacrina, con efectos secundarios similares, pero con una administración más cómoda, es decir, se administra una posología menor en comparación con la tacrina (Tamayo, Pérez et al. 2020). En contraste a los inhibidores colinérgicos, un medicamento glutamatérgico es la memantina, la cual es recetada en estadios moderados y severos de la EA, la función de este fármaco es antagonizar los receptores NMDA (N-metilD-aspartato) glutamatérgicos (Rodríguez, Guerra 1999, Romano, Nissen et al. 2007, Tamayo, Pérez et al. 2020). En el año 2021 fue sometido a revisión el anticuerpo monoclonal específico para la fibrillas y oligómeros solubles de la proteína β -amiloide aducanumab, sin embargo, el comité asesor citado por la FDA no recomendó su aprobación (Fillit, Green 2021).

Adicionalmente, se han reportado resultados positivos respecto a las terapias de reemplazo hormonal, las cuales tienen como objetivo aliviar los síntomas comunes de la menopausia y responder a los cambios biológicos duraderos, como la disminución de la masa ósea, que resulta del deterioro de la concentración de las hormonas naturales estrógeno y progesterona en el cuerpo de una mujer durante la menopausia y después de esta (Peralta 2006). De igual forma, se ha encontrado una protección frente a la neurodegeneración tipo Alzheimer (Chávez, Ceballos et al. 2021, Martínez Díaz 2021).

En 2020, Song y colaboradores han reportado que la terapia de reemplazo de estrógenos (ERT) es un método de tratamiento común para el síndrome menopáusico; sin embargo, su valor terapéutico para el tratamiento de enfermedades neurológicas aún no está claro (Song, Li et al. 2020). Investigaciones como las del Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS) y el Women's health Initiative Study (WHI), reportaron que existe un aumento en el riesgo de padecer demencia y pérdida cognitiva en pacientes expuesto a la TRH (Levine, Sutton et al. 2008). A esto se suma estudios como los de Lange (2020) quienes han reportado una relación entre mayor exposición a hormonas sexuales y envejecimiento cerebral acelerado; indicando que una alta exposición a hormonas sexuales puede tener efectos adversos en el cerebro. Interesantemente, la TRH mostro un envejecimiento menos evidente en mujeres con riesgo genético para la EA (de Lange, Barth et al. 2020). En contraste, algunos estudios ofrecen fundamentos científicos y epidemiológicos convincentes que permiten tener en cuenta la TRH tanto para el tratamiento sintomático como neuroprotector de las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson y la demencia asociada con VIH (Zhou, Wu et al. 2020, Chávez, Ceballos et al. 2021). Por lo tanto, comprender la relación entre estrógenos y la EA puede conducir a una mejor comprensión de la patología; y al mismo tiempo, al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas como las basadas en reemplazo hormonal.

Dados los resultados e hipótesis obtenidas en diversos estudios sobre TRH, se ha realizado también la actividad de los fitoestrógenos como una alternativa que permita mejorar la calidad de vida de los pacientes con EA (Abreu, Armas et al. 2018). Ghanbari y Akhlaghi en su artículo de revisión (2020) denotaron las similitudes entre los fitoestrógenos y el estrógeno, debido a su estructura de estradiol (Ghanbari Gohari, Akhlaghi 2018, Song, Li et al. 2020), por lo que los fitoestrógenos también estimulan los receptores de estrógenos de diversas formas, sobre todo RE β (Díaz Díaz, Méndez Soto et al. 2020), aumentando la supervivencia de las células cerebrales y previniendo la EA. De acuerdo con los resultados obtenidos por diferentes autores, se ha demostrado que aumentan el suministro de sangre al cerebro y promueven el reconocimiento y la memoria; sumado a esto, las propiedades antioxidantes de los fitoestrógenos ayudan a la prevención de enfermedades neurodegenerativas (Castelló Ruiz 2010, Abreu, Armas et al. 2018, Chávez, Ceballos et al. 2021, Vasconcelos, da Rocha Oliveira et al. 2021).

Dentro de las fitohormonas de interés para el tratamiento de la EA, se destaca la genisteína. En 2019, Pierzynowska y colaboradores descubrieron que una alta dosis de genisteína condujo a la degradación completa de la proteína β -amiloide y Tau hiperfosforilada en el cerebro, mientras que los experimentos con cultivos celulares demostraron que estos efectos requieren estimulación de autofagia, lo que nunca se había demostrado. Además, el comportamiento de las ratas con EA tratadas con altas dosis de genisteína se corrigió por completo, es decir, no había distinción frente a ratas

sanas, esto se observó en todas las pruebas de comportamiento realizadas, llegando a la conclusión de que el mecanismo dependiente de la autofagia es responsable de la corrección de la EA mediada por genisteína cuando esta isoflavona se utiliza en dosis altas (Pierzynowska, Podlacha et al. 2019).

Una de las limitantes de las estrategias terapéuticas para enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, es la incapacidad de muchos fármacos para atravesar la barrera hematoencefálica, (Olmo Martín 2020). Respecto a la genisteína existe controversia, algunos autores como (Castillo, Tamarozzi et al. 2017) en un estudio reciente a través de análisis *in silico* ha demostrado que la genisteína no atravesó la BHE, no obstante investigadores como Roqué Figuls, Chávez y Ceballos, sugieren que esta fitohormona atraviesa la barrera hematoencefálica (Roqué, Arnau et al. 2018, Chávez, Ceballos et al. 2021).

Considerando lo anterior, el potencial terapéutico de la genisteína es de interés para los investigadores, estudios *in silico* como el reportado por Ren y colaboradores (2018) evaluando los efectos inhibidores de la genisteína sobre la agregación del péptido amiloide- β ($A\beta$, asociado con la EA), amilina de los islotes humanos (hIAPP, asociada con la diabetes tipo 2) y la neurotoxicidad inducida por $A\beta$ y hIAPP; demostraron que la genisteína tiene una fuerte capacidad para inhibir la transición conformacional de los monómeros $A\beta$ y hIAPP a estructuras de hoja β , reduciendo así la estructura final. Adicionalmente, se demostró la capacidad de la genisteína para aumentar la viabilidad celular, disminuir la apoptosis y reducir la fuga de la membrana celular, donde el efecto de protección celular de la genisteína probablemente se correlacione con su fuga reducida de la membrana (Ren, et al. 2018). Por su parte, las simulaciones de dinámica molecular comparativa (Uddin, Rahman et al. 2020) revelaron que la genisteína prefiere unirse al surco de la hoja β , un motivo estructural común de las fibrillas amiloides, de los oligómeros $A\beta$ y hIAPP para interferir con su autoagregación. A partir de tales resultados, los autores demostraron por primera vez que la genisteína es un inhibidor dual de la agregación de $A\beta$ y hIAPP y que una mayor optimización estructural y refinamiento de la genisteína pueden generar una serie de inhibidores independientes de secuencia eficaces contra la agregación y toxicidad de diferentes péptidos amiloides (Ren, Liu et al. 2018).

7. METODOLOGÍA

7.1 TIPO DE ESTUDIO: *IN SILICO*

7.2. OBTENCIÓN DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

Los metabolitos para el estudio *in silico* fueron obtenidos a partir de una revisión bibliográfica sobre las vías metabólicas de la genisteína. Se utilizó los fármacos aprobados por la FDA tacrina y galantamina, como control debido a su neuroprotección.

7.3. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS.

Para evaluar las propiedades fisicoquímicas de cada metabolito primero fue necesario acceder al banco de estructuras químicas PubChem que es una base de datos química pública y gratuita que proporciona información sobre las propiedades de sustancias químicas, incluyendo compuestos orgánicos, compuestos inorgánicos y biológicos. La cual se encuentra disponible en línea (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) con la finalidad de obtener los SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System), que es una representación textual compacta de la estructura química de una molécula, permitiendo representar las estructuras químicas de manera concisa, utilizar para realizar búsquedas en bases de datos, comparar moléculas, predecir propiedades químicas y realizar análisis computacionales.

Una vez obtenido el SMILE de cada metabolito se procede a ingresar este código al software SwissADME el cual se encuentra de forma gratuita y libre en la web (<http://www.swissadme.ch/index.php>) y permitió calcular diferentes descriptores fisicoquímicos como: peso molecular (MW), refractividad molecular (MR), tipos de átomos específicos y área topológica de superficie polar (TPSA). La lipofilicidad fue evaluada por medio de cinco modelos predictivos alternativos (XLOGP, WLOGP, MLOGP, iLOGP) junto con un consenso de la estimación del LogP basado en los valores promedio de los diferentes parámetros computacionales (Daina, Michielin et al. 2017). Ya que esta herramienta utiliza algoritmos y modelos computacionales basados en datos experimentales para predecir diversas propiedades farmacocinéticas de los

compuestos. SwissADME describe las propiedades fisicoquímicas realizando los cálculos de su programación:

Peso Molecular (MW): El peso molecular se calcula sumando las masas atómicas de todos los átomos presentes en la molécula. SwissADME utiliza una base de datos de masas atómicas y realiza la suma correspondiente para obtener el peso molecular del compuesto (Daina, Michielin et al. 2017).

Refractividad Molecular (MR): La refractividad molecular es una medida de la capacidad de una molécula para desviar la luz. El software utiliza un modelo basado en contribuciones de grupos funcionales y átomos para calcular la refractividad molecular. Este modelo considera la composición química y la conectividad de la molécula para estimar esta propiedad (Daina, Michielin et al. 2017).

Tipos de átomos específicos: SwissADME utiliza información sobre los átomos presentes en la molécula y su conectividad para identificar y contar los diferentes tipos de átomos específicos, como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, entre otros (Daina, Michielin et al. 2017).

Área Topológica de Superficie Polar (TPSA): La TPSA es una medida de la superficie polar expuesta de una molécula. SwissADME utiliza un algoritmo basado en el método de fragmentos para calcular la TPSA. Este método divide la molécula en fragmentos más pequeños y calcula la contribución de cada fragmento a la superficie polar expuesta total (Daina, Michielin et al. 2017).

Así mismo la lipofilia, evalúa utilizando cinco modelos predictivos alternativos: XLOGP, WLOGP, MLOGP, iLOGP, junto con un consenso de la estimación del LogP basado en los valores promedio de los diferentes parámetros computacionales. Estos modelos se basan en diferentes enfoques teóricos y consideran factores como la estructura molecular, la solubilidad en agua y la distribución de carga eléctrica para predecir el coeficiente de partición octanol-agua (LogP), que es una medida de la lipofilia de un compuesto (Daina, Michielin et al. 2017).

5.3.1. Propiedades ADME. El análisis farmacocinético ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) se utilizó para estimar parámetros como: absorción gastrointestinal, flujo mediado por la glicoproteína P y habilidad para penetrar la BHE, adicionalmente, se analizó si los metabolitos son sustrato o no de una batería de

isoformas del citocromo P450 (CYP), para ejecutar este objetivo la herramienta SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) hace uso de un robusto vector basado en aprendizaje de máquinas (Daina and Zoete 2016, Daina, Michielin et al. 2017).

5.3.2. Estimación del comportamiento como fármaco. Se utilizó filtros farmacéuticos como Lipinski (*Pfizer*), Ghose (*Amgen*), Veber (GSK), Egan (*Pharmacia*) y Muegge (Bayer). Además, fueron calculados los scores de biodisponibilidad (Daina, Michielin et al. 2017). Adicionalmente, se evaluaron los parámetros de genotoxicidad, citotoxicidad, mutagenotoxicidad, carcinogenicidad, inmunotoxicidad e interacción con receptores estrogénicos y androgénicos a través del servidor Prottox II el cual se encuentra de forma gratuita en línea (https://tox-new.charite.de/prottox_II/)

Finalmente, para predecir el comportamiento cardiotoxico de cada metabolito de la genisteína y su interacción con la proteína hERG, se utilizó el servidor Pred-hERG el cual se encuentra de forma gratuita en línea (<http://predherg.labmol.com.br/>).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 METABOLISMO DE LA GENISTEÍNA.

La genisteína es una isoflavona, es decir un fitoestrógeno, la cual al presentar una estructura similar a la de los esteroides estrogénicos desempeña un papel importante en el cuerpo humano, mostrando beneficios para la salud; por ejemplo, al demostrar su capacidad para inhibir la proliferación de células mutagénicas (Hernández 2020).

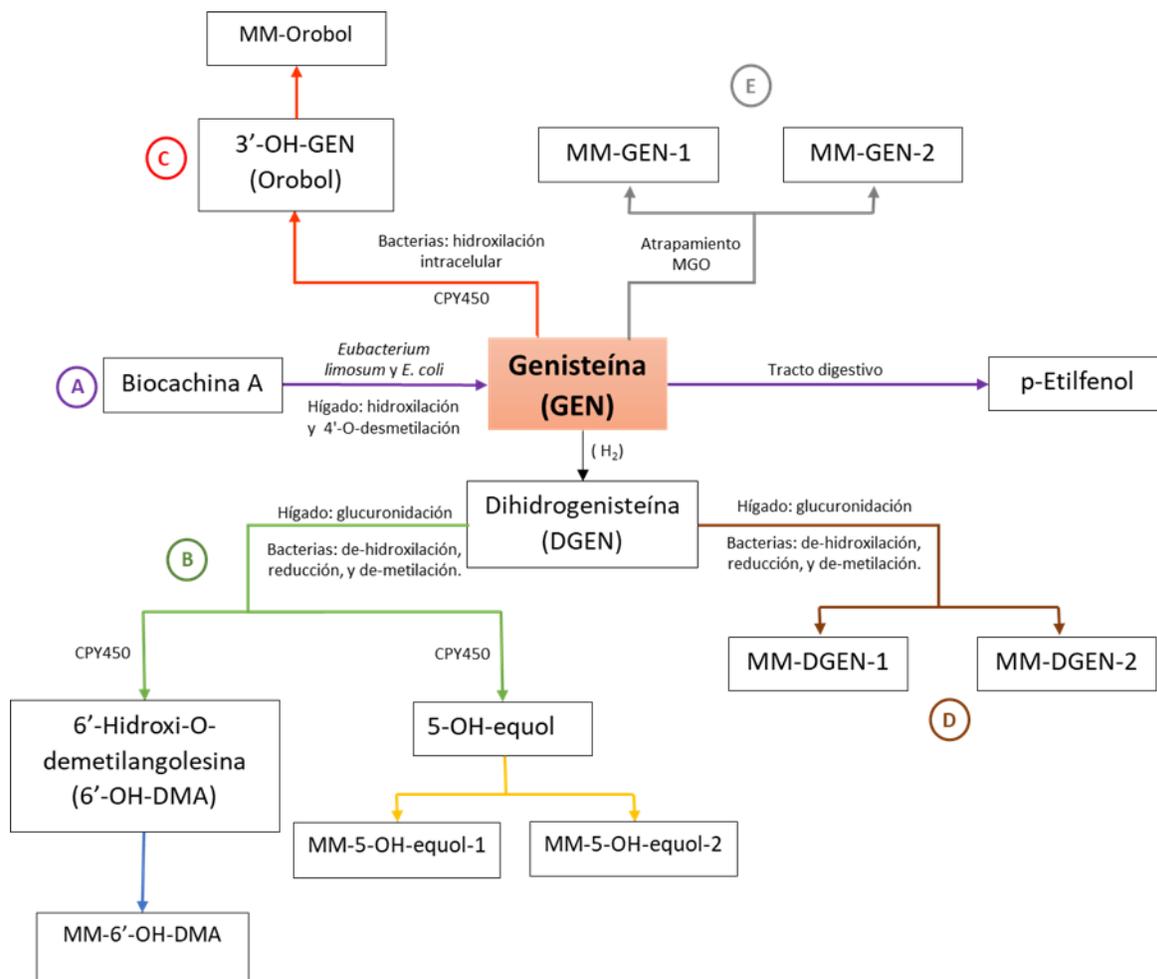
El metabolismo de la genisteína parece ser similar tanto en animales como en humanos (Setchell, Adlercreutz, 1988; Cancelo Hidalgo, 2018; Cala, Calviño, 2021). En humanos, tras la administración de isoflavonas, la actividad enzimática del intestino y de la flora intestinal hidrolizan los glicósidos o gliconas (Rowland, 2012), dentro de las cuales se encuentran las gliconas activas genistina y biochanina A, que al ser absorbidas en el intestino, son transportadas a través de la sangre a órganos diana donde se encuentran receptores estrogénicos, además de llegar al hígado, donde producen una serie de reacciones asociados a la hidroxilación, conjugación, glucoronización, 4'-O-desmetilación y sulfatación (Tolleson et al., 2002; González, Durán, 2014). Tanto la genistina como la biochanina A van a ser en parte, excretadas por la bilis al intestino para ser reabsorbidos a la circulación sanguínea y posteriormente distribuidos a todos los tejidos del organismo por la circulación enterohepática (Semeniuk 2022). En el intestino, las enzimas bacterianas hidrolizan los glucorónidos y los éster sulfatos

provocando el inicio de un nuevo ciclo entérico de absorción (González, Durán, 2014) generando que la flora del intestino distal metabolice las agliconas transformando la biochanina A en genisteína (Juliá, et al. 2008).

La genisteína se debe hidrogenizar para convertirse en dihidrogenisteína y así facilitar su posterior absorción en el colon, transportándose a los RE β que inducen al elemento de respuesta estrogénica (ERE) (Cendales, Silva, 2011; Salas, 2016). En el tracto digestivo, la genisteína se transforma en p-etilfenol (esquema 1), que es una estructura hormonalmente inerte (Axelson, Setchell, 1980; Axelson et al., 1984).

La dihidrogenisteína, en el cuerpo humano es biotransformada en 5-hidroxi-equol (5-OH-equol) y 6'-hidroxi O demetilangolensina (6'-OH-DMA) (Kwak, Park et al. 2009). En el caso de ratones, se reporta el metabolito p-etilfenol por la microflora colónica (esquema 1) (Mallench, 2018).

Otra de las rutas asociadas al metabolismo de la genisteína, es la vía de la Fase I del metabolismo, en la cual interviene el Citocromo P450 (CYP450). Bajo la influencia de los CYP450, la genisteína, una vez ingerida, en el hígado puede ser biotransformada en los metabolitos hidroxilados 6-hidroxigenisteína, 8-hidroxigenisteína y 3' hidroxigenisteína u orobol (esquema. 1) (Roberts-Kirchhoff, Crowley et al. 1999). En ratones, el orobol se obtiene como producto de la metabolización por el microbiota intestinal tras la hidroxilación intracelular de la genisteína (Preedy, 2013, Wang, Chen et al. 2016).



Esquema 1. Biotransformación de la genisteína. A) Tras la administración de isoflavonas, la actividad enzimática del intestino y de la flora intestinal hidrolizan los glicósidos o gliconas dentro de las cuales se encuentran las gliconas activas genistina y biochanina A, cuya hidrogenización y absorción en el colon producen p-etilfenol. B) Biotransformación de DGEN en 6'-OH-DMA y 5-OH-equol por acción de microbiota intestinal y el citocromo P450. C) Biotransformación de GEN en orobol por acción de microbiota intestinal y el citocromo P450. D-E) aductos de mono-MGO producidos por el atrapamiento de MGO. Modificado de (Wang, et al. 2016).

Considerando el metabolismo de la genisteína y los metabolitos resultantes de las diferentes vías de transformación por las que esta isoflavona se puede degradar, la tabla 1 muestra los principales metabolitos seleccionados para el análisis *in silico*, los cuales se han elegido considerando la revisión bibliográfica de las rutas de biotransformación de la genisteína tanto en humanos como en ratones. En la figura 1 se muestra la estructura de los metabolitos que se seleccionaron.

TABLA 1. METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA RESULTADO DE SU BIOTRANSFORMACIÓN EN HUMANOS Y EN RATONES.

Metabolito	Formula	SMILE
p-etilfenol	C8H10O	CCc1ccc(cc1)O
6- hidroxigenisteína	C15H10O6	Oc1ccc(cc1)c1coc2c(c1=O)c(O)cc(c2O)O
8- hidroxigenisteína	C15H10O6	Oc1ccc(cc1)c1coc2c(c1=O)c(O)cc(c2O)O
3'- hidroxigenisteína	C15H10O6	Oc1cc(O)c2c(c1)occ(c2=O)c1ccc(c(c1)O)O
Dihidrogenisteína	C15H12O5	Oc1ccc(cc1)C1COc2c(C1=O)c(O)cc(c2)O
5-hidroxi-equol	C15H14O4	Oc1ccc(cc1)[C@H]1COc2c(C1)c(O)cc(c2)O
6'-hidroxi O demetilangolensina	C15H14O5	Oc1ccc(cc1)C(C(=O)c1c(O)cc(cc1O)O)C
Tacrina	C13H14N2	Nc1c2CCCCc2nc2c1cccc2
Galantamina	C17H21NO3	COc1ccc2c3c1OC1C3(CCN(C2)C)C=CC(C1)O

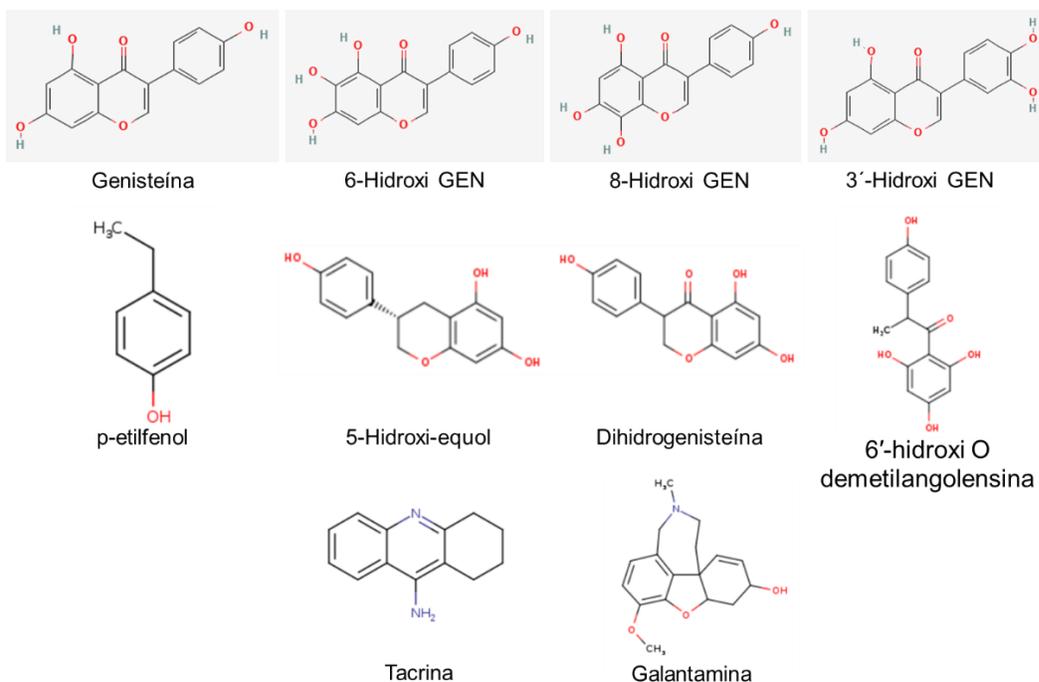


Figura 1. Formula estructural de los metabolitos de la genisteína. Tomado de del banco de estructuras químicas PubChem.

8.2. BIODISPONIBILIDAD ORAL DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

La biodisponibilidad oral hace referencia al porcentaje de fármaco que llega a la circulación sistémica, dado que al administrar un fármaco por vía oral gran parte de este se pierde en forma insoluble y otra parte será metabolizada en el intestino e hígado y solo una fracción ingresa a la vía sanguínea, siendo la cantidad de fármaco que ejerce efecto (Santiesteban Ibarquen 2022).

Utilizando el software SwissADME se obtuvo los datos para predecir la biodisponibilidad oral de un compuesto o metabolito. Como se evidencia en la tabla 2, para predecir la biodisponibilidad oral de un compuesto o metabolito se consideraron los siguientes criterios: peso molecular (MW), refractividad molar (MR), número de enlaces giratorios, fracción de carbonos en la hibridación sp (Csp3) y el área topológica polar (TPSA). Estas propiedades también son observadas a través del radar de biodisponibilidad que es una evaluación rápida de la semejanza del metabolito o molécula con un fármaco. En la figura 2 se muestra el radar de biodisponibilidad, en el que se representa un área rosa, dentro de la cual la molécula tiene que estar contenida según el rango establecido para cada parámetro fisicoquímico, con el fin de que se considere similar a una droga.

TABLA 2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

Metabolito	MW (g/mol)	MR	Enlaces giratorios	Log s	Fracción Csp3	TPSA
p-etilfenol	122.16	38.24	1	-2.57	0.25	20.23 Å ²
6- hidroxí GEN	286.24	76.01	1	-3.82	0.00	111.13 Å ²
8- hidroxí GEN	286.24	76.01	1	-3.82	0.00	111.13 Å ²
3'-hidroxí GEN	286.24	76.01	1	-3.82	0.00	111.13 Å ²
Dihidrogenisteína	272.25	71.57	1	-3.42	0.13	86.99 Å ²
5-hidroxí-equol	258.27	71.15	1	-3.53	0.20	69.92 Å ²
6'-hidroxí O demetilangolensina	274.27	74.02	3	-3.00	0.13	97.99 Å ²
Tacrina	198.26	63.58	0	-4.46	0.31	38.91 Å ²
Galantamina	287.35	84.05	1	-2.96	0.53	41.93 Å ²

Peso molecular (MW), refractividad molar (MR), número de enlaces giratorios, fracción de carbonos en la hibridación sp (Fracción Csp3), área topológica polar (TPSA).

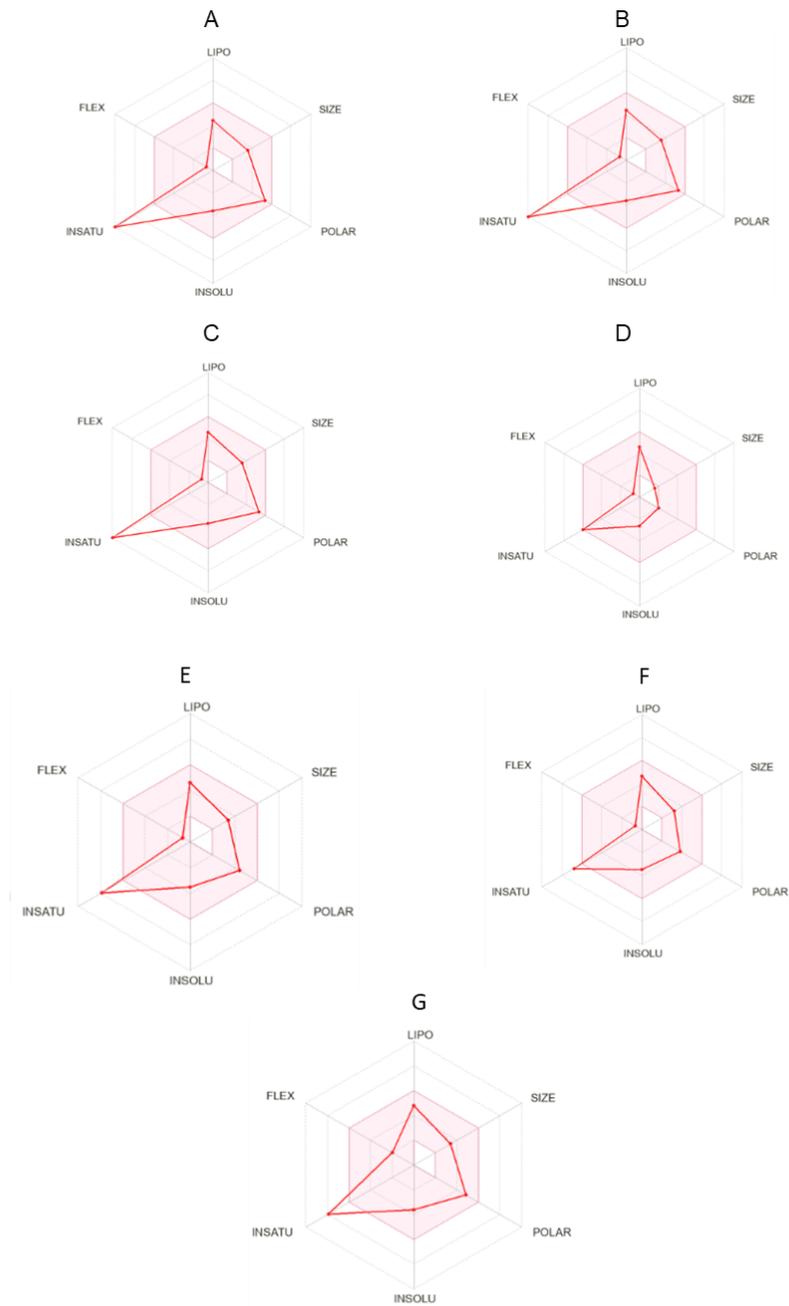


Figura 2. Radar de biodisponibilidad de: A) 6-hidroxigenisteina. B) 8- hidroxigenisteina. C) 3'-hidroxigenisteina. D) p-etilfenol. E) dihydrogenisteina. F) 5- hidroxiequol. G) 6'-hidroxí O demetilangolensina. Permite evaluar la lipofilicidad, el tamaño, polaridad, solubilidad, saturación y flexibilidad. El radar de biodisponibilidad se representa con un área rosa en la que el gráfico de la molécula tiene que estar contenido por completo

según el rango establecido para cada parámetro fisicoquímico, con el fin de que se considere similar a una droga.

8.2.1. Tamaño o peso molecular (MW). Para el cálculo de esta medida a través del servidor SwissADME se considera que el peso molecular (MW) de las moléculas a evaluar oscile entre 150 y 500 g/mol (Daina, et al. 2017). Este valor otorga una característica distintiva a las moléculas de interés, al facilitar su transporte a través de las membranas y afectando el ingreso de aquellas con una mayor magnitud molecular (Correa Sánchez 2021; Del-Nero 2020).

En el caso de los metabolitos estudiados se puede evidenciar que, para este parámetro, el p-etilfenol es el único metabolito que no cumplen la condición, presentando un MW de (122.16 g/mol). Sin embargo, esta condición no limita el transporte a través de membranas de p-etilfenol. Por otra parte, la galantamina es la que presenta el mayor peso molecular (287.35 g/mol) (tabla 2). En este estudio la galantamina es utilizada como molécula de control por ser un fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de EA (Peralta 2021).

8.2.2. Flexibilidad. Es aquella característica que le permite a las moléculas cambiar su forma en los diferentes procesos biológicos. Para predecir este parámetro en el análisis *in silico* el metabolito no debe tener más de 9 enlaces giratorios (Daina, et al. 2017). Según los datos obtenidos en SwissADME se evidencia que todos los metabolitos presentan un alto grado de flexibilidad, dado que presentan menos de 9 enlaces giratorios, siendo el metabolito 6'-hidroxi O demetilangolensina el que presenta mayor número de enlaces (3). (tabla 2).

8.2.3. Solubilidad (logS). Es una propiedad que influye en la absorción, debido a que un fármaco debe presentar un grado alto de solubilidad en agua para otorgar la cantidad suficiente del principio activo, lo que permite establecer la concentración de la dosis necesaria (Savjani, et al. 2012).

Dentro de los análisis *in silico* la solubilidad de una molécula, se representa por la escala de Log S, donde una molécula es insoluble cuando es menor a -10, pobre cuando es menor a -6, moderadamente soluble cuando es menor a -4, soluble cuando es menor a -2, muy soluble cuando es menor a 0 y altamente soluble cuando es mayor a 0 (Daina, et al. 2017). Los datos obtenidos muestran que los metabolitos estudiados son solubles ya que los valores de LogS se encuentran entre -2.57 para p-etilfenol,

hasta -3.82 para 8- hidroxigenisteina (tabla 2) por lo cual, al considerar este parámetro los metabolitos de la genisteína estudiados presentarían buena absorción.

8.2.4. Saturación (fracción Csp3). Para calcular la saturación del metabolito se requiere conocer la relación entre los sp de carbonos hibridados y el número total de carbonos de dicha molécula (fracción Csp3), en este caso utilizando SwissADME la fracción Csp3 debe ser mayor o igual a 0,25 (Daina, et al. 2017). De acuerdo con los datos obtenidos se observa que el metabolito p-etilfenol es el único que cumple con esta condición ya que su fracción Csp3 es 0.25 (tabla 2) y como se evidencia en el radar de biodisponibilidad en el literal de instauración p-etilfenol se encuentra contenido dentro del área rosa (figura 2).

8.2.5. Polaridad. Para el cálculo de la polaridad se requiere que los metabolitos presenten un área de superficie polar (TPSA) entre 20 Å² y 130 Å² (Daina, et al. 2017). Este parámetro está relacionado con el área de superficie polar molecular (PSA) que representa la superficie de los átomos polares, describiendo la correlación con el transporte molecular pasivo a través de las membranas, prediciendo así las propiedades de transporte de los metabolitos (Choque, Nogales 2019). En cuanto a este parámetro se encontró que todos los metabolitos analizados cumplen con lo requerido, dado que su TPSA va desde 20,23 Å² para el p-etilfenol hasta 111.13 Å² para 6- hidroxigenisteina, 8- hidroxigenisteina y 3'-hidroxigenisteina respectivamente (tabla 2). Al considerar estas propiedades, los metabolitos se encuentran dentro del radar de biodisponibilidad (figura 2) lo que permite inferir su facilidad para el transporte pasivo a través de membranas.

Adicionalmente, otro parámetro a ser considerado en la identificación de potenciales farmacológicos, es la lipofilicidad, la cual hace referencia al volumen de distribución de los fármacos, dado que una alta lipofilicidad indica buena difusión a través de membranas y la difusión de dichas moléculas en el medio intracelular (Mobili, Enrique 2019). Este valor representa el cálculo de XLOGP3, cuyo análisis *in silico* debe representar valores entre -0,7 a 6,0 (Daina, et al. 2017). Los metabolitos analizados se encuentran dentro de los valores de referencia para XLOGP3 (tabla 3), siendo 6'-hidroxi O demetilangolensina el que presenta el menor valor de lipofilicidad con un valor de 2.90. Por otro lado, el radar de biodisponibilidad (figura 2) indica que todos los metabolitos se encuentran dentro del área de lipofilicidad, mostrando así su afinidad a un ambiente lipofílico, lo que facilitaría una buena difusión a través de membranas.

TABLA 3. EVALUACIÓN DE LIPOFILICIDAD DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

Metabolito	iLOGP	XLOGP3	WLOGP	MLOGP	Consenso logP
p-etilfenol	1.72	2.58	1.95	2.14	2.11
6- hidroxigenisteina	2.06	2.31	2.28	-0.03	1.73
8- hidroxigenisteina	1.67	2.31	2.28	-0.03	1.65
3'- hidroxigenisteina	1.86	2.53	2.28	-0.03	1.73
Dihidrogenisteína	1.74	2.56	2.16	0.71	1.85
5-hidroxi-equol	1.81	2.61	2.51	1.62	2.19
6'-hidroxi O demetilangolensina	1.43	2.90	2.50	1.10	1.99
Tacrina	2.09	2.71	2,7	2.33	2.59
Galantamina	2.64	1.84	1.32	1.74	1.91

8.3. FARMACOCINÉTICA.

La farmacocinética es la relación que se establece entre el fármaco y el paciente e incluye los procesos de absorción, digestión, metabolismo y excreción (ADME) que, en su conjunto, determinan una curva de concentración-tiempo permitiendo determinar la efectividad de un posible fármaco, así como su dosificación (Beltrán 2004). La tabla 4, muestra las propiedades farmacocinéticas como absorción gastrointestinal pasiva (HIA), posibilidad de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), sustratos de la glicoproteína P (P-gp), el coeficiente de permeabilidad de la piel (Kp), así como su interacción con el citocromo P450 (CYP450).

TABLA 4. PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

Metabolito	HIA	BHE	P-gp	kp cm/s	CYP450				
					CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
p-tilfenol	Alto	Si	No	-5,21	Si	No	No	No	No
6-hidroxigenisteina	Alto	No	No	-6,41	Si	No	No	Si	Si
8-hidroxigenisteina	Alto	No	No	-6,41	Si	No	No	Si	Si
3'- hidroxigenisteina	Alto	No	No	-6,25	Si	No	No	Si	Si
Dihidroxigenisteina	Alto	No	No	-6,14	Si	No	No	No	Si
5-hidroxi-equol	Alto	Si	Si	-6,02	Si	No	No	Si	No
6'-hidroxi O demetilangolensina	Alto	No	No	-5,91	Si	No	No	No	Si
Tacrina	Alto	Si	Si	-5,59	Si	No	No	No	Si
Galantamina	Alto	Si	Si	-6,75	No	No	No	Si	No

Se analiza la absorción gastrointestinal pasiva (HIA), la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), sustrato de la glicoproteína P (P-gp), coeficiente de permeabilidad de la piel (Kp), interacción de las moléculas con el citocromo P450 (CYP450).

La absorción gastrointestinal pasiva (HIA) y el acceso a la barrera hematoencefálica (BHE), se basa en dos descriptores fisicoquímicos (WLOGP y TPSA), para lipofilicidad y polaridad aparente (Daina, et al. 2017). Por su parte, para predecir el coeficiente de permeabilidad de la piel (Kp) se establece que Kp debe tener una relación lineal con el MW y la lipofilicidad (Potts, Guy 1992). Se ha determinado que entre más negativo sea el valor de log Kp menos permeable a la piel es la molécula (Daina, et al. 2017).

Según los resultados obtenidos y como se evidencia en la tabla 4, todos los metabolitos estudiados presentan una alta absorción gastrointestinal. Sin embargo, los metabolitos p-tilfenol y 5-hidroxi-equol son los únicos que muestran capacidad para atravesar la BHE. Para la permeabilidad se evidencia que los metabolitos tendrán baja permeabilidad por la piel ya que los valores de log Kp son negativos, siendo el 3'-hidroxigenistina quien presenta el valor más bajo (-6,25). Por lo cual es el metabolito que presenta menor permeabilidad por la piel.

Por otra parte, es importante destacar que el análisis de la interacción de las moléculas con CYP450 es un factor clave dentro de la farmacocinética. Las enzimas del CPY450

por oxidación son capaces de modificar la estructura química de diferentes fármacos, al convertirlos en compuestos más solubles y así logran ser excretados a través del riñón (Rodríguez, Guerra 2014). Existen más de 50 enzimas de CYP450 de las cuales se destacan CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4; estos son capaces de metabolizar el 90% de los fármacos (Morales-Olivas and Estañ 2006; Quiñones, et al. 2008; Wielandt, et al. 2022). Entre los CYP450, CYP3A4 metaboliza más del 50% de fármacos que se utiliza en seres humanos (Verstuyft, et al. 2022).

Existen polimorfismos hereditarios de estos CYP450 lo cual genera diferentes respuestas a fármacos, que pueden ser sustratos, inhibidores o inductores de los CYP450 (Trujillo, Martínez, et al. 2021). Las moléculas que son sustrato y entran en contacto con CYP450 serán metabolizadas, las inductoras aceleran el metabolismo de otros fármacos y aquellas que son inhibidoras, bloquean o restringen la actividad de los CYP450 (Osorio, et al. 2019).

Según los resultados, p-etilfenol y 5-hidroxi-equol interactúan con CYP1A2 (tabla 4) por lo cual no deben ser administrados con medicamentos metabolizados por la misma enzima del citocromo, por ejemplo, con pacientes que se encuentran en tratamiento con Ciprofloxacina, Fluvoxamina, Furafilina, α -Naptoflavona (Tsoutsouloupoulos, et al. 2020). En este mismo sentido, 5-hidroxi-equol al igual que los fármacos Ajmalicina, Celecoxib, Corinantina, actúa como inhibidor de CYP2D6 (Montero, Vasconcelos 2022).

Otro mecanismo que permite el análisis rápido de factores farmacocinéticos de diferentes metabolitos o moléculas y que es complementario a la predicción farmacocinética es el diagrama BOILED-Egg. Se trata de un método gráfico intuitivo que analiza la absorción gastrointestinal pasiva (HIA) y la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), a partir de los valores de WLOGP y TPSA, para lipofilicidad y polaridad aparente (Daina, et al. 2017). En la figura 4, se observa el diagrama BOILED-Egg donde la parte amarilla representa una “yema de huevo” que predice el ingreso de moléculas a través de la BHE al cerebro, y la parte blanca representa la “clara de huevo”, indicando el ingreso de moléculas a través de la barrera gástrica (Daina, et al. 2017). Por su parte el espacio gris mostrará las moléculas con baja absorción y paso limitado al cerebro (Daina, et al. 2017).

Uno de los valores de interés de este gráfico está dado por el análisis de compuestos que son sustrato o no sustrato de la glicoproteína de permeabilidad (P-gp), el cual es un mecanismo de protección del sistema nervioso central (SNC) que funciona como una bomba multi específica, actuando como una “puerta” que impide el ingreso de sustancias xenobióticas (Szakács, et al. 2008). Las moléculas que son sustrato de P-gp

y que logran permear la BHE son expulsadas limitando su acción. Cuando una molécula es sustrato se representa con un punto de color azul, de lo contrario se representa de color rojo (Daina, et al. 2017).

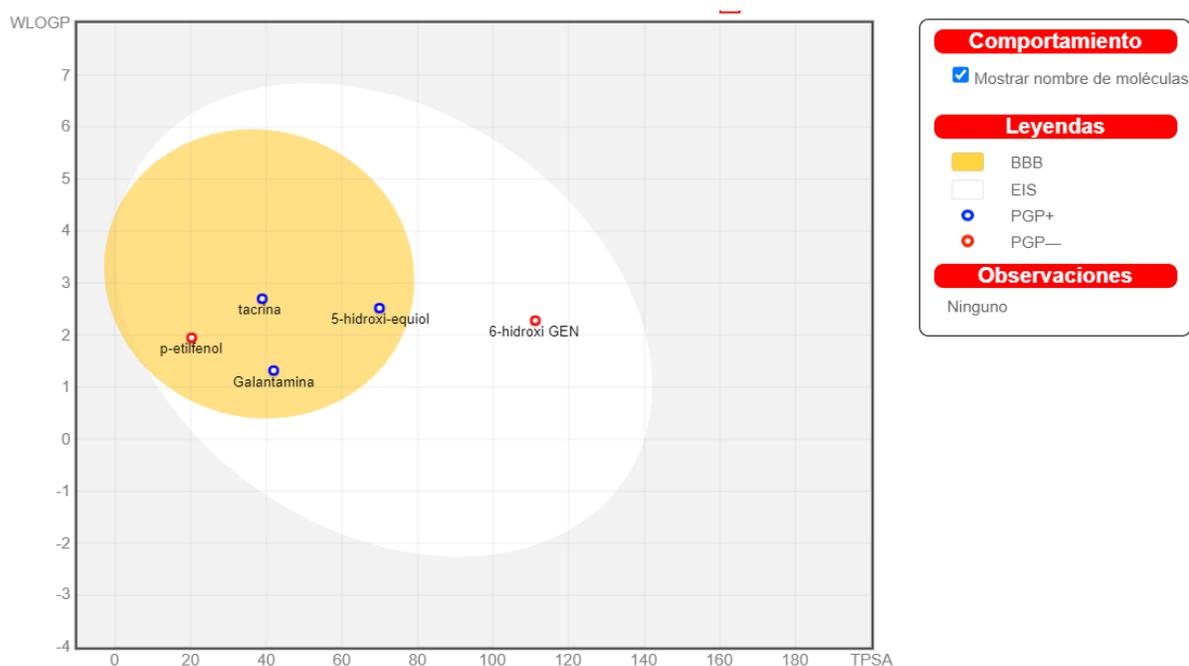


Figura 3. diagrama BOILED-Egg. La parte amarilla representa una “yema de huevo” que predice el ingreso de moléculas a través de la BHE y la parte blanca representa la “clara de huevo”, prediciendo el ingreso de moléculas a través de la barrera gástrica.

En la figura 4 se observan los metabolitos p-etilfenol, 5-hidroxi-equol y 6-hidroxigenisteina junto a los fármacos para tratamiento de EA tacrina y galantamina. Los datos obtenidos muestran como 5-hidroxi-equol al igual que la tacrina y la galantamina son sustrato de la P-gp lo que genera su expulsión y excreción de la BHE limitando su acción y en contraste requiere una alta dosificación. Por su parte, el metabolito p-etilfenol no solo atraviesa la BHE, sino que este no es sustrato de la P-gp favoreciendo su permanencia y acción dentro de SNC, demostrando así su posible potencial farmacológico y capacidad neuroprotectora frente a EA. Sin embargo, estudios tanto in silico como in vitro son necesarios, por ejemplo, evaluar efecto antioxidante, anti genotóxico antiinflamatorio y como inhibidor del COA y Butirilconinesteraza, entre otras vías asociadas a la neuro protección frente a EA.

8.4. CARACTERÍSTICAS DRUGLIKENESS (SEMEJANZA CON FÁRMACOS).

La semejanza con fármacos hace referencia a compuestos activos por vía oral para definir rangos fisicoquímicos de alta probabilidad de ser un fármaco oral y esta determinada a partir de la llamada regla de cinco de Lipinski quien delineó la relación entre los parámetros farmacocinéticos y fisicoquímicos (Daina, et al. 2017). Para evaluar la semejanza con fármacos se requiere conocer su biodisponibilidad oral. El programa SwissADME relaciona este parámetro a partir de diferentes reglas (Tabla 5) que dan a conocer las propiedades de una molécula como fármaco, para ello se implementan los análisis realizados por importantes compañías farmacéuticas para reafirmar la calidad del producto entre los que destacan los métodos de Ghose (Amgen), Veber (GSK), Egan (Pharmacia) y Muegge (Bayer), Lipinski (Pfizer); este último corresponde al filtro más importante y destacado dado que es considerado pionero en análisis de la semejanza como fármaco de diferentes moléculas de interés (Ilieva, et al. 2018).

En cuanto a la biodisponibilidad, corresponde al parámetro que predice que una molécula tenga al menos un 10% de disponibilidad oral en ratas. Este dato se obtiene a partir de la relación entre TPSA y los filtros de Lipinski, en la cual se define cuatro grupos de compuestos con probabilidades del 85 % de biodisponibilidad si el área de superficie polar (PSA) es menor o igual a 75 \AA^2 , al 56 % si PSA es mayor a 75 \AA^2 y menor a 150 \AA^2 , y al 11 % si el PSA es mayor o igual a 150 \AA^2 (Martin 2005). En este sentido se encontró que la biodisponibilidad de p-etilfenol y 5-hidroxi-equol es de 85% según los valores de TPSA en relación a los filtros de Lipinski (tabla 2).

TABLA 5. DRUGLIKENESS DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA.

Metabolito	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge	Biodisponibilidad
p-etilfenol	Si	No	Si	Si	No	0,55
6- hidroxí GEN	Si	Si	Si	Si	Si	0,55
8- hidroxí GEN	Si	Si	Si	Si	Si	0,55
3'-hidroxí GEN	Si	Si	Si	Si	Si	0,55
Dihidrogenisteína	Si	Si	Si	Si	Si	0,55
5-hidroxí-equol	Si	Si	Si	Si	Si	0,55
6'-hidroxí O demetilangolensina	Si	Si	Si	Si	Si	0,55

Según los datos obtenidos p-etilfenol no cumple con los criterios de Ghose y Muegge (tabla 5). Sin embargo, cumple con los parámetros establecidos por Veber, Egan y Lipinski, por lo cual, teniendo en cuenta que la regla de 5 de Lipinski es una de las más

importantes para la selección de un fármaco se puede determinar que el p-etilfenol constituye una línea base en la producción de fármacos.

8.5. TOXICIDAD.

Para determinar la toxicidad de los metabolitos de la genisteína se utilizó como herramienta el software ProTox II, el cual predice la toxicidad oral en roedores a partir de un análisis de similitud entre compuestos con efectos tóxicos conocidos con los compuestos a analizar, determinando así su dosis letal 50 (LD50), incorporando a su vez la identificación de fragmentos tóxicos. Además, para predecir la actividad hepatotóxica, carcinogénica, inmunotóxica mutagénica y citotóxica, el software indica su actividad o inactividad según el porcentaje de exactitud. Según los datos obtenidos p-etilfenol y 5-hidroxi-equol presentan una clase de toxicidad prevista de nivel 4, indicando que son nocivos por ingesta, por lo cual su uso farmacológico debe ser analizado minuciosamente (tabla 6) (Banerjee, et al. 2018).

TABLA 6. PREDICCIÓN DE TOXICIDAD DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA-

Metabolito	Clase de toxicidad prevista	de										DL50 Mg/kg
		hepa		carci		inmuno		muta		cito		
		Pred	Prob (%)	Pred	Prob (%)	Pred	Prob (%)	Pred	Prob (%)	Pred	Prob (%)	
p-etilfenol	4	-	77	-	62	-	99	-	98	-	88	870
6- hidroxí GEN	5	-	69	+	68	-	96	+	51	-	99	2500
8- hidroxí GEN	5	-	69	+	68	-	85	+	51	-	99	2500
3'-hidroxí GEN	5	-	69	+	68	-	91	+	51	-	99	2500
Dihidrogenisteína	5	-	75	-	67	+	56	-	64	-	90	2647
5-hidroxi-equol	4	-	79	-	67	-	97	-	54	-	81	500
6'-hidroxí demetilangolensina	4	-	60	-	78	-	99	-	65	-	78	2000
Tacrina	2	-	67	-	65	-	98	+	91	-	72	
Galantamina	3	-	93	-	65	+	98	-	76	+	50	85

Hepatotóxico (hepa), carcinogénico (carci), inmunotóxico (inmuno), mutagénico (muta), citotóxico (cito) y dosis letal 50 (DL50). Inactividad (-), actividad (+). Clase de toxicidad prevista: 1 mortal, 2 fatal, 3 toxico, 4 nocivo, 5 puede ser nocivo y 6 no toxico.

Como se observa en la tabla 6, p-etilfenol y 5 hidroxí-equol son inactivos como sustancias hepatotóxicas, carcinogénicas, inmunotóxicas, mutagénicas y citotóxicas, mostrando que tienen una alta probabilidad (de 62% a 99%) de no causar efectos secundarios a nivel sistémico y celular.

La determinación de la LD50 o dosis letal media, indica la dosis a la que el 50 % de los sujetos de prueba mueren tras la exposición a un compuesto (Banerjee, et al. 2018). Según los resultados mostrados en la tabla 6, se evidencia que en general todos los compuestos presentan una DL50 alta. Lo que indica que esos compuestos serían tóxicos solo a concentraciones extremadamente altas.

8.6. INTERACCIÓN CON RECEPTORES ANDROGÉNICOS Y ESTROGÉNICOS.

Los receptores de andrógenos y estrógenos son considerados como reguladores de la actividad genética y presentan capacidad para generar sintomatología dependiendo del órgano donde sean expresos (Cendales, Silva 2011). Los estrógenos pueden promover o limitar la proliferación celular, existe evidencia de que RE α promueven la proliferación mientras que RE β la regulan, comportándose como un factor protector frente a patologías como el cáncer. Además, se conoce que receptores estrogénicos como los alfa (RE α) presentan una mayor expresión en el útero, mama y riñón; mientras que, los beta (RE β) lo hacen en tejido nervioso como cerebro e hipófisis (Cendales, Silva 2011).

Por su parte, los receptores androgénicos (RA), corresponden a receptores nucleares (factores de transcripción), estos se ubican en la próstata y dirigen el crecimiento, diferenciación y supervivencia de las células epiteliales, además participan en el desarrollo y avance de diferentes anomalías en el cuerpo humano como lo es el cáncer de próstata (Durán, et al. 2011). La tabla 7 muestra la interacción de los metabolitos de la genisteína con los receptores estrogénicos y androgénicos.

TABLA 7. INTERACCIÓN DE LOS METABOLITOS DE LA GENISTEÍNA CON RECEPTORES ANDROGÉNICOS Y ESTROGÉNICOS.

Metabolito	RE α		AR	
	Predicción	Probabilidad (%)	Predicción	Probabilidad (%)
p-etilfenol	-	96	-	100
6- hidroxí GEN	+	87	-	99
8- hidroxí GEN	+	87	-	99
3'-hidroxí GEN	+	87	-	99
Dihidrogenisteína	+	78	-	86
5-hidroxí-equol	+	60	-	87
6'-hidroxí demetilangolensina	0	81	+	58
Tacrina	-	76	-	98
Galantamina	-	96	-	90

Receptor de estrógenos alfa (RE α), Receptor de andrógenos (AR).

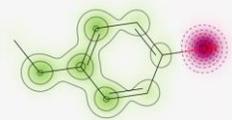
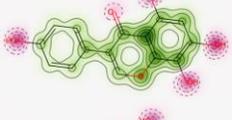
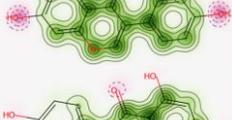
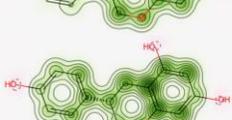
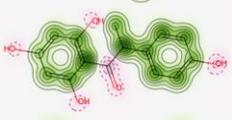
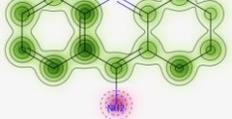
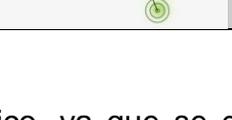
Los datos obtenidos muestran que p-etilfenol no presenta interacción con el RE α con una probabilidad de 96%, esta característica junto con que este metabolito es capaz de atravesar la BHE podría indicar algún grado de neuroprotección. Por su parte, 5-hidroxi-equol presenta interacción con los RE α , con una probabilidad de 60% que se considera baja ya que existe un 40% de que este metabolito interactúe con este receptor. En cuanto a la relación entre los receptores androgénicos con los metabolitos, se obtuvo que tanto p-etilfenol como 5-hidroxi-equol no presentan interacción con este receptor, con una probabilidad de 100% y 87% respectivamente.

8.7. COMPORTAMIENTO CARDIOTÓXICO Y SU INTERACCIÓN CON LA PROTEÍNA HERG.

Los canales “ether à-go-go” (hERG) son los encargados de repolarizar la membrana después del potencial de acción, tanto en células nerviosas como en el corazón. En este último el uso de ciertos fármacos que bloquean este canal incrementan la probabilidad de padecer arritmias y muerte en los pacientes (Granja del Río 2013), lo que convierte a hERG en uno de los parámetros más importantes a considerar en las primeras etapas del proceso de desarrollo de fármacos (Braga, et al. 2015). Por tanto, en el desarrollo de un fármaco es un requerimiento de la FDA que se realice análisis de interacción del compuesto bioactivo con la proteína hERG (Braga, et al. 2015).

La tabla 9 muestra el comportamiento cardiotoxico y la interacción de los metabolitos de la genisteína con la proteína hERG, esto haciendo uso del software Pred-hERG. Además, el servidor genera mapas de probabilidad que ayudan a visualizar las contribuciones atómicas en una estructura, donde los átomos o fragmentos verdes representan la contribución al bloqueo de hERG, mientras que el rosa contribuye a la disminución del bloqueo de hERG y el gris significa que no hay contribución. Las isolíneas grises delimitan la región de división entre la contribución positiva (verde) y la negativa (rosa) (Braga, et al. 2015).

TABLA 8. COMPORTAMIENTO CARDIOTÓXICO E INTERACCIÓN CON LA PROTEÍNA HERG

Metabolito	Predicción	% confianza	Mapa de probabilidad
p-etilfenol	No cardiotoxico	50%	
6- hidroxí GEN	No cardiotoxico	70%	
8- hidroxí GEN	No cardiotoxico	70%	
3'-hidroxí GEN	No cardiotoxico	60%	
Dihidrogenisteína	No cardiotoxico	60%	
5-hidroxí-equol	Potencial cardiotoxico	50%	
6'-hidroxí demetilangolensina	No cardiotoxico	60%	
Tacrina	Potencial cardiotoxico	60%	
Galantamina	No cardiotoxico	50%	

Los resultados muestran que p-etilfenol no es cardiotoxico, ya que se da una mayor contribución a la disminución del bloqueo de hERG que se evidencia con la presencia del grupo OH representado en color rosa, en el mapa de probabilidad. Sin embargo, presenta también una probabilidad del 50% de cardiotoxicidad expresado por el anillo aromático simbolizado por líneas verdes. Por su parte, 5-hidroxí-equol es

potencialmente cardiotoxico con una probabilidad del 50% dada la ausencia de segmentos rosa en el mapa de probabilidad.

9. CONCLUSIONES

- p-etilfenol y 5-hidroxi-equol son los metabolitos que presentan mejor biodisponibilidad oral, a diferencia de los metabolitos 6- hidroxigenisteína, 8- hidroxigenisteína, 3'-hidroxigenisteína, que son compuestos no biodisponibles por vía oral, debido a su alto grado de insaturación.
- Todos los metabolitos estudiados presentan una alta absorción gastrointestinal. Los metabolitos p-tilfenol y 5-hidroxi-equol que son los únicos capaces de atravesar la BHE. Sin embargo, p-etilfenol al contrario de la galantamina y la tacrina no es sustrato de la gp-P por lo que se podría inferir que el tiempo de reacción, absorción y biodisponibilidad farmacocinética podría superar al que presenta las moléculas control.
- Los metabolitos analizados presentan baja permeabilidad en la piel, por lo cual no podrían ser administrados por vía tópica.
- p-etilfenol presenta características fisicoquímicas favorables en cuanto que no presenta ninguna violación a las reglas de Lipinski, por lo cual, constituye una línea base en la producción de fármacos.
- p-etilfenol y 5 hidroxi-equol son inactivos como sustancias hepatotóxicas, carcinogénicas, inmunotóxicas, mutagénicas y citotóxicas.
- p-etilfenol presenta capacidad de atravesar la BHE lo que podría indicar una característica de neuroprotección frente la EA, sin embargo, es necesario profundizar en análisis que permitan comprobar su carácter de neuroprotección.
- p-etilfenol presenta 50% de probabilidad de no cardiotoxicidad, por lo cual es importante realizar estudios que profundicen en su actividad frente a la contribución del bloqueo de hERG.

- Es necesario destacar la importancia de las investigaciones in silico ya que los análisis computacionales permiten ahorrar costos y tiempo al momento de predecir el comportamiento de una molécula dentro del organismo.

10.RECOMENDACIONES

Incentivar investigaciones que utilicen las herramientas bioinformáticas, para dar soluciones pronosticas ahorrando dinero, tiempo e insumos.

Impulsar procesos que impliquen la adquisición de herramientas con mayor capacidad computacional en as que sea posible abarcar a profundidad investigaciones mas robustas que tenga en cuenta los resultados alcanzados en etapas iniciales.

REFERENCIAS

- Abreu, G. S. A., J. M. B. Armas and R. C. J. R. E. d. G. y. G. Fuentes (2018). "Terapias antienviejecimiento aplicadas a la enfermedad de Alzheimer." **53**(DOSKOTCH, et al.): 45-53.
- ANSELMO, C., V. BARRIOS, B. CABRAL, M. CATEURA, P. GEROSA, N. GORIA, L. LEWIS, V. LUCERO, M. MALLO and I. J. R. A. E. M. TERES (2021). "Dieta vegana y equilibrio hormonal." **58**: 2.ANTINUTRIENTES Y REGULADORES, facultad de medicina valladolid.
- Apolinario Alvarado, G. I. and M. D. Erazo Ontaneda (2020). Evaluación de los parámetros fitoquímicos, farmacognósticos y actividad antioxidante de las semillas del arazá (Eugenia stipitata), Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.
- Arrechea, S. M., A. F. Uriguen, I. B. Telleria, J. G. Bueno, J. A. Trueba and D. S. J. R. E. d. G. y. G. Sánchez (2021). "Prevalencia de prescripción de fármacos con carga anticolinérgica/sedante en adultos mayores institucionalizados con demencia." **56**(DOSKOTCH, et al.): 11-17.
- B Gencel, V., M. M Benjamin, S. N Bahou and R. J. M. r. i. m. c. A Khalil (2012). "Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease." **12**(2): 149-174.
- Banerjee, P., V. B. Siramshetty, M. N. Drwal and R. J. J. o. c. Preissner (2016). "Computational methods for prediction of in vitro effects of new chemical structures." **8**(DOSKOTCH, et al.): 1-11.
- Banerjee, Priyanka, et al. 2018 ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. 46(W1):W257-W263.
- Bautista Ruiz, L. (2020). "Enfermedad de Alzheimer: tratamientos farmacológicos y no farmacológicos."
- BELTRÁN, CARLOS %J Revista chilena de infectología 2004 Farmacocinética y farmacodinamia de antimicrobianos: Utilidad práctica. 21:39-44.
- Bernacki, J., A. Dobrowolska, K. Nierwinska and A. J. P. r. Malecki (2008). "Physiology and pharmacological role of the blood-brain barrier." **60**(5): 600-622.
- Bonilla, C. A. J. R. C. d. O. y. G. (2004). "Isoflavones in gynecology, non conventional therapy." **55**(3): 209-217.
- Braga, Rodolpho C, et al.2015 Pred-hERG: A novel web-accessible computational tool for predicting cardiac toxicity. 34(10):698-701.
- Braga, Rodolpho C, et al.2015. Pred-hERG: A novel web-accessible computational tool for predicting cardiac toxicity. 34(10):698-701.
- Bravo, J. M., M. Ayuso, R. Holzmann, E. J. I. M. Palmer and Economics (2021). "Addressing the life expectancy gap in pension policy." **99**: 200-221.
- Carranza, J. A. S. J. F.-F. M. C. e. A. P. (2021). "Los disruptores endocrinos: un problema creciente pero desconocido para la mayoría de los sanitarios." **28**(3): 143-150.
- Castelló Ruiz, M. (2010). Estudio del potencial efecto neuroprotector de fitoestrógenos en el ictus isquémico de rata.
- Castillo, W. O., N. V. Palomino, C. S. Takahashi and S. J. N. R. Giuliatti (2020). "Genistein and galantamine combinations decrease β -amyloid peptide (1–42)–induced genotoxicity and cell

- death in SH-SY5Y cell line: an in vitro and in silico approach for mimic of Alzheimer's Disease." **38**(3): 691-706.
- Castillo-Ordóñez, W. O., E. R. Tamarozzi, G. M. Da Silva, A. F. Aristizabal-Pachón, E. T. Sakamoto-Hojo, C. S. Takahashi and S. J. N. r. Giuliatti (2017). "Exploration of the acetylcholinesterase inhibitory activity of some alkaloids from Amaryllidaceae family by molecular docking in silico." **42**(10): 2826-2830.
- Celis-Orozco, A., G. Gabriel-Ortiz and M. A. J. G. M. M. Zavala-González (2018). "Mortalidad por enfermedad de Alzheimer en México de 1980." **154**: 550-554.
- Cendales, L. V. R. and H. J. D. J. D. Silva (2011). "Fitoestrogenos: una alternativa en terapia de reemplazo hormonal." **8**(DOSKOTCH, et al.): 84-89.
- Cervantes, C. M., A. M. Alvarado, S. A. Navarro, P. A. Ávila, L. G. Gutiérrez, S. J. Arellano and J. Á. J. N. Funes (2017). "Factors associated with mixed dementia vs Alzheimer disease in elderly Mexican adults." **32**(5): 309-315.
- Chacín, Y. J. F., A. M. Acuña, J. J. C. Mendoza and J. R. M. J. R. C. U. A. Natera (2013). "Constituyentes químicos de las hierbas y especias: Efectos sobre la salud humana." **13**(DOSKOTCH, et al.): 1-16.
- Chávez-Pérez, C., A. Ceballos-Ramírez and A. J. R. E. d. G. y. G. Suárez-Castro (2021). "Efectos del uso del 17 β -estradiol y la genisteína en la enfermedad de Alzheimer en mujeres con menopausia."
- Choque, Rigoberto, and Jorge %J Revista con-ciencia Nogales. 2019
- Cóppola, F., J. Nader and R. J. R. m. d. U. Aguirre (2005). "Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama." **21**(DOSKOTCH, et al.): 15-22.
- Correa Sánchez, Andrés Leonardo. 2021. Interacción farmacológica del transportador de membrana ABCG2 con el antitumoral afatinib: importancia en la multirresistencia a fármacos.
- Daina, A. and V. J. C. Zoete (2016). "A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules." **11**(11): 1117.
- Daina, A., O. Michielin and V. J. S. r. Zoete (2017). "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules." **7**(DOSKOTCH, et al.): 1-13.
- Daina, A., O. Michielin, and V. Zoete. 2017 SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep 7:42717.
- Davis, S. R., F. S. Dalais, E. R. Simpson and A. L. J. R. p. i. h. r. Murkies (1999). "Phytoestrogens in health and disease." **54**: 185-210; discussion 210.
- de Campos Bortolucci, W., J. R. Trettel, D. M. Bernardi, M. M. Q. Souza, A. D. Lopes, E. C. W. Lovato, F. A. dos Reis Lívero, G. J. da Silva, H. M. Magalhães and S. G. H. J. B. L. y. d. C. d. P. M. y. A. de Souza (2020). "Potencial terapéutico de Zingiberaceae en la enfermedad de Alzheimer." **19**(5): 428-465.
- de Jonge, M. M., C. D. de Kroon, D. J. Jenner, J. Oosting, J. A. de Hullu, M. J. Mourits, E. B. G. Garcia, M. G. Ausems, J. M. Collée and K. J. J. J. o. t. N. C. I. van Engelen (2021). "Endometrial cancer risk in women with germline BRCA1 or BRCA2 mutations: Multicenter cohort study."

- de Lange, A. M. G., C. Barth, T. Kaufmann, I. I. Maximov, D. van der Meer, I. Agartz and L. T. J. H. b. m. Westlye (2020). "Women's brain aging: Effects of sex-hormone exposure, pregnancies, and genetic risk for Alzheimer's disease." **41**(18): 5141-5150.
- Delgado Minjares, Karen Michelle 2022 Envío dirigido de nanopartículas de hGDNF a neuronas dopaminérgicas nigrales por vía sistémica en ratas parkinsonianas con agregados de α -sinucleína, Tesis (MC)--Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN
- Del-Nero, Iraida Morales. 2020 TRABAJO FIN DE GRADO TÍTULO: SOLUBILIDAD DE ANESTÉSICOS INHALATORIOS, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE.
- Díaz Díaz, C. A., O. F. Méndez Soto and J. A. Quijano López (2020). Plan de marketing para el lanzamiento de la nueva bebida funcional "Isofruit" de la empresa Karpos SAS en la ciudad de Bogotá, Universidad Ean.
- Díaz-Yamal, I. and L. J. R. C. d. O. y. G. Munévar-Vega (2009). "Fitoestrógenos: revisión de tema." **60**(3): 274-280.
- Domínguez, A., A. Álvarez, B. Suárez-Merino and F. J. R. N. Goñi-de-Cerio (2014). "Afecciones neurológicas y barrera hematoencefálica. Limitaciones y estrategias para la liberación de fármacos al cerebro." **58**(5): 213-224.
- Donoso, A. J. R. c. d. n.-p. (2003). "La enfermedad de Alzheimer." **41**: 13-22.
- DOSKOTCH, RAIMOND W, et al. 2022 ÍNDICE ANALÍTICO XIII.
- Durán, Fausto Rojas, et al. 2011 El receptor a andrógenos en la fisiopatología prostática. 2(4):1-15.
- Edey, K. A., S. Rundle and M. J. C. D. o. S. R. Hickey (2018). "Hormone replacement therapy for women previously treated for endometrial cancer." (5).
- Espitia-De-La-Hoz, F. J. J. R. C. d. O. y. T. (2021). "Osteoporosis en mujeres en climaterio, prevalencia y factores de riesgo asociados."
- Esteba i Castillo, S. and J. Peña-Casanova (2015). Neuropsicología del trastorno del desarrollo intelectual con y sin origen genético, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Estudio de propiedades moleculares del glifosato usando métodos químico-cuánticos computacionales. 7 41-56.
- Falcón, J. C. E. J. R. C. d. M. G. I. (2020). "Factores de riesgo asociados a pacientes con enfermedad de Alzheimer y sus cuidadores principales." **36**(DOSKOTCH, et al.): 1-18.
- Feitoza, L. Q., F. de Souza Terra and C. d. S. M. J. R. B. d. C. Grasselli (2021). "Plantas Mediciniais e seus Compostos com Potencial Terapêutico no Tratamento do Câncer: Revisão Integrativa." **67**(DOSKOTCH, et al.).
- Ferreiro Pantín, M. (2020). "Caracterización de las diferencias de sexo en la enfermedad de Alzheimer desde una perspectiva ómica."
- Ferri, C. P., M. Prince, C. Brayne, H. Brodaty, L. Fratiglioni, M. Ganguli, K. Hall, K. Hasegawa, H. Hendrie and Y. J. T. I. Huang (2005). "Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study." **366**(9503): 2112-2117.
- Fillit, H. and A. J. N. R. N. Green (2021). "Aducanumab and the FDA—where are we now?": 1-2.
- Fontán, L. J. B. (2012). "La Enfermedad de Alzheimer: elementos para el diagnóstico." **7**(DOSKOTCH, et al.): 34-43.

- Frigo, M., E. de Barros, P. Dos Santos, G. Peres, J. Weber, C. Zanelatto and E. J. J. o. t. A. C. o. N. Koehnlein (2021). "Effects of a Cereal Bar with a Combination of Phytoestrogens on the Climacteric Symptoms: A Placebo-Controlled, Randomized Trial." 1-8.
- Fukutake, M., M. Takahashi, K. Ishida, H. Kawamura, T. Sugimura, K. J. F. Wakabayashi and c. Toxicology (1996). "Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products." **34**(5): 457-461.
- Galende, A. V., M. E. Ortiz, S. L. Velasco, M. L. Luque, C. L. d. S. de Miguel and C. P. J. N. Jurczynska (2017). "Informe de la Fundación del Cerebro. Impacto social de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias."
- García Gutiérrez, M. S. (2021). "NUEVAS DIANAS FARMACOLOGICAS EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER."
- Ghanbari Gohari, F. and M. J. I. J. o. N. S. Akhlaghi (2018). "The Effect of Phytoestrogens on Cognitive Function and Alzheimer's Disease." **3**(4): 172-176.
- Gil Luque, S. (2020). "Descripción de una muestra de pacientes con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) y Enfermedad de Alzheimer (EA): perfil clínico y neuropsicológico."
- González Cañete, N., & Durán Agüero, S. (2014). Isoflavonas de soya y evidencias sobre la protección cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 29(6), 1271-1282.
- Goyal, A., J. K. Gupta, D. J. R. J. o. P. Garabadu and Technology (2021). "Phytoestrogens are emerging medicine in Prevention and Management of Cognitive deficits in Postmenopausal Women." **14**(DOSKOTCH, et al.): 513-515.
- Granja del Río, Alejandra. 2013 Estudio electrofisiológico de canales Herg en células de cáncer de colón.
- Gupta, S., W. N. J. J. o. t. S. o. F. Chen and Agriculture (2021). "A metabolomics approach to evaluate post-fermentation enhancement of daidzein and genistein in a green okara extract."
- Haeberer, M., I. Noguer and O. J. J. R. P. d. S. P. Mújica (2015). "Desigualdades educacionales en mortalidad y supervivencia de mujeres y hombres de las Américas, 1990-2010." **38**: 89-95.
- Hassumi, J. S. (2021). "Avaliação do efeito sinérgico entre Risedronato sistêmico e Genisteína local sobre o reparo peri-implantar em ratas com deficiência de estrógeno e síndrome metabólica."
- Hay, M., D. W. Thomas, J. L. Craighead, C. Economides and J. J. N. b. Rosenthal (2014). "Clinical development success rates for investigational drugs." **32**(DOSKOTCH, et al.): 40-51.
- Heinze, G. J. S. M. (1999). "La búsqueda de causas y tratamiento en la enfermedad de Alzheimer." **22**(5): 3-5.
- Hernández, Diego Rodríguez. 2020 COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA SOJA:
- HERRERA, D. S. N. (2021). "Búsqueda in silico de compuestos con actividad antipsicótica: antagonistas de los receptores dopaminérgicos."
- Holmager, T. L., L. Thygesen, L. T. Buur and E. J. B. p. h. Lynge (2021). "Emergence of a mortality disparity between a marginal rural area and the rest of Denmark, 1968-2017." **21**(DOSKOTCH, et al.): 1-11.
- Ilieva, Y, et al. 2018 In silico ADME and drug-likeness evaluation of a series of cytotoxic polyprenylated acylphloroglucinols, isolated from *Hypericum annulatum* Morris subsp. *annulatum*. 50:193-199.

- James, B. D. and D. A. J. A. r. o. p. h. Bennett (2019). "Causes and patterns of dementia: an update in the era of redefining Alzheimer's disease." **40**: 65-84.
- Jiménez-Martínez, M.-J. (2017). "Diseño de un Programa de Prevención de Accidentes Domésticos para cuidadoras familiares de personas afectadas por Demencia/Enfermedad de Alzheimer."
- Juliá, M Dolores, et al. 2008 Posicionamiento de la Asociación Española para el Estudio de la Menopausia sobre el uso clínico de las isoflavonas en el climaterio. **51(3)**:146-161.
- Kwak, H. S., S. Y. Park, M. G. Kim, C. H. Yim, H. K. Yoon and K. O. J. J. o. K. m. s. Han (2009). "Marked individual variation in isoflavone metabolism after a soy challenge can modulate the skeletal effect of isoflavones in premenopausal women." **24(5)**: 867-873.
- Lam-Cabanillas, E., A. León-Risco, K. León-Risco, G. Llamo-Hoyos, R. López-Zavaleta, E. Luzuriaga-Tirado, A. Mendoza-Blas and J. J. R. d. I. F. d. M. H. Huamán-Saavedra (2021). "Bases moleculares de la patogénesis de Covid-19 y estudios in silico de posibles tratamientos farmacológicos." **21(2)**: 417-432.
- Langer, R., H. Hodis, R. Lobo and M. J. C. Allison (2021). "Hormone replacement therapy—where are we now?": 1-15.
- Lanusse, Carlos E, et al. 2005 Implicancias fisis-farmacológicas de la glicoproteína-P en animales domésticos. 25.
- Laura María, M. I., R. M. Mayra Fernanda, M. B. Esther María, F. B. Susana and P. F. Abel (2021). Enfermedad de Alzheimer. aniversariocimeq2021.
- Levine, A. J., J. Sutton, E. J. Singer and K. J. J. S. c. Miller (2008). "Terapia de reemplazo hormonal y riesgo de enfermedades neurodegenerativas." 148-155.
- Levy-Lahad, E., T. D. J. A. o. N. O. J. o. t. A. N. A. Bird and t. C. N. Society (1996). "Genetic factors in Alzheimer's disease: a review of recent advances." **40(6)**: 829-840.
- Llibre Rodríguez, J. d. J. and M. A. J. R. C. d. M. Guerra Hernández (1999). "Enfermedad de Alzheimer: Situación actual y estrategias terapéuticas." **38(2)**: 134-142.
- Lluesma-Vidal, M., C. Ruiz-Zaldibar, L. García-Garcés, J. Izquierdo-Gonzalvo and M. I. J. G. Sánchez-López (2021). "Autopercepción del estado de salud como indicador de la calidad de vida de los pacientes con deterioro cognitivo en función de su lugar de residencia: domicilio versus centro sociosanitario." **32(DOSKOTCH, et al.)**: 2-7.
- López López, M. Y. (2021). Directrices para el desarrollo de la interfaz gráfica de un sistema e-Health que facilite la visualización e interpretación de los datos relativos a los pródromos de episodios en pacientes con Alzheimer, Universidad Autónoma Metropolitana (México). Unidad Azcapotzalco
- López, A., M. D. Santos and M. J. J. F. García (2017). "Modelos "in silico" para la predicción de la absorción de fármacos administrados por vía oral (SIMCYP®): estatinas." **2(2)**: 69-79.
- Löscher, W. and H. J. N. Potschka (2005). "Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family." **2(DOSKOTCH, et al.)**: 86-98.
- Luchsinger, J. A. and R. J. T. L. N. Mayeux (2004). "Dietary factors and Alzheimer's disease." **3(10)**: 579-587.
- Ludueña, B., C. Mastandrea, C. Chichizola and M. J. B. y. P. C. Franconi (2007). "Isoflavonas en soja, contenido de daidzeína y genisteína y su importancia biológica." **71(DOSKOTCH, et al.)**: 54-66.

- Maguiña-Alfaro, M., S. Suárez-Cunza, L. Salcedo-Valdez, M. Soberón-Lozano, K. Carbonel-Villanueva and R. J. R. P. d. M. E. y. S. P. Carrera-Palao (2021). "Rol antioxidante de la L-carnitina en un modelo experimental de estrés oxidativo inducido por consumo elevado de fructosa." **37**: 662-671.
- Mahendra, N. J. E.-b. H. (2004). "Exercise and behavioural management training improves physical health and reduces depression in people with Alzheimer's disease." **8**(2): 77-79.
- Marín Serna, A. I. and N. Osorio Quintero (2020). "Factores asociados al desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer: perspectivas epigenéticas. Revisión sistemática."
- Marín Serna, Alejandra Isabel, and Natalia Osorio Quintero 2020 Factores asociados al desarrollo de la Enfermedad de Alzheimer: perspectivas epigenéticas. Revisión sistemática.
- Markesbery, W. R. J. F. R. B. and Medicine (1997). "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease." **23**(DOSKOTCH, et al.): 134-147.
- Martin, Yvonne C %J Journal of medicinal chemistry 2005 A bioavailability score. 48(9):3164-3170.
- Martínez Díaz, J. A. (2021). "Efecto del citalopram, nimesulida y resveratrol sobre la hiperfosforilación de la proteína TAU y la expresión de la proteína precursora de β amiloide, bajo acción del LPS en células C6."
- Matthews, F. E., A. Arthur, L. E. Barnes, J. Bond, C. Jagger, L. Robinson, C. Brayne, M. R. C. C. Function and A. C. J. T. Lancet (2013). "A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II." **382**(9902): 1405-1412.
- Maziasz, T., V. J. Kadambi, L. Silverman, E. Fedyk and C. J. T. p. Alden (2010). "Predictive toxicology approaches for small molecule oncology drugs." **38**(DOSKOTCH, et al.): 148-164.
- Miró Fuentes, Y. (2021). "Beneficios de la musicoterapia en enfermos con Alzheimer."
- Montero, A Alcántara, and SR Pacheco %J Revista Española de Anestesiología y Reanimación de Vasconcelos 2022 Papel de vortioxetina en el tratamiento del dolor neuropático. 69(10):640-648.
- Morales-Olivas, Francisco J, and Luis %J Medicina clínica Estañ 2006 Interacciones medicamentosas. Nuevos aspectos. 127(7):269-275.
- Moreno Vico, M. I. (2021). "CALIDAD DE VIDA ESPECÍFICA DE LA MENOPAUSIA Y SU ASOCIACIÓN CON LA FUERZA MUSCULAR Y LA MOVILIDAD FUNCIONAL."
- Nguyen, T. P. P., D. S. Abraham, D. Thibault, D. Weintraub and A. W. Willis (2021). "Low Persistence of Antipsychotic Therapy in Parkinson Disease—Intolerance, Ineffectiveness, or Inertia?"
- Niedermaier, T., T. Gredner, S. Kuznia, B. Schöttker, U. Mons and H. J. M. o. Brenner (2021). "Vitamin D supplementation to the older adult population in Germany has the cost-saving potential of preventing almost 30 000 cancer deaths per year."
- Olmo Martín, S. M. d. (2020). "Nanomateriales dirigidos al sistema nervioso central (SNC). Contribución de la nanotecnología al desarrollo de sistemas de administración de fármacos al cerebro."
- Ortiz González, Matilde 2022 Nuevo fármacos producidos por microorganismos del suelo y generación de un transportador dirigido por nanoanticuerpos.
- Osorio, Liliana, et al. 2019 Relevancia clínica de las interacciones medicamentosas en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana: actualización 2015-2017. 36(4):475-489.

- Ovares, J. E. P., F. d. J. P. Parra and J. R. J. R. M. S. Rivera (2021). "Comparison of a palliative model and geriatric model in the quality of death in a population of a home visitation program with advanced dementia." **6**(03): 1-12.
- Pacheco Capcha, K. B. (2021). "Caracterización In silico y clonación del gen Aspartil Aminopeptidasa a partir de datos NGS (next generation sequencing) del halófilo moderado Chromohalobacter salexigens MP25462."
- Pardridge, W. M. J. D. d. t. (2007). "Blood–brain barrier delivery." **12**(1-2): 54-61.
- Peña, J. M. R. (2020). Síntesis y evaluación de nuevas moléculas multidiana en la prevención de enfermedades degenerativas, Universidad de Sevilla.
- PERALTA, L. D. (2021). "Síntesis de triazoles 1, 4-y 1, 5-disustituidos como análogos de GABA."
- Peralta, M. J. R. M. C. C. (2006). "Terapia de reemplazo hormonal en la menopausia y riesgo de cáncer de mama." **17**(4): 179-185.
- Perez-Martin, M., V. Salazar, C. Castillo, C. Ariznavarreta, I. Azcoitia, L. M. Garcia-Segura and J. A. J. E. g. Tresguerres (2005). "Estradiol and soy extract increase the production of new cells in the dentate gyrus of old rats." **40**(5): 450-453.
- Pierzynowska, K., M. Podlacha, L. Gaffke, I. Majkutewicz, J. Mantej, A. Węgrzyn, M. Osiadły, D. Myślińska and G. J. N. Węgrzyn (2019). "Autophagy-dependent mechanism of genistein-mediated elimination of behavioral and biochemical defects in the rat model of sporadic Alzheimer's disease." **148**: 332-346.
- Pinkerton, J. V. J. N. E. J. o. M. (2020). "Hormone therapy for postmenopausal women." **382**(5): 446-455.
- Potts, Russell O, and Richard H %J Pharmaceutical research Guy 1992 Predicting skin permeability. 9:663-669.
- Preedy, V. R. (Ed.). (2013). Isoflavones: chemistry, analysis, function and effects (No. 5). Royal Society of Chemistry. Pp136
- Qiu, C., D. De Ronchi and L. J. C. o. i. p. Fratiglioni (2007). "The epidemiology of the dementias: an update." **20**(4): 380-385.
- Quiñones, Luis, et al. 2008 Papel de las enzimas citocromo p450 en el metabolismo de fármacos antineoplásicos: Situación actual y perspectivas terapéuticas. 136(10):1327-1335.
- Ragaz, J., S. Shakeraneh, H. Qian, H. Wong, J. J. Spinelli and K. S. Wilson (2021). Abstract PS7-05: Estrogen-based hormone replacement therapy [E-HRT] reduces all-cause, breast cancer, and Alzheimer's dementia mortality, AACR.
- Ramirez Reyes, G. F. (2019). "Estrategias en el diseño de fármacos."
- Reichel, A. J. C. and biodiversity (2009). "Addressing central nervous system (CNS) penetration in drug discovery: basics and implications of the evolving new concept." **6**(11): 2030-2049.
- Ren, B., Y. Liu, Y. Zhang, Y. Cai, X. Gong, Y. Chang, L. Xu and J. J. A. c. n. Zheng (2018). "Genistein: a dual inhibitor of both amyloid β and human islet amylin peptides." **9**(5): 1215-1224.
- Roberts-Kirchhoff, E. S., J. R. Crowley, P. F. Hollenberg and H. J. C. r. i. t. Kim (1999). "Metabolism of genistein by rat and human cytochrome P450s." **12**(7): 610-616.
- Rodríguez González, J. C. and I. J. R. C. d. F. Rodeiro Guerra (2014). "El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos." **48**(3): 495-507.
- Romano, M., M. D. Nissen, N. Del Huerto and C. J. R. d. p. d. l. v. c. d. m. Parquet (2007). "Enfermedad de alzheimer." **75**: 9-12.

- Roqué-Fíguls, M., I. Solà-Arnau, K. Salas-Gama and C. Requeijo-Lorenzo (2018). "Eficacia, seguridad y utilidad de la genisteína en pacientes con síndrome de Sanfilippo."
- Rowland, I. (Ed.). (2012). Role of the gut flora in toxicity and cancer. Elsevier.
- Salas, B. L. J. P. G. (2021). "Sociología del envejecimiento poblacional y la demencia." 30.
- Salas, K. B. J. R. M. S. (2016). "Terapia de reemplazo hormonal en relación a la enfermedad de alzheimer." **1**(12): 15-20.
- Saldívar-González, F., F. D. Prieto-Martínez and J. L. J. E. q. Medina-Franco (2017). "Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional." **28**(DOSKOTCH, et al.): 51-58.
- Sandoval, M. J., S. B. Cepeda and V. L. J. A. o. Massheimer (2020). "Rol de los fitoestrógenos en la calcificación vascular e interacciones óseo-vasculares." 140-153.
- Sanin, Y. Y. L., M. T. G. Gómez and A. M. T. J. R. F. N. d. A.-M. Morales (2010). "Efectos de los fitoestrógenos en la reproducción animal." **63**(2): 5555-5565.
- Santiesteban Ibarquen, Jhon Alvaro 2022. Anticonceptivos hormonales orales en la salud sexual y reproductiva: beneficios y eventos adverso.
- Savjani, Ketan T, Anuradha K Gajjar, and Jignasa K %J International Scholarly Research Notices Savjani 2012. Drug solubility: importance and enhancement
- Schmidt, C. W. (2009). TOX 21: new dimensions of toxicity testing, National Institute of Environmental Health Sciences.
- Schwartz, D. B., A. Barrocas, M. G. Annetta, K. Stratton, C. McGinnis, G. Hardy, T. Wong, D. Arenas, M. P. Turon-Findley and R. G. J. N. i. c. p. Kliger (2021). "Ethical Aspects of Artificially Administered Nutrition and Hydration: An ASPEN Position Paper." **36**(2): 254-267
- Semeniuk, Mariana. 2022 Regulación de P-glicoproteína (P-gp) hepática e intestinal por genisteína (GNT) en un modelo in vivo. Implicancias en la tóxico-farmacología de sus sustratos.
- Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Imran, M., Rauf, A., Nadeem, M., Gondal, T. A., ... & Calina, D. (2021). Genistein: an integrative overview of its mode of action, pharmacological properties, and health benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.
- Si, H. and D. J. C. m. c. Liu (2007). "Phytochemical genistein in the regulation of vascular function: new insights." **14**(24): 2581-2589.
- Siow, R. C. and G. E. J. M. A. o. M. Mann (2010). "Dietary isoflavones and vascular protection: activation of cellular antioxidant defenses by SERMs or hormesis?" **31**(6): 468-477.
- Sirotkin, A. V., S. H. Alwasel and A. H. J. P. Harrath (2021). "The Influence of Plant Isoflavones Daidzein and Equol on Female Reproductive Processes." **14**(4): 373.
- Song, Y.-j., S.-r. Li, X.-w. Li, X. Chen, Z.-x. Wei, Q.-s. Liu and Y. J. F. i. n. Cheng (2020). "The effect of estrogen replacement therapy on Alzheimer's disease and Parkinson's disease in postmenopausal women: a meta-analysis." **14**: 157.
- Sperling, R. A., P. S. Aisen, L. A. Beckett, D. A. Bennett, S. Craft, A. M. Fagan, T. Iwatsubo, C. R. Jack Jr, J. Kaye, T. J. J. A. s. Montine and dementia (2011). "Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease." **7**(3): 280-292.
- Stefany, H. A., O. Q. Yemima, P. F. Julitza, C. C. José, V. S. José, N. M. Rita and V. L. J. V. Karin (2020). "Desenvolvimiento y validación de métodos bioanalíticos por HPLC-DAD para la

- cuantificación de fenitoína e inhibidores de la Glicoproteína-P (elacridar y tariquidar) en plasma." **21**(DOSKOTCH, et al.): 105-111.
- Szakács, Gergely, et al. 2008. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). **13**(9-10):379-393.
- Tamayo, A. E. I., C. H. Pérez and J. J. G. J. d. a. Tejada (2020). "Tratamientos paliativos en la enfermedad de Alzheimer." **59**(275): 1-6.
- Tolleson, W. H., Doerge, D. R., Churchwell, M. I., Marques, M. M., & Roberts, D. W. (2002). Metabolism of Biochanin A and Formononetin by Human Liver Microsomes in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(17), 4783–4790.
doi:10.1021/jf025549r
- Tomaru, U., T. Ito, Y. Ohmura, K. Higashikawa, S. Miyajima, R. Tomatsu, T. Higashi, A. Ishizu, Y. Kuge and M. J. T. A. J. o. P. Yoshioka (2021). "Decreased Proteasomal Function Induces Neuronal Loss and Memory Impairment." **191**(DOSKOTCH, et al.): 144-156.
- Trujillo-Martínez, Miguel, et al. 2021. Farmacogenética en el cáncer de mama: implicaciones de los genes del citocromo p450 en la supervivencia libre de la enfermedad en las mujeres jóvenes.
- Trullen, J. M. P. (2007). "The description of Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's disease." REV ESP PATOL **40**(DOSKOTCH, et al.): 60-65.
- Tsoutsoulopoulos, Amelie, et al. 2020. Comparison of the toxicity of sulfur mustard and its oxidation products in vitro. **321**:69-72.
- Uddin, M. S., M. M. Rahman, M. Jakaria, M. S. Rahman, M. S. Hossain, A. Islam, M. Ahmed, B. Mathew, U. M. Omar and G. E. J. M. n. Barreto (2020). "Estrogen signaling in Alzheimer's disease: molecular insights and therapeutic targets for Alzheimer's dementia." **57**(6): 2654-2670.
- Vargas Monge, R. and J. J. A. p. Soley Casales (2021). "Modulación Alostérica Positiva selectiva para el receptor muscarínico M1: descubrimiento y desarrollo del compuesto VU0486846 y su importancia para el desarrollo terapéutico de tratamientos para el Alzheimer y la Esquizofrenia." **90**-111.
- Vasconcelos, D. J. G. m. d. M. (1990). "Enfermedad de Alzheimer." **126**(6).
- Vasconcelos-Filho, F. S. L., L. C. da Rocha Oliveira, T. B. C. de Freitas, P. A. D. S. de Pontes, R. C. da Rocha-E-Silva, E. M. C. Chaves, C. G. L. da Silva, P. M. Soares and V. M. J. L. S. Ceccatto (2021). "Neuroprotective mechanisms of chronic physical exercise via reduction of β -amyloid protein in experimental models of Alzheimer's disease: A systematic review." **119372**.
- Vázquez, L. (2020). "Metabolismo de isoflavonas y formación de equol por bacterias del tracto gastrointestinal humano."
- Vedani, A. and M. J. A. t. L. A. Smiesko (2009). "In silico toxicology in drug discovery—concepts based on three-dimensional models." **37**(5): 477-496.
- Verstuyft, C, L Becquemont, and S %J EMC-Tratado de Medicina Mouly.2022.
Farmacocinética de los medicamentos. **26**(DOSKOTCH, et al.):1-9.
- Villacres, E. H. A., K. X. V. Segovia, G. P. H. Montenegro and N. B. S. J. R. Matute (2020). "Alternativas de cuidado para evitar problemas de cáncer a la piel." **4**(3): 250-260.
- Waliszewski, K. N. and G. J. s. p. d. m. Blasco (2010). "Propiedades nutraceuticas del licopeno." **52**(3): 254-265.

- Wang, P., H. Chen and S. J. C. R. i. T. Sang (2016). "Trapping methylglyoxal by genistein and its metabolites in mice." **29**(3): 406-414.
- Wang, Pei, Huadong Chen, and Shengmin %J Chemical Research in Toxicology Sang. 2016. Trapping methylglyoxal by genistein and its metabolites in mice. 29(3):406-414.
- Wang, Y., J. Xing, Y. Xu, N. Zhou, J. Peng, Z. Xiong, X. Liu, X. Luo, C. Luo and K. J. Q. r. o. b. Chen (2015). "In silico ADME/T modelling for rational drug design." **48**(4): 488-515.
- Wielandt, N Ana María, C Mauricio Moreno, and L Lina %J Revista Médica Clínica Las Condes Ortiz. 2022. Uso de la farmacogenética como herramienta de precisión en psiquiatría: hacia una medicina personalizada. 33(2):163-173.
- Zanetti, O., S. Solerte, F. J. A. o. g. Cantoni and geriatrics (2009). "Life expectancy in Alzheimer's disease (AD)." **49**: 237-243.
- Zárate, A., M. Hernández-Valencia, R. Saucedo, L. Basurto and L. M. J. R. M. d. I. M. d. S. S. Apolinara (2014). "Posición actual sobre el uso de estrógenos en la mujer durante el climaterio." **52**(DOSKOTCH, et al.): 66-69.
- Zhang, Y., J. D. Schuetz, W. F. Elmquist, D. W. J. J. o. P. Miller and E. Therapeutics (2004). "Plasma membrane localization of multidrug resistance-associated protein homologs in brain capillary endothelial cells." **311**(2): 449-455.
- Zhou, C., Q. Wu, Z. Wang, Q. Wang, Y. Liang, S. J. A. J. o. A. s. D. Liu and O. Dementias® (2020). "The Effect of Hormone Replacement Therapy on Cognitive Function in Female Patients With Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis." **35**: 1533317520938585.