

## Modelado *in silico* de la inhibición de la acetilcolinesterasa por derivados del ácido cafeico

*In silico modeling of acetylcholinesterase inhibition by caffeic acid derivatives*

**Inti Llumiquinga<sup>1</sup>, Ana Bravo<sup>2</sup>, Julio Rea<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0009-0005-4450-2218>

<sup>2</sup> Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0000-0003-4772-6098>

<sup>3</sup> Universidad Regional Amazónica Ikiam. <https://orcid.org/0000-0001-9877-3279>

Autor de correspondencia: [inti.llumiquinga@est.ikiam.edu.ec](mailto:inti.llumiquinga@est.ikiam.edu.ec)

DOI: <https://doi.org/10.63804/CIBEN.25.bbfs.e10>

### Resumen

La enfermedad del Alzheimer (EA) se caracteriza por la progresiva neurodegeneración que afecta principalmente a adultos mayores a nivel global. Aunque aún no existe una cura, las terapias actuales se dirigen a enzimas clave involucradas en la fisiopatología de la EA, como la acetilcolinesterasa (AChE), cuya inhibición mejora la neurotransmisión colinérgica. Los fármacos disponibles actúan mediante este mecanismo, pero presentan importantes limitaciones en eficacia y efectos secundarios. Por tanto, este estudio tiene como objetivo evaluar la inhibición *in silico* entre los derivados del ácido cafeico (AC) y la enzima AChE. Para realizar esta investigación, se empleó el software AutoDock Vina para el acoplamiento molecular entre la enzima AChE (PDB: 4MOE) y AC obtenidos de la base de datos PubChem. Los resultados mostraron interacciones con aminoácidos clave para la inhibición de AChE. En conclusión, estos resultados proporcionan bases teóricas para estudios *in vitro* e *in vivo* orientados al diseño de inhibidores mixtos de AChE derivados de compuestos fenólicos.

Palabras clave: Alzheimer; Acetilcolinesterasa; Derivados de ácidos cafeicos; Docking Molecular.

### Abstract

Alzheimer's disease (AD) is characterized by progressive neurodegeneration that primarily affects older adults worldwide. Although no cure currently exists, present therapies target key enzymes involved in AD pathophysiology, such as acetylcholinesterase (AChE), whose inhibition enhances cholinergic neurotransmission. Available drugs act via this mechanism

but exhibit important limitations in efficacy and adverse effects. Therefore, this study aims to evaluate, *in silico*, the inhibition between caffeic acid (CA) derivatives and the AChE enzyme. To conduct this research, AutoDock Vina was used for molecular docking between AChE (PDB: 4MOE) and CA derivatives obtained from the PubChem database. The results showed interactions with amino acid residues critical for AChE inhibition. In conclusion, these findings provide a theoretical basis for subsequent *in vitro* and *in vivo* studies aimed at the design of mixed AChE inhibitors derived from phenolic compounds.

Keywords: Alzheimer's disease; Acetylcholinesterase (AChE); Caffeic acid derivatives; Molecular docking.

## **Introducción**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2021 se registraron alrededor de 57 millones de personas con demencia a nivel mundial. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia, representando entre el 60% y el 70% de los casos, y afecta principalmente a las mujeres, tanto de manera directa como indirecta. Actualmente, la EA constituye la séptima causa de defunción y una de las principales causas de discapacidad y dependencia en personas mayores.

En términos económicos, su costo global ascendió a 1,3 billones de dólares en 2019, y se estima que para 2050 el número de personas afectadas podría alcanzar los 139 millones, junto con un incremento significativo en los costos de atención y recursos humanos necesarios para su cuidado (OMS, 2021; OMS, 2025).

Desde su identificación en la década de 1970, la enfermedad de Alzheimer (EA) ha sido objeto de múltiples investigaciones orientadas a comprender su compleja fisiopatología. Inicialmente, se observó una pérdida prematura de neuronas en el prosencéfalo basal, asociada con la acumulación de placas de  $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ) y la hiperfosforilación de la proteína tau. A pesar de los esfuerzos por desarrollar terapias dirigidas a estos mecanismos, los ensayos clínicos de fase avanzada no mostraron resultados satisfactorios, lo que llevó a la búsqueda de nuevos enfoques.

Por ello, actualmente su tratamiento se enfoca en la hipótesis colinérgica, la cual plantea que la EA se relaciona con una disminución en la neurotransmisión colinérgica, especialmente por la reducción de los niveles de acetilcolina (ACh). La inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) puede favorecer la comunicación sináptica al prolongar la acción de la ACh en los receptores postsinápticos (Marucci et al., 2021).

El tratamiento de la EA se centra en controlar los síntomas mediante una combinación de fármacos y cambios en el estilo de vida. Entre los medicamentos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA), se encuentran inhibidores sintéticos, productos naturales, anticuerpos monoclonales. Entre los efectos adversos más frecuentes se incluyen manifestaciones derivadas de la sobreactivación del sistema nervioso parasimpático, como hipersalivación, lagrimeo, micción excesiva, diarrea, hipotensión y vómitos (síndrome SLUDGE). En casos de sobredosificación o exposición prolongada, puede presentarse una crisis colinérgica, caracterizada por debilidad muscular, bradicardia y depresión respiratoria (Dominguez-Gortaire et al., 2025).

Desde una perspectiva bioquímica, la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) depende en gran medida de la afinidad del inhibidor por los dos sitios catalíticos presentes en su estructura: el sitio aniónico o aromático (A) y el sitio esterático (E). El sitio esterático, conformado por los residuos Ser203, His447 y Glu334, constituye la tríada catalítica responsable de la hidrólisis de la acetilcolina (ACh). Por su parte, el sitio aniónico, integrado por Trp86 y Tyr337, participa en la unión inicial del sustrato o del inhibidor mediante interacciones  $\pi$ -catión. Además, la enzima cuenta con un sitio periférico aniónico (PAS), compuesto principalmente por Trp286 y Tyr72, el cual cumple un papel esencial en la guía y orientación del sustrato hacia el centro catalítico. Otros residuos como Phe295 y Phe297 contribuyen a la estabilización del complejo enzima-sustrato durante la unión de la ACh, optimizando su posicionamiento dentro de la cavidad catalítica (Soreq & Seidman, 2001).

### **Preguntas de investigación:**

- A) ¿Existirá un bloqueo estérico en el sitio PAS bloqueando el paso del ligando al sitio activo?
- B) ¿Existirá una competencia de unión al sitio activo catalítico CAS entre el sustrato(ACh)-ligando(AC)?

### **Metodología**

El acoplamiento molecular se realizó en el programa AutoDock Vina entre la enzima acetilcolinesterasa (AChE, PDB: 4MOE) y los compuestos activos (AC) obtenidos de la base de datos PubChem. Los ligandos se prepararon en Avogadro, aplicando el campo de fuerza UFF para su optimización geométrica. La enzima fue modelada en PyMOL y se definió la grilla de acoplamiento tanto en el sitio activo como en toda la superficie enzimática. Finalmente, los resultados se visualizaron y analizaron en Discovery Studio 2021.

## Resultados y Discusión

El análisis de acoplamiento molecular permitió identificar interacciones relevantes entre los compuestos fenólicos evaluados y los residuos catalíticos de la enzima acetilcolinesterasa (AChE, PDB: 4MOE). El ácido 3,4-dicafeoilquínico presentó una energía de acoplamiento de -11.1 kcal/mol, mientras que el 6''-O-cafeoil-dihidrofaseoato glucósido mostró una afinidad de -10.2 kcal/mol, indicando una interacción favorable y potencial capacidad inhibitoria superior a los inhibidores convencionales como tacrina -9,3 kcal/mol (Martínez, 2024).

El ácido 3,4-dicafeoilquínico estableció múltiples enlaces de hidrógeno con los residuos SER293, ARG296, ASP74, TYR124 y TYR133, además de interacciones hidrofóbicas con TRP86 y TRP286. Estos aminoácidos se localizan en los dominios aniónico (TRP86) y periférico PAS (TRP286), lo que sugiere una doble acción inhibitoria: por un lado, un posible bloqueo estérico en el sitio PAS que impide el ingreso del sustrato al centro catalítico, y por otro, una interferencia directa en el sitio activo (CAS) al interactuar con residuos clave del reconocimiento del sustrato (Bajda et al., 2013).

De manera similar, el 6''-O-cafeoil-dihidrofaseoato glucósido formó enlaces de hidrógeno con GLY120, SER293, TYR124, TYR133, TRP286 y GLU202, además de interacciones hidrofóbicas con TRP286 y LEU289. La presencia de TRP286 en ambas interacciones refuerza la hipótesis de que estos compuestos actúan principalmente a nivel del sitio periférico PAS, donde el residuo TRP286 juega un papel determinante en la unión y guía del sustrato hacia el centro catalítico (Martínez, 2024).

**Tabla 1.** Energía de acoplamiento e interacciones con aminoácidos clave en AChE.

Compuestos	Afinidad de acoplamiento (kcal/mol)	Interacción de puentes de hidrógeno	Integración hidrofóbica	Integración aromática	Integración electroestática
Ácido 3,4-cafeoilquínico	-11,1	SER 293, ARG 296, ASP 74, TYR 124, TYR 133	TRP 86, TRP 286	-	-
6''-O-cafeoil-dihidrofaseoato glucósido	-10,2	GLY 120, SER 293, TYR 124, TYR 133, TRP 286, SER 293, GLU 202	TRP 286, LEU 289	-	-

Según la bibliografía, inhibidores clásicos como donepezilo interactúan tanto con el sitio catalítico (CAS) como con el sitio periférico (PAS), mientras que rivastigmina, galantamina y tacrina lo hacen principalmente en el CAS. En este sentido, los compuestos derivados de ácidos cafeicos han demostrado afinidad por residuos del sitio catalítico, como His447 y Trp86, modulando la actividad enzimática mediante interacciones  $\pi\pi$  o de tipo hidrofóbico. Los resultados coinciden con estas observaciones, sugiriendo que los compuestos evaluados podrían comportarse como inhibidores mixtos o no competitivos, actuando simultáneamente sobre PAS y CAS (Hakeem, 2023).

La presencia de interacciones en sitios clave como TRP86 (CAS) y TRP286 (PAS) sugiere que ambos compuestos podrían impedir la unión del sustrato acetilcolina, ya sea bloqueando el acceso al canal activo o alterando la conformación del sitio catalítico. En conjunto, estos resultados respaldan el potencial de los derivados del ácido cafeico obtenidos en los extractos vegetales como moléculas con actividad anticolinesterásica de interés para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Hakeem, 2023).

## Conclusiones

En este estudio se determinó de manera teórica que los compuestos derivados del ácido cafeico son prometedores en la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), dado que las interacciones con aminoácidos clave en los sitios PAS (Trp286) y CAS (Trp86, His447, Ser203) sugieren una posible acción dual sobre la enzima. Estas interacciones podrían impedir el ingreso del sustrato acetilcolina al centro catalítico o alterar su reconocimiento, contribuyendo a una disminución de la actividad enzimática.

Los resultados obtenidos respaldan el potencial de los derivados fenólicos como inhibidores mixtos o no competitivos, lo que los posiciona como candidatos atractivos para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos frente a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. En este contexto, los hallazgos *in silico* constituyen una base sólida para futuras validaciones experimentales *in vitro* e *in vivo*, orientadas a confirmar su eficacia biológica y perfil farmacológico.

## Referencias Bibliográficas

Bajda, M., Więckowska, A., Hebda, M., Guzior, N., Sotriffer, C., & Malawska, B. (2013). Structure-Based Search for New Inhibitors of Cholinesterases. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5608-5632. <https://doi.org/10.3390/ijms14035608>

Dominguez-Gortaire, J., Ruiz, A., Porto-Pazos, A. B., Rodriguez-Yanez, S., & Cedron, F.

(2025). Alzheimer's Disease: Exploring Pathophysiological Hypotheses and the Role of Machine Learning in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1004. <https://doi.org/10.3390/ijms26031004>

Hakeem, I. J. (2023). Molecular docking analysis of acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease management. *Bioinformation*, 19(5), 565-564. <https://doi.org/10.6026/97320630019565>

Martínez, A. (2024). Synthesis, in vitro activity, and molecular docking of caffeic acid and resveratrol derivatives against Alzheimer's disease-related enzymes. *Medicinal Chemistry Research*, 33(9), 1681-1697. <https://doi.org/10.1007/s00044-024-03278-0>

Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., & Amenta, F. (2021). Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 190, 108352.

World Health Organization. (2021). Global status report on the public health response to dementia. World Health Organization.

World Health Organization. (2025). Dementia.

Soreq, H., & Seidman, S. (2001). Acetylcholinesterase-New roles for an old actor. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(4), 294-302. <https://doi.org/10.1038/35067589>