

Potencial del 8-acil-glucósido de floretina como posible modulador de HAT1 en células K562

Real, Lucía; García-Nafra, Alejandro; Fernández-Crippa, Leire; Vuelta, Elena; García-Tuñón, Ignacio; Gonzalez-Alfonso, José L.; Plou, Francisco J.; Ortega, Miguel A.; Martínez-Toledo, Cristina; Coscolín, Cristina¹

1. Inari Biotech. 2. Dpto. Biomedicina y Biotecnología, Universidad de Alcalá. 3. Dpto. Medicina y especialidades médicas.

Palabras clave: HAT1; floretina; C8-acil-glucósido; K562; docking molecular; XTT; epigenética.

INTRODUCCIÓN

La histona acetiltransferasa 1 (HAT1)⁽¹⁾ es un regulador epigenético implicado en la proliferación y supervivencia celular, y se considera una diana terapéutica emergente en cáncer. En este contexto, un derivado de floretinas⁽²⁾, el **C8-acil-glucósido de floretina (C8F)**, ha sido descrito como inhibidor de **hexoquinasa**⁽³⁾, sugiriendo un posible impacto sobre rutas metabólicas asociadas a la proliferación y el efecto Warburg en células cancerosas. Dado este potencial, se evaluó si **C8F** actuaba como modulador de HAT1, utilizando el compuesto **JG2016**⁽⁴⁾ como estándar comparativo, al ser un inhibidor caracterizado HAT1. Se analizó su efecto sobre la viabilidad en la **línea leucémica K562**, derivada de **leucemia mieloide crónica en fase blástica**.

RESULTADOS

El análisis *in silico* mediante el software Maestro Schrödinger confirmó la capacidad de unión de **C8F** al centro activo de **HAT1**, mostrando una orientación y estabilidad en el sitio catalítico similares a las del **cofactor** y el inhibidor de referencia **JG2016** (Fig 2). Los modelos de **docking** sugieren que el compuesto actúa mediante una **interacción competitiva eficiente** en el bolsillo catalítico de HAT1. En concordancia con estas predicciones, el tratamiento con C8F provocó una **alteración morfológica** distintiva en las células K562 en comparación con el control, observándose la formación de **estructuras globulares** indicativas de **actividad citotóxica** (Fig 3). Esta respuesta morfológica se correlacionó con una **disminución significativa de la viabilidad celular** según los resultados del **ensayo XTT** (Fig. 1); lo que confirma el **potencial antineoplásico** del compuesto C8F a través de la posible modulación de HAT1, entre otros efectos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar *in silico* la interacción de C8F y JG2016 con el centro activo de HAT1, se empleó **docking molecular** con **SwissDock**⁽⁵⁾ tomando como referencia el cofactor del cristal original de la proteína. El **docking** se dirigió al átomo de hidrógeno HE2 del residuo catalítico; Met241⁽⁶⁾. Los resultados mostraron que el compuesto C8F presenta una energía libre (ΔG) de -8.80 kcal/mol, valor similar al de JG2016 (-8.52 kcal/mol) y próximo al del cristal original (-10.23 kcal/mol). Dichas interacciones fueron representadas mediante el software de visualización molecular **Maestro Schrödinger**⁽⁷⁾. Finalmente, para validar estos hallazgos, se determinó la viabilidad celular a las 72 horas utilizando el **kit XTT** (CyQuant, Thermo Fisher Scientific), y se analizó la morfología de los cultivos celulares.

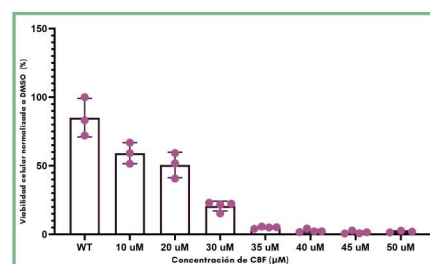


Figura 1. Representación gráfica de la viabilidad celular de la línea celular K562 a diferentes concentraciones de C8F resultante tras el análisis del XTT.

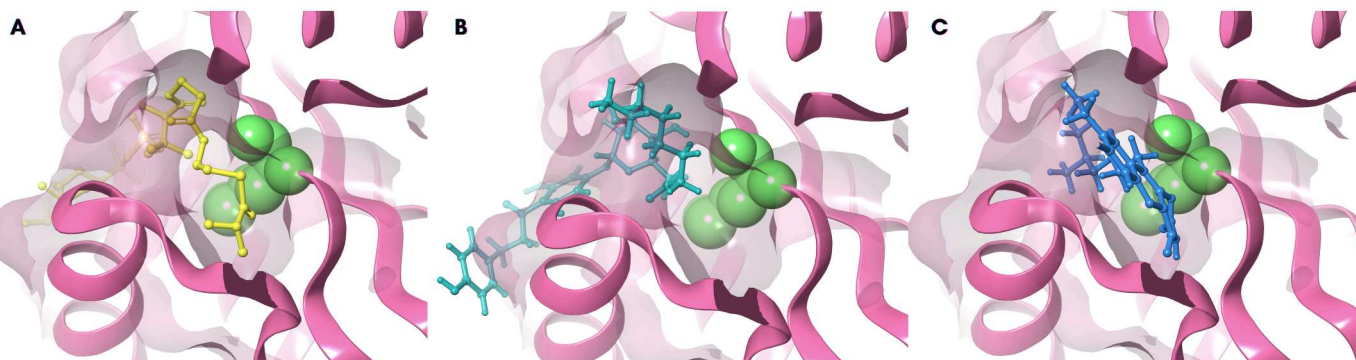


Figura 2. Acoplamiento de ligandos en el centro activo de HAT1. Estructura proteica en ribbon en color faded salmon. Figuras generadas con Maestro Schrödinger. A. Cofactor representado con ball and stick en yellow y residuo catalítico con CPK en faded green. B. C8F representado con ball and stick en teal y residuo catalítico con CPK en faded green. C. JG2016 representado con ball and stick en azure y residuo catalítico con CPK en faded green.

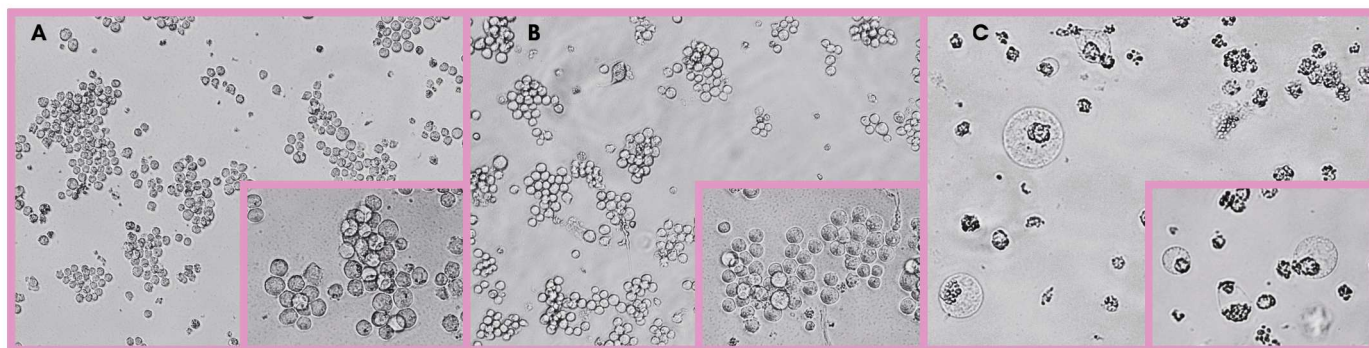


Figura 3. Imágenes de microscopía de los cultivos celulares. En el recuadro inferior derecho de cada panel se muestra una ampliación. A. Células control (wild type). B. Células tratadas con DMSO. C. Células tratadas con C8F.

CONCLUSIONES

Los estudios *in silico* de **docking molecular** confirman el **potencial de C8F** como **posible inhibidor de HAT1**. La toxicidad observada en la línea celular valida el potencial terapéutico de C8F sobre la viabilidad de la **leucemia mieloide crónica**. Por tanto, el C8F se presenta como un candidato excelente para guiar **nuevas estrategias terapéuticas**.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ortega MA, De Leon-Oliva D, García-Montero C, Fraile-Martínez O, Boari DL, Del Val Toledo Lobo M, García-Tuñón I, Rayuela M, García-Hondurillo N, Bujón J, Gujardo LG, Álvarez-Mon M, Álvarez-Mon MÁ. Understanding HAT1: A Comprehensive Review of Noncanonical Roles and Connections with Disease. *Genes (Basel)*. 2023 Apr 14;14(4):915. doi: 10.3390/genes14040915. PMID: 37071671. PMCID: PMC1035980.
2. Choi BY. Biochemical Basis of Anti-Cancer Effects of Phloretin-A Natural Dihydrochalcone. *Molecules*. 2019 Jan 15;24(1):278. doi: 10.3390/molecules24020278. PMID: 30642127. PMCID: PMC6559559.
3. F. V. Cervantes, L. Fernández-Arango, C. Coscolín, A. Barrojo, J. L. González-Alfonso, J. M. Pérez de la Lanza, M. Ferrer, C. M. Curiel-Arias, C. Andrés-Juan, A. O. Ballesteros, E. Pérez-Lebeño, F. J. Plou, *ChemistrySelect* 2024, 9, e20240086. Cervantes, F. V., Fernández-Arango, L., Coscolín, C., Barrojo, A., González-Alfonso, J. L., Pérez de la Lanza, J. M., Ferrer, M., Curiel-Arias, C. M., Andrés-Juan, C., Ballesteros, A. O., Pérez-Lebeño, E., & Plou, F. J. (2024). Inhibition of yeast hexokinase by acyl glucosides of phloretin and its implication in the Warburg effect. *ChemistrySelect*, 9(10), Article e20240086. <https://doi.org/10.1002/slct.202400086>
4. Gaddameedidi JD, Chou T, Geller BS, Rangarajan A, Swaminathan TA, Dixon D, Long K, Golder CJ, Vuong VA, Banuelos S, Greenhouse R, Snyder MP, Lipchik AM, Gruber JJ. Acetyl-Click Screening Platform Identifies Small-Molecule Inhibitors of Histone Acetyltransferase 1 (HAT1). *J Med Chem*. 2025 Apr 27;68(8):5774-5801. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5c00039. Epub 2025 Apr 7. PMID: 39227002. PMCID: PMC9245096.
5. Morine Baguen, Ute F Böhm, Mathilde Gaudreau, Marc A S Pérez, Antoine Dano, Olivier McMillin, Vincent Zante, *ScientificData* 2024: major enhancements for small-molecule docking with Attracting Cavities and AutoDock Vina, *Nature: Acids Research*, Volume 52, Issue W1, 5 July 2024, Pages W524-W532, <https://doi.org/10.1093/nar/wkz000>
6. H. Wu, N. Mohtai, J. Min, H. Zeng, J. Jothua, M. Zhou, & A.N. Plotnikov, Structural basis for substrate specificity and catalysis of human histone acetyltransferase 1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109 (25) 8925-8930, <https://doi.org/10.1073/pnas.1047790107>
7. Schrödinger Release 2024-1 Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.

AGRADECIMIENTOS Y FINANCIACIÓN

- Financiado principalmente por INARI BIOTECH.
- Gonzalez-Alfonso, José L.; Plou, Francisco J. agradecen al proyecto PID2022-136367OB-C31 por la financiación.
- Agradecemos la colaboración de la técnica de laboratorio Tábata García.