

# Acoplamiento molecular de HYNIC-CXCR4-L con el receptor quimiocina-4: Potencial reconocimiento in vivo para imagen SPECT de tumores primarios y metastásicos.

G. Bravo-Villegas<sup>1\*</sup>, G. Ferro-Flores<sup>2</sup>, E. Torres-García<sup>3</sup>, N. González-Rivas<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma del Estado de México, Estado de México, México.

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Estado de México, México.

<sup>3</sup> Universidad Autónoma del Estado de México, Estado de México, México.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma del Estado de México, Estado de México, México.

\*gevillegas@live.com.mx

## Resumen

El receptor de quimiocina-4 (CXCR4) es el receptor molecular del factor 1 derivado de células estromales (SDF-1, también llamado CXCL12) [1], juega un papel fundamental en la progresión, invasividad y metástasis tumoral en más de 30 tipos de cáncer. [2]. El CXCR4-L (cyclo-D-Tyr-D-[NMe]Orn-Arg-Nal-Gly) es un ligando peptídico pentacíclico con alta afinidad por el receptor de quimiocina-4 (CXCR4) [3], el cual, al conjugarse con el agente bifuncional 6-hydrazinylnicotinamida (HYNIC) para su marcado con Tc-99m, puede utilizarse como un sensor para imagen molecular por medio de técnicas tomográficas de emisión de fotón único (SPECT) El objetivo del presente trabajo se enfoca en la describir el acoplamiento de CXCR4- L y HYNIC-CXCR4-L con CXCR4 a través del análisis computacional con las técnicas de acoplamiento molecular para determinar las características fisicoquímicas como puntuación de afinidad y tipos de interacciones intermoleculares que intervienen en la formación del aducto proteínico.

**Palabras clave:** Acoplamiento molecular, receptor CXCR4, CXCR4-L, HYNIC-CXCR4-L, Reconocimiento in vivo SPECT de tumores primarios y metastásicos.

## 1. Introducción

Las interacciones intermoleculares entre proteínas, hormonas y péptidos desempeñan un papel importante para el funcionamiento de los procesos biológicos. Sin embargo, los procesos patológicos, incluyendo el cáncer, también se encuentran sujetos a la asociación de moléculas por medio del mismo tipo de interacciones. Los receptores proteínicos como blanco de péptidos radiomarcados han tenido gran importancia dentro de la medicina nuclear y la oncología. Dentro de la medicina nuclear molecular, los péptidos radiomarcados son una clase emergente de radiofármacos con reconocimiento molecular específico y permiten implementar técnicas de diagnóstico o terapia altamente eficaces.

Dentro de la medicina nuclear molecular, los péptidos radiomarcados son una clase emergente de compuestos químicos con reconocimiento molecular específico, permiten implementar técnicas de diagnóstico o terapia altamente eficaces. Conjuntamente tienen la gran ventaja de proveer información funcional en el tiempo y espacio acerca de procesos biológicos a diferencia de los radio-trazadores usados en técnicas de imagen nuclear. El <sup>99m</sup>Tc es uno de los radionúclidos empleados comúnmente en el diagnóstico nuclear, puede conjugarse con diversos péptidos, entre ellos, inhibidores del receptor específico de quimiocina-4 (CXCR4), el cual es un receptor transmembranal unido a proteínas G

involucrado en la progresión y metástasis de muchos tipos de cáncer, convirtiéndolo en un blanco potencial para el desarrollo de nuevos radio-trazadores con aplicación en el diagnóstico de cáncer metastásico.

El receptor de quimiocina-4 (CXCR4) es el receptor molecular del factor 1 derivado de células estromales (SDF-1, también llamado CXCL12) [1], juega un papel fundamental en la progresión, invasividad y metástasis tumoral en más de 30 tipos de cáncer. [2].

El CXCR4-L (cyclo-D-Tyr-D-[NMe]Orn-Arg-Nal-Gly) es un ligando peptídico pentacíclico con alta afinidad por el receptor de quimiocina-4 (CXCR4) [3], el cual, al conjugarse con el agente bifuncional 6-hydrazinylnicotinamida (HYNIC) para su marcado con Tc-99m, puede utilizarse como un sensor para imagen molecular por medio de técnicas tomográficas de emisión de fotón único (SPECT).

El objetivo del presente trabajo se enfoca en la describir el acoplamiento de CXCR4-L y HYNIC-CXCR4-L con CXCR4 a través del análisis computacional con las técnicas de acoplamiento molecular para determinar las características fisicoquímicas como puntuación de afinidad y tipos de interacciones intermoleculares que intervienen en la formación del aducto proteínico.

## 2. Metodología

Como receptor se utilizó la estructura tridimensional de CXCR4 obtenida de Protein Data Bank (PDB ID: 3OE0), eliminando al ligante nativo (CVX15) de la estructura y las moléculas de agua asociadas al receptor, se modeló la estructura mediante homología molecular con SWISS-MODEL debido a la resolución del modelo 3OE0 por difracción de rayos X (2.90 Å). Consecutivamente se agregaron hidrógenos polares correspondientes a un pH fisiológico 7.4 utilizando el software Avogadro. Como ligando de control para validar la puntuación de acoplamiento molecular, se utilizó al ligando nativo CVX15. Los ligandos CXCR4-L y HYNIC-CXCR4-L fueron las estructuras en estudio, se utilizó la estructura del radiotrazador comercial de <sup>68</sup>Ga-Pentixafor® al cuál se eliminó el radiometal y el agente bifuncional para comparar características de acoplamiento con CXCR4-L, las moléculas se editaron en ChemDraw exportando las estructuras tridimensionales en formato “pdb”, se realizó la optimización de las estructuras a través de MOPAC 2016 con el nivel de teoría PM7. El receptor y los ligandos se prepararon software AutoDock tools 1.5.6. Los cálculos de acoplamiento molecular se realizaron mediante el software AutoDock vina 1.1.2 con 5 repeticiones en una caja de búsqueda de tamaño 55 Å en cada eje en el sitio activo del receptor, correspondientes al ligando nativo de la estructura 3OE0, con centro en x= 51.807, y= 36.345, z= 5.865, se empleó una exhaustividad de 20 y se generaron 20 poses para cada ligando con intervalo de energía 3 kcal/mol para filtrar las poses de mejor puntuación. Los valores de la constante de inhibición (Ki) se calcularon mediante la fórmula descrita en el manual de AutoDock, ecuación (1), la revisión visual de las representaciones de las interacciones moleculares se realizó a través del software BIOVIA Discovery Studio 2020.

$$K_i = \exp ((\Delta G * 1000)/(RT)) \quad (1)$$

Donde:

$K_i$  = Constante de inhibición (M)

$\Delta G$  = Valor de la función de puntuación AutoDock vina (kcal/mol)

$R$  = Valor de la constante para gases ideales (1.987 cal mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>)

$T$  = Temperatura en escala absoluta (298.15 K)

### 3. Resultados y Discusión

El análisis de acoplamiento molecular demostró que las puntuaciones de afinidad y su valor  $K_i$  en el sitio activo de CXCR4 para cada ligando CVX15,  $^{68}\text{Ga}$ -Pentixafor®, CXCR4- L y HYNIC-CXC4-L fueron  $-9.1 \pm 0.24$  ( $K_i = 20$  nM),  $-9.0 \pm 0.38$  ( $K_i = 243$  nM),  $-9.5 \pm 0.05$  ( $K_i = 104$  nM),  $-10.8 \pm 0.19$  ( $K_i = 12$  nM) [3], respectivamente. El valor  $K_i$  calculado para CVX15 muy cercano al valor reportado por Wu y colaboradores en el 2010 [4], esto es indicativo de la validación de método de acoplamiento molecular empleado. La afinidad teórica de CXCR4-L ( $-9.5 \pm 0.05$  kcal/mol) es equiparable al ligando  $^{68}\text{Ga}$ -Pentixafor® ( $-9.0 \pm 0.38$  kcal/mol), esto sugiere que el ligando en estudio mantiene la especificidad molecular por el receptor CXCR4. Una interacción de tipo Van der Waals entre el residuo Trp94 y el agente bifuncional del ligando HYNIC-CXCR4-L es sugestivo de la existencia de un sitio adicional de anclaje por lo que la afinidad teórica es mayor en este ligando.

### 4. Conclusiones

El ligando CXCR4-L y HYNIC-CXCR4-L mantiene características favorables de afinidad en la formación del aducto con el receptor CXCR4 lo que lo hace un buen candidato para usarse como radiotrazador en técnicas de imagen molecular por SPECT.

### Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés para este trabajo.

### Agradecimientos

El autor B. V. Gerardo a través de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México agradece al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares y a CONACYT el permitir la realización de este proyecto proporcionando las condiciones y el espacio para llevarlo a cabo.

### Referencias

- [1] Y. Döring, L. Pawig, C. Weber, H. Noels, "The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease," *Frontiers in Physiology*, vol. 5, 2014.
- [2] C. Lapa, M. Schreder, A. Schirbel, S. Samnick, K. M. Kortüm, K. Herrmann, et al. "[ $^{68}\text{Ga}$ ] Pentixafor-PET/CT for imaging of chemokine receptor CXCR4 expression in multiple myeloma - Comparison to [ $^{18}\text{F}$ ]FDG and laboratory values," *Theranostics*. Vol. 7, no. 1, pp. 205-212, 2017.
- [3] M. Ávila-Sánchez, G. Ferro-Flores, N. Jiménez-Mancilla, B. Ocampo-García, G. Bravo-Villegas, M. Luna-Gutiérrez, et al. "Synthesis and preclinical evaluation of the  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -/ $^{177}\text{Lu}$ -CXCR4-L theranostic pair for in vivo chemokine-4 receptor-specific targeting," *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, vol. 324, pp. 21–32. 2020
- [4] B. Wu, E. Y. T. Chien, C. D. Mol, G. Fenalti, W. Liu, V. Katritch, et al. "Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists," [online]. 2010. Available at: <https://science.sciencemag.org/content/sci/330/6007/1066.full.pdf>