

ANÁLISIS COMPUTACIONAL Y EXPERIMENTAL DEL C8-ACIL-GLUCÓSIDO DE FLORETINA EN LA LÍNEA DE CÁNCER DE PRÓSTATA PC3

García-Nafría, Alejandro; Real, Lucía; Fernández-Crippa, Leire; Vuelta, Elena; Garcia-Tuñon, Ignacio; Gonzalez-Alfonso, José L.; Plou, Francisco J.; Ortega, Miguel A.; Martinez-Toledo, Cristina; Coscolín, Cristina

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

Palabras clave: HAT1; floretina; docking molecular; cáncer de próstata; PC3; viabilidad celular (XTT)

INTRODUCCIÓN

La **acetiltransferasa de histonas 1 (HAT1)** constituye un elemento crítico en la regulación epigenética de la proliferación y adaptación celular, perfilándose como una diana terapéutica emergente en oncología⁽¹⁾. La presente investigación se centra en caracterizar la posible interacción de **HAT1** con **C8-acil-glucósido de floretina (C8F)**, un derivado de la dihidrochalcona del manzano⁽²⁾ obtenido mediante la adición enzimática de una cadena de ocho carbonos tras su alfa-glucosidación⁽³⁾. Para determinar su impacto citotóxico en la línea celular de **cáncer de próstata PC3**, se efectuó un análisis utilizando como estándar comparativo el compuesto **JG2016**, un inhibidor sintético de referencia⁽⁴⁾, con el fin de esclarecer el potencial farmacológico del **C8F** más allá de su conocida actividad inhibitoria sobre la hexoquinasa⁽⁵⁾.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó una aproximación metodológica dual (*in silico* e *in vitro*) para evaluar la interacción del **C8F** con la enzima **HAT1** y su impacto en la viabilidad de la línea celular de cáncer de próstata **PC3**. A nivel computacional, se empleó **SwissDock**⁽⁶⁾ para ejecutar el **docking** molecular del **C8F** en el bolsillo catalítico ocupado por el inhibidor **JG2016**. El análisis visual posterior mediante **Maestro Schrödinger**⁽⁷⁾ identificó una posición compatible con la interacción directa del ligando con el residuo catalítico **Met1241**. Termodinámicamente, el **C8F** presentó una energía libre de unión (-9,34 kcal/mol) inferior a la del **JG2016** (-8,52 kcal/mol), situándose como un valor intermedio frente a los -11,04 kcal/mol del cofactor original. En la fase experimental, los cultivos **PC3** se trataron con **C8F**, cuantificando la viabilidad celular utilizando el kit **XTT** (CyQuant, Thermo Fisher Scientific) a las 72 horas y complementando los datos con un escrutinio morfológico detallado.

RESULTADOS

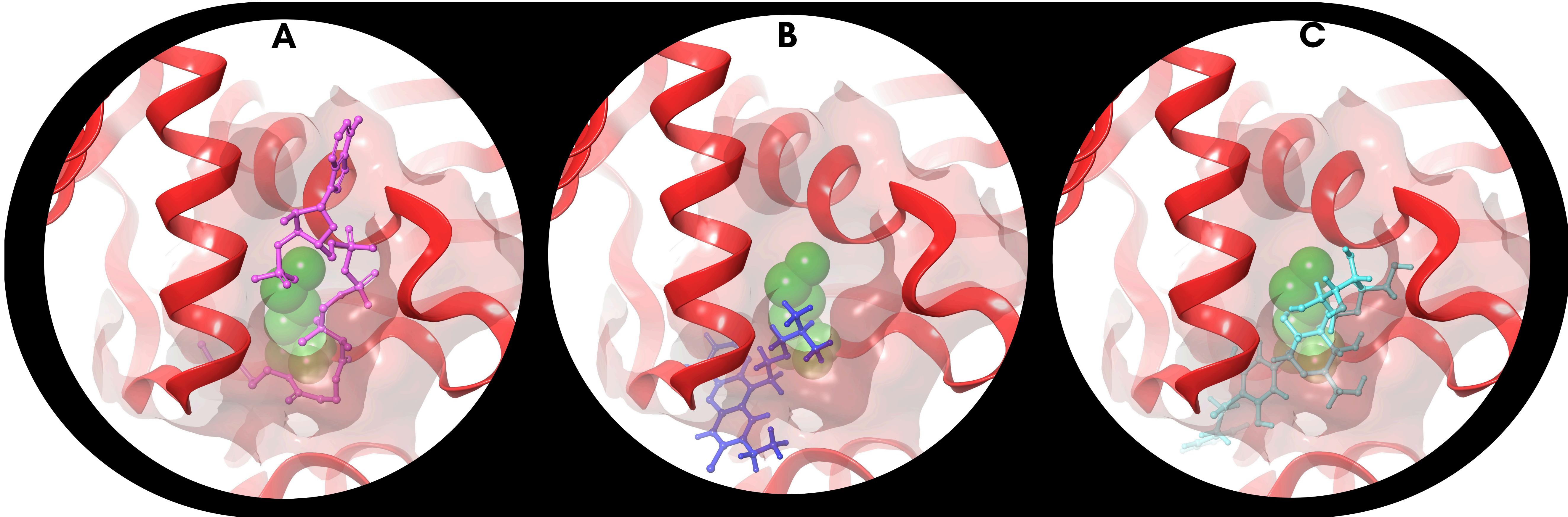


Figura 1. Visualizado 3D de modelado del centro activo de HAT1 junto con diferentes ligandos. Representado con Maestro Schrödinger. Estructura de HAT1 representada en *ribbon* en color red. Residuo catalítico representado con *CPK* en color green. **A:** Cofactor representado con *ball and stick* en color faded magenta. **B:** JG2016 representado con *ball and stick* en color blue. **C:** CF8 representado con *ball and stick* en color faded teal (*cyan*).

El **análisis computacional** reveló una interacción posible del **C8F** en el mismo dominio de unión ocupado por el **cofactor** original de la proteína, sugiriendo una posible inhibición de **HAT1** apoyada estudios de viabilidad (figura 1). La administración del **derivado de floretina** en la línea **PC3** indujo una **reducción estadísticamente significativa** de la viabilidad celular, tal y como evidenciaron los valores de absorbancia derivados del **ensayo XTT** (figura 2). De manera paralela, la evaluación microscópica constató **alteraciones estructurales** profundas en las células tratadas, configurando un fenotipo celular intrínsecamente compatible con un marcado efecto antiproliferativo (figura 3).

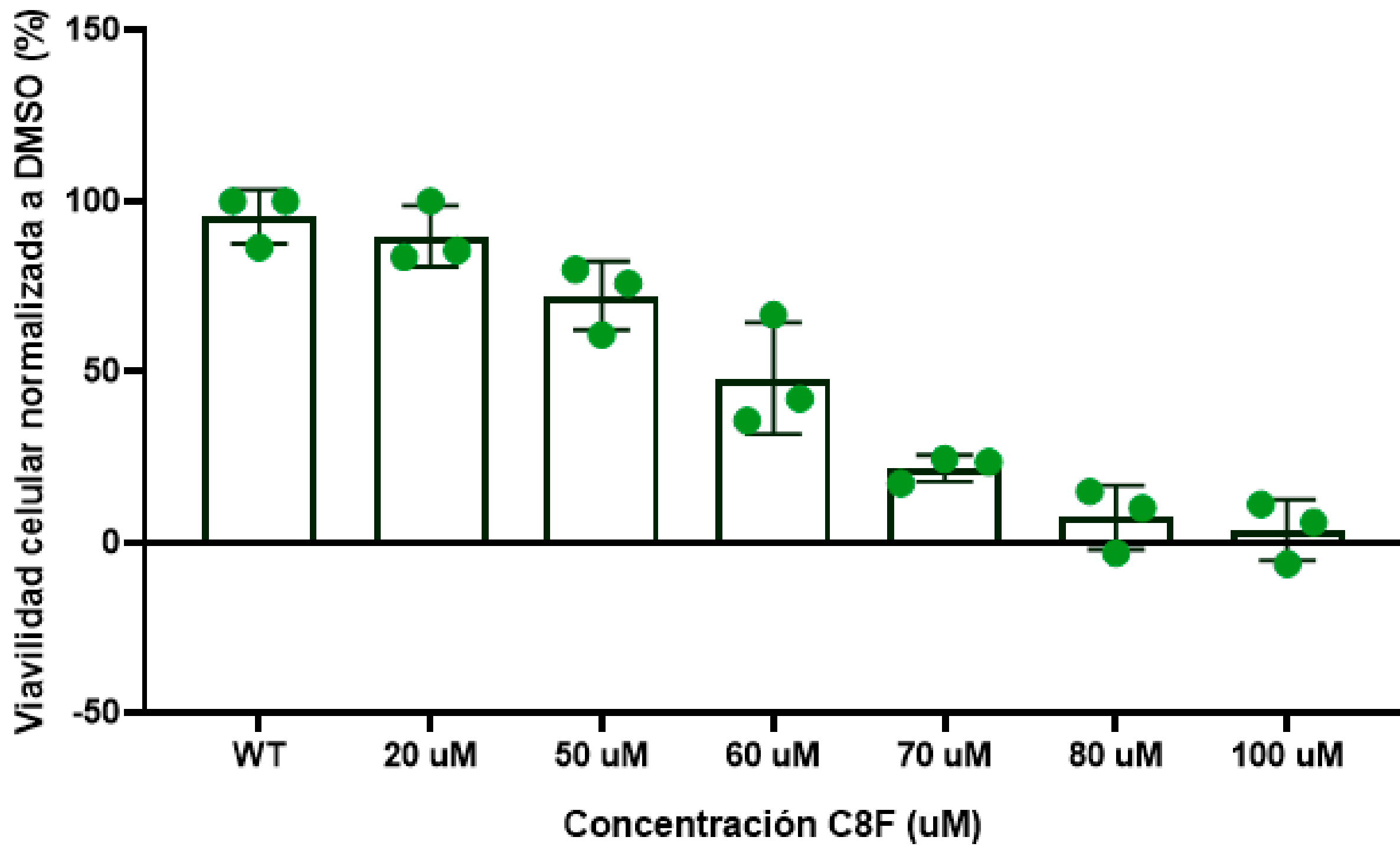


Figura 2. Representación gráfica de la viabilidad celular a diferentes concentraciones de CF8 resultante tras el análisis del XTT.

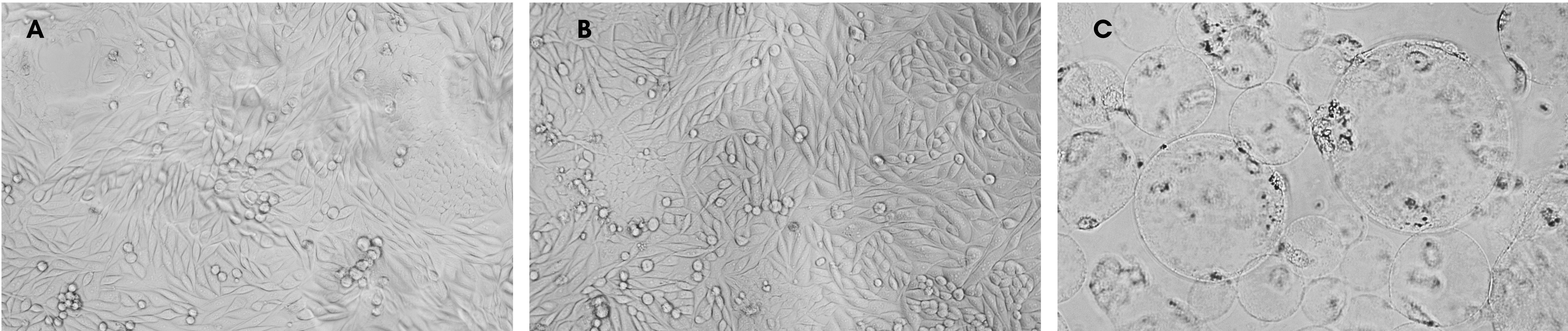


Figura 3. Visualización microscópica de los cultivos para observación morfológica. **A:** Cultivos *wild type*. **B:** Cultivos tratados con DMSO. **C:** Cultivos tratados con CF8.

CONCLUSIONES

La evidente **capacidad antiproliferativa** del **C8F** apoya la hipótesis de la **afinidad** por la enzima **HAT1** que ya predecía el modelo informático. Esta coincidencia destaca lo útil que resulta combinar los estudios *in silico* con los ensayos celulares clásicos para comprender a fondo el comportamiento de nuevas moléculas. Además, estos resultados demuestran que el **potencial terapéutico** de este derivado de la **floretina** va mucho más allá de su conocida capacidad para bloquear la hexoquinasa, ampliando de forma notable su horizonte farmacológico. Por todo ello, el **C8F** se presenta como un candidato excelente para guiar **nuevas estrategias** de redireccionamiento farmacológico, apuntando directamente hacia **dianas epigenéticas** clave en el tratamiento clínico de los tumores sólidos.

BIBLIOGRAFÍA

- Ortega, M. A., De Leon-Oliva, D., Garcia-Montero, C., Fraile-Martinez, O., Boaru, D. L., Del Val Toledo Lobo, M., Garcia-Tuñón, I., Royuela, M., Garcia-Hondurilla, N., Bujan, J., Gujjarro, L. G., Alvarez-Man, M., & Alvarez-Man, M. A. (2023). Understanding HAT1: A comprehensive review of noncanonical roles and connection with disease. *Genes*, 14(4), 915. <https://doi.org/10.3390/genes14040915>
- Choi, B. Y. (2019). Biochemical basis of anti-cancer-effects of phloretin—A natural dihydrochalcone. *Molecules*, 24(2), 278. <https://doi.org/10.3390/molecules24020278>
- Gonzalez-Alfonso, J. L., Alonso, C., Poveda, A., Ubiparip, Z., Ballesteros, A. O., Desmet, T., Jiménez-Barbero, J., Coderch, L., & Plou, F. J. (2024). Strategy for the enzymatic acylation of the apple flavonoid phloretin based on prior α -glucosylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(8), 4325-4335. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c09261>
- Gaddameedi, J. D., Chou, T., Geller, B. S., Rangarajan, A., Swaminathan, T. A., Dixon, D., Long, K., Golder, C. J., Vuong, V. A., Banuelos, S., Greenhouse, R., Snyder, M. P., Lipchik, A. M., & Gruber, J. J. (2023). Acetyl-click screening platform identifies small-molecule inhibitors of Histone Acetyltransferase 1 (HAT1). *Journal of Medicinal Chemistry*, 66(8), 5774-5801. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00039>
- F. V. Cervantes, L. Fernandez-Arrojo, C. Coscolin, A. Berrojo, J. L. Gonzalez-Alfonso, J. M. Perez de la Lastra, M. Ferrer, C. M. Curieses-Andres, C. Andres-Juan, A. O. Ballesteros, E. Perez-Lebeña, F. J. Plou, *ChemistrySelect* 2024, 9, e202401086. <https://doi.org/10.1002/slct.202401086>
- Marine Bugnon, Ute F Röhrig, Mathilde Gouilleux, Marta A S Perez, Antoine Daina, Olivier Michelin, Vincent Zoete, *SwissDock 2024: major enhancements for small-molecule docking with Attracting Cavities and AutoDock Vina*, *Nucleic Acids Research*, Volume 52, Issue W1, 5 July 2024, Pages W524-W532. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf300>
- Maestro Schrödinger Release 2026-1: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2025.

FINANCIACIÓN Y AGRADECIMIENTOS

- Finaciado principalmente por Inari Biotech
- Gonzalez-Alfonso, José L.; Plou, Francisco J. agradecen al proyecto TID2022-136367OB-C31 por la financiación.
- Agradecemos la colaboración de la técnico de laboratorio Tábata García