

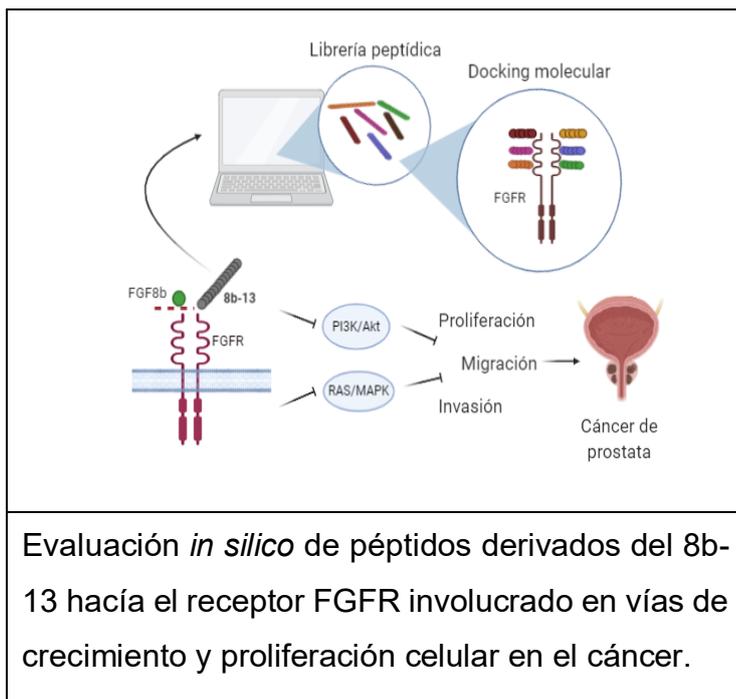
Evaluación *in silico* de péptidos derivados de la secuencia peptídica

8b-13 hacia el complejo FGF8b/FGFR

***In silico* evaluation of peptides derived from the peptide sequence 8b-13**

towards the FGF8b/FGFR complex

Graphical Abstract (GA)



Evaluación *in silico* de péptidos derivados de la secuencia peptídica 8b-13 hacia el complejo FGF8b/FGFR

***In silico* evaluation of peptides derived from the peptide sequence 8b-13 towards the FGF8b/FGFR complex**

Angie Bibiana Mendoza López*

** Programa de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Antonio Nariño.*

Dirijido por: German Antonio García Contreras

Resumen

El cáncer de próstata es el crecimiento maligno de la glándula prostática; se produce cuando las células de la próstata mutan y se multiplican descontroladamente. El factor de crecimiento de fibroblastos 8b (FGF8b) se encuentra expresado en un gran porcentaje de pacientes con cáncer de próstata y desempeña un papel clave en la aparición y desarrollo de este cáncer. Diversos estudios han demostrado que el péptido sintético denominado 8b-13, procedente del dominio de hélice gN del FGF8b, bloquea la interacción del FGF8b con el receptor de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), inhibiendo la proliferación de líneas celulares del cáncer de próstata. Para identificar la afinidad hacía el complejo FGF8b/FGFR de péptidos derivados del 8b-13, se propuso una librería peptídica realizando cortes en los extremos amino y carboxilo terminal de la secuencia del 8b-13. Se evaluó la afinidad hacía el complejo FGF8b/FGFR y se identificó los aminoácidos claves para la interacción por medio de pruebas de docking molecular, utilizando el algoritmo de AutoDock Vina, Chimera y Discovery Studio. Los resultados proponen péptidos viables para ser

candidatos en ensayos experimentales que podrían demostrar la inhibición de la proliferación de células cancerígenas, desarrollando herramientas para el posible tratamiento del cáncer de próstata.

Abstract

Prostate cancer is the malignant growth of the prostate gland; It occurs when the cells of the prostate mutate and multiply uncontrollably. Fibroblast growth factor 8b (FGF8b) is expressed in a large percentage of patients with prostate cancer and plays a key role in the appearance and development of this cancer. Various studies have shown that the synthetic peptide 8b-13, derived from the gN helix domain of FGF8b, blocks the interaction of FGF8b with the fibroblast growth factor receptor (FGFR), inhibiting the proliferation of prostate cancer cell lines . To identify the affinity towards the FGF8b/FGFR complex of peptides derived from 8b-13, a peptide library was proposed by making cuts at the amino and carboxyl termini of the 8b-13 sequence. The affinity towards the FGF8b/FGFR complex was evaluated and the key amino acids for the interaction were identified by means of molecular docking tests, using the algorithm of AutoDock Vina, Chimera and Discovery Studio. The results propose viable peptides to be candidates in experimental trials that could demonstrate the inhibition of cancer cell proliferation, developing tools for the possible treatment of prostate cancer.

Keywords: diseño de péptidos, péptidos sintéticos, factor de crecimiento de fibroblastos, cáncer de próstata, docking molecular.

Introducción

El cáncer de próstata es el más común en los hombres, constituye la segunda causa de mortalidad por cáncer en población masculina y aproximadamente el 60% de los casos se diagnostican en hombres mayores de 65 años (1). Según los datos de la Cuenta de Alto Costo para los colombianos afiliados al SGSSS en 2019 (Sistema General de Seguridad Social en Salud), habían reportados a enero de 2018, 31.547 casos de cáncer de próstata (2). Del total reportados, 3.094 fueron casos nuevos entre 2017 y 2018. De esos casos nuevos, apenas 18 fueron in situ, lo cual quiere decir, que se detectaron en la etapa más temprana y su tratamiento fue más efectivo. Aunque el diagnóstico se ha mantenido más o menos estable, aún los colombianos están esperando hasta 62 días para confirmar la presencia de la enfermedad, cuando este tiempo no debe ser mayor a 30 días. En cuanto a los tratamientos en los casos nuevos reportados, un 38% de los pacientes optó por la quimioterapia, un 23% la radioterapia y un 26% la cirugía. Se ha evidenciado que factores como la proliferación celular, la motilidad y la invasión de las células tumorales están involucradas en el proceso metastásico del cáncer de próstata (2), sin embargo, los factores fundamentales que modulan la metástasis en este tipo de cáncer aun no son muy claros. En fases avanzadas las células cancerosas se diseminan a otras partes del cuerpo, principalmente a los huesos y los ganglios linfáticos, ocasionando metástasis y generando síntomas como micción dificultosa, disfunción eréctil, dolor, entre otros (3). La proliferación de las células en el cáncer de próstata, puede ser controlada por medio de péptidos sintéticos capaces de suprimir la migración e invasión celular (4). El factor de crecimiento de fibroblastos 8 (FGF8) pertenece a la familia de FGF y participa en el desarrollo del sistema nervioso central fetal, la angiogénesis y la cicatrización de heridas (5), su expresión específicamente se encuentra en los tejidos en desarrollo y en los adultos esta expresión es baja o casi nula. Sin embargo, este factor se encuentra altamente expresado en las

células del cáncer de próstata (6). En los humanos, el gen FGF8 contiene seis exones (1A-D, 2 y 3) el corte y empalme en el exón 1 genera cuatro isoformas (a, b, e y f) de las cuales, la isoforma b es la principal isoforma expresada en el cáncer de próstata (7). Se ha demostrado que el FGF8b se encuentra regulado por el aumento del cáncer de próstata (8,9) acelerando el crecimiento, la invasión, la tumorigénesis y la metástasis ósea en el cáncer de próstata. Además, juega un papel importante en la actividad de estas células cancerígenas al unirse y activar los receptores de tirosin cinasa como el FGFR (7,10). Por lo que, el análisis de la interacción FGF8b/FGFR ha sido objetivo clave de estudio para revertir los comportamientos metastásicos del cáncer de próstata. Estudios realizados por Li et al. (5) y Liu et al. (11) demostraron que FGF8b se encuentra expresado en la mayoría de pacientes con cáncer de próstata y desempeña un papel clave en el progreso de este tipo de cáncer, al unirse al receptor FGFR y activar vías de señalización implicadas en el crecimiento celular. Ambos estudios analizaron los efectos de un péptido corto denominado 8b-13 (PNFTQHVREQLV), derivado del dominio de hélice gN de FGF8b, sobre los comportamientos metastásicos de las células del cáncer de próstata. Los resultados demostraron que el péptido sintético revierte los efectos de FGF8b sobre las células cancerígenas, al bloquear la unión hacia el receptor FGFR, suprimiendo considerablemente la activación de la señalización de las vías de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK) y de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K/Akt) que reducen las expresiones de las proteínas relacionadas con la metástasis, lo que suprime la actividad de las células cancerígenas de la próstata (5, 11). De esta manera demostraron el potencial terapéutico del péptido mimético 8b-13 en el cáncer de próstata avanzado. En la actualidad, diagnosticar y prevenir la metástasis del cáncer de próstata avanzado sigue siendo un gran desafío, debido a que los síntomas se identifican en la mayoría de los casos en etapas avanzadas.

Teniendo en cuenta que en los estudios mencionados la información acerca del péptido 8b-13 y los aminoácidos claves para la interacción no se encuentra reportada y que probablemente péptidos derivados de la secuencia peptídica del 8b-13, con menos residuos presenten mejor comportamiento hacia el complejo, lo cual representaría mejores rendimientos experimentales en la síntesis de péptidos en fase sólida; en este trabajo se propone el análisis de la afinidad del péptido 8b-13 hacia el receptor FGFR y hacia el complejo FGF8b/FGFR por medio de acoplamiento molecular. El acoplamiento molecular permite predecir los sitios de unión de ligandos en las superficies del receptor, además de las afinidades de unión asociadas y aunque esta metodología es relativamente económica sigue siendo solo un método de predicción (12). Por medio de este método, se identificó un valor de mejor afinidad del péptido 8b-13 hacia el complejo FGF8b/FGFR, confirmando lo mencionado en estudios anteriores (5, 11) acerca de la actividad biológica del péptido 8b-13 al bloquear la interacción del FGF8b hacia el FGFR. Se realizó una biblioteca peptídica realizando tres cortes secuenciales por el extremo amino y carboxilo de la secuencia peptídica del 8b-13 y se obtuvo la predicción de las estructuras de cada péptido obtenido por medio de PEP-FOLD y Chimera. Teniendo en cuenta los resultados de afinidad del 8b-13, se realizó el acoplamiento molecular hacia el complejo FGF8b/FGFR con el algoritmo AutoDock Vina, con el fin de identificar el comportamiento y la afinidad de péptidos con menos residuos en su secuencia, además de la identificación de los aminoácidos importantes para la interacción con los resultados obtenidos por AutoDock Vina y Discovery Studio. Los resultados obtenidos sugieren péptidos con menos residuos en su secuencia peptídica y posiblemente con una mayor afinidad hacia el complejo FGF8b/FGFR. Lo cual, representaría ampliar el portafolio de péptidos con actividad para el control y tratamiento del cáncer de próstata, realizando ensayos experimentales que pretendan demostrar la inhibición que promueven los péptidos sugeridos en la vía de las MAPK.

1. Materiales y Métodos

Se trabajó con la secuencia del péptido sintético 8b-13, reportado en estudios previos donde se evidenció su actividad biológica en células cancerígenas de la próstata. El péptido contiene una cadena peptídica de trece residuos (PNFTQHVREQLV) (5,11), a la que se le realizaron tres cortes secuenciales en los extremos amino y carboxilo terminal para la posterior evaluación de la afinidad de péptidos derivados, con menos residuos en sus cadenas, hacía el complejo FGF8b/FGFR.

1.1 Librería peptídica y propiedades de los péptidos.

Se realizaron tres cortes secuenciales en los extremos amino y carboxilo terminal de la secuencia PNFTQHVREQLV, obteniendo seis péptidos derivados que conformaron la librería peptídica. Por medio de la herramienta ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>) se obtuvo las propiedades fisicoquímicas de cada péptido como el punto isoeléctrico, GRAVY y peso molecular, presentados en la tabla 1.

1.2 Obtención de las estructuras de los péptidos, el receptor FGFR y del complejo FGF8b/FGFR

Se realizó la predicción de las estructuras de cada péptido obtenido por medio de PEP-FOLD (<https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/PEP-FOLD/>) (13) y USCH Chimera v 1.14 2019. Por Protein Data Bank (PDB, <https://www.rcsb.org/>) se obtuvo la estructura del complejo FGF8b/FGFR, que contiene un código 2FDB, el método por el cual se obtuvo esta estructura fue por difracción de rayos x y una resolución de 2,28 Å y por medio de USCH Chimera v 1.14 2019, se realizó la modificación para obtener el receptor FGFR.

1.3 Simulaciones de acoplamiento molecular (docking)

Los péptidos a evaluar fueron descargados y preparados por medio de AutoDock Tools

(14). En primer lugar, se realizó la predicción del acople molecular del péptido 8b-13 hacía el receptor FGFR y hacía el complejo FGF8b/FGFR por medio del servidor AutoDock Vina (15). Teniendo en cuenta los resultados de los valores de afinidad anteriores, se realizó el docking para cada uno de los péptidos con el complejo FGF8b/FGFR. El acoplamiento proteína-péptido permite una flexibilidad del péptido y fluctuaciones de la estructura del receptor por lo que se presentan varias conformaciones en las que el péptido puede actuar con el receptor (16). En los resultados, se generaron 10 conformaciones que puede adoptar cada péptido al acoplarse con el receptor, en cada conformación registrada se obtuvo los correspondientes valores de afinidad, RMSD (mide la distancia promedio entre átomos de dos estructuras (17)) que permitieron el análisis de los posibles péptidos candidatos a ensayos experimentales posteriores.

1.4 Análisis del acople molecular

Los resultados arrojados por AutoDock Vina permitieron obtener los valores de afinidad de cada uno de los péptidos hacía el complejo. Por medio de Discovery Studio (18) se compararon los residuos presentados en AutoDock, determinando de esta manera los que son claves en cada interacción. A partir de estos resultados se sugieren péptidos con menos residuos viables en la interacción hacía el complejo de estudio FGF8b/FGFR.

2. Resultados y discusión

2.1 Librería peptídica

Teniendo en cuenta la secuencia peptídica PNFTQHVREQLV reportada del péptido 8b-13 (4,7) (representado en rojo) se realizó tres cortes secuenciales por el extremo amino y carboxilo terminal, para la construcción de la librería peptídica propuesta (tabla 1). El código de cada péptido se asignó teniendo en cuenta el corte realizado. Para las modificaciones

por el extremo carboxilo el código de los péptidos son los terminados en -c- como el Ab1c el cual es el péptido sin el primer residuo por el extremo carboxilo asociado a la valina, el Ab2c es el péptido sin los dos residuos del 8b-13 (valina y leucina) y así con el Ab3c que no contiene valina, leucina ni serina. De esta misma manera se asignaron los códigos a los péptidos a los que se les realizó el corte por el extremo amino con la terminación -n-. El péptido Ab1n no contiene el primer residuo por el extremo amino perteneciente a la prolina, el Ab2n sin la prolina y la asparagina y el Ab3n sin los residuos de la prolina, asparagina ni la fenilalanina. En la siguiente columna se observan las secuencias peptídicas correspondientes a cada péptido. Aproximadamente los péptidos presentan un peso molecular que va desde 1196,33 a 1554,73 g/mol observado en la columna de PM. Los valores del índice de hidropaticidad (GRAVY) indican el carácter hidrofóbico o hidrofílico de las moléculas (19), de acuerdo con los resultados presentados en la tabla los valores de cada péptido son negativos indicando su carácter hidrofílico.

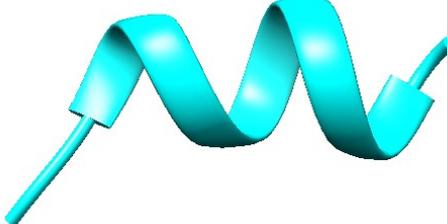
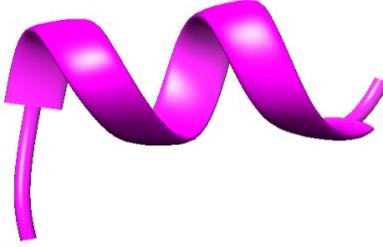
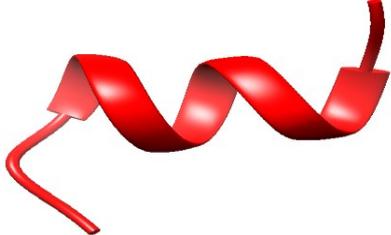
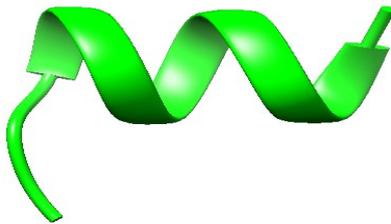
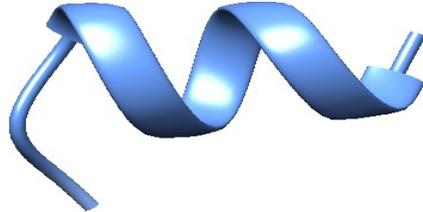
Tabla 1. Librería peptídica y características generales del 8b-13 y los péptidos derivados.

Código	Secuencia	PM (g/mol)	pl	GRAVY
Ab1c	PNFTQHVREQSL	1455.59	7.18	-1.167
Ab2	PNFTQHVREQS	1342.32	7.18	-1.618
Ab3	PNFTQHVREQ	1255.36	7.18	-1.700
8b-13	PNFTQHVREQSLV	1554.73	7.18	-0.754
Ab1n	NFTQHVREQSLV	1457.61	6.75	-0.683
Ab-2	FTQHVREQSLV	1343.51	6.75	-0.427
Ab-3	TQHVREQSLV	1196.33	6.41	-0.750

2.3 Obtención de estructuras

Por medio del servidor PEP-FOLD se obtuvo la predicción de las estructuras de cada péptido, por medio de PDB la estructura del complejo FGF8b/FGFR y se modificó en Chimera para obtener solo el receptor FGFR.

Tabla 2. Predicción de las estructuras por medio de PEP-FOLD de los péptidos obtenidos.

Péptido	Secuencia	Estructura 3D
Ab1c	PNFTQHVREQSL	
Ab2c	PNFTQHVREQS	
Ab3c	PNFTQHVREQ	
8b-13	PNFTQHVREQSLV	
Ab1n	NFTQHVREQSLV	
Ab2n	FTQHVREQSLV	
Ab3n	TQHVREQSLV	

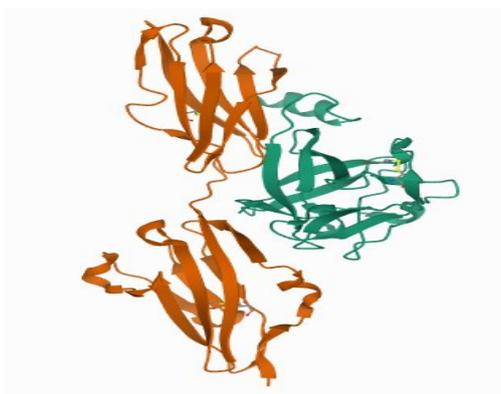


Figura 1. Estructura del complejo FGF8b/FGFR tomado de RCSB PDB.

2.3 Simulaciones de acoplamiento molecular

A continuación, se presentan los resultados de docking molecular obtenidos mediante AutoDock Vina para cada uno de los péptidos que conforman la librería peptídica construida anteriormente con el complejo FGF8b/FGFR. En las siguientes tablas se observan los 10 modos o conformaciones arrojadas por el docking, las afinidades en kcal/mol y la distribución desde el mejor modo o conformación.

Los resultados de las tablas 3 y 4 muestran los valores del docking molecular del péptido 8b-13 con el receptor FGFR y con el complejo FGF8b/FGFR. En cada tabla se observan las conformaciones o modos, cada una de estas conformaciones presenta una interacción viable debido a que los valores de la energía de afinidad medida en kcal/mol es negativa, lo cual es característica de un proceso espontáneo. El RMSD representa la desviación cuadrada de la comparación de una conformación con la inicial, por esta razón el primer resultado de cada tabla es cero, los demás resultados se comparan con la primera conformación y los valores son los que se observan en las tablas. En las tablas se observan dos tipos de RMSD, el l.b el cual representa los valores de la comparación de cada péptido completo con la estructura inicial y el u.b que representa la conformación átomo por átomo. Los valores de RMSD menores a 10 representan conformaciones viables y valores por

encima de 10 suelen ser descartados ya que pueden presentar problemas a nivel experimental. Dentro de los resultados obtenidos, se observa que el péptido 8b-13 presenta mejor afinidad hacía el complejo FGF8b/FGFR (resultados tabla 3), lo cual ratifica lo mencionado por estudios previos, acerca del comportamiento del péptido ya que este inhibe la interacción entre el FGF8b y el FGFR, por lo que su afinidad se ve potenciada hacía el complejo más que hacía el receptor. Además, los valores registrados de RMSD son mayores en el péptido con receptor que con el complejo, lo cual sugiere mejores conformaciones en las que el péptido se acopla al complejo comparado con la conformación 1 que registra mejor afinidad hacía el complejo.

Tabla 3. Resultado de docking molecular FGF8b/FGFR 8b-13

FGF8b/FGFR 8b-13			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-5.8	0.000	0.000
2	-5.7	1.695	2.221
3	-5.5	3.605	12.218
4	-5.5	21.236	25.177
5	-5.4	3.631	12.479
6	-5.4	4.686	9.379
7	-5.3	2.932	6.389
8	-5.3	21.022	25.026
9	-5.3	4.307	13.578
10	-5.2	4.785	9.251

Tabla 4. Resultado de docking molecular FGFR/8b-13

FGFR/8b-13			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-3.8	0.000	0.000
2	-3.8	10.548	16.969
3	-3.7	8.231	24.949
4	-3.6	7.886	14.265
5	-3.5	4.205	10.706

6	-3.4	16.914	25.439
7	-3.3	20.235	28.065
8	-3.3	18.352	25.485
9	-3.3	17.128	25.718
10	-3.2	25.536	33.846

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, la predicción de los demás acoples se realizaron con el complejo FGF8b/FGFR para analizar y comparar la interacción de cada péptido obtenido con el péptido precursor 8b-13. Las tablas 5 y 6 presentan los resultados de los péptidos a los que se les realizó el primer corte por el extremo carboxilo (Ab1c) y por el extremo amino (Ab1n). De los resultados obtenidos, se identifican valores de afinidad viables hacia el complejo ya que todos los valores son negativos. Con respecto a los valores de RMSD, el péptido Ab1c presenta mejores resultados que el Ab1n debido a que la mayoría se encuentra por debajo de 10, con esto podemos concluir que las conformaciones del péptido Ab1c son más viables que las del Ab1n en el acoplamiento con el complejo.

Tabla 5. Resultados de docking molecular FGF8b/FGFR Ab1c

FGF8b/FGFR Ab1c			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-5.8	0.000	0.000
2	-5.7	3.821	13.893
3	-5.4	4.661	14.547
4	-5.2	21.629	27.765
5	-5.2	5.908	16.003
6	-5.2	3.827	8.969
7	-5.0	3.750	9.242
8	-5.0	3.917	9.126
9	-5.0	21.406	27.866
10	-4.9	4.031	9.392

Tabla 6. Resultados de docking molecular FGF8b/FGFR Ab1n

FGF8b/FGFR Ab1n			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-5.6	0.000	0.000
2	-5.4	22.772	28.082
3	-5.4	21.636	27.611
4	-5.4	20.210	24.871
5	-5.3	22.659	27.803
6	-5.3	22.075	27.563
7	-5.2	2.462	7.749
8	-5.1	24.057	28.152
9	-5.1	20.846	25.445
10	-5.1	30.400	37.055

Las tablas 7 y 8 representan los valores obtenidos de los péptidos a los que se les realizó dos cortes por el extremo carboxilo (Ab2c) y dos por el extremo amino (Ab2n), dentro de los resultados generados se observa valores de afinidad y conformaciones viables en el acoplamiento con el complejo.

Tabla 7. Resultados de docking molecular FGF8b/FGFR Ab2c

FGF8b/FGFR Ab2c			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-5.8	0.000	0.000
2	-5.7	4.847	10.154
3	-5.5	4.771	10.154
4	-5.5	3.412	11.379
5	-5.4	3.672	9.649
6	-5.4	3.530	11.436
7	-5.4	3.341	7.014
8	-5.3	3.357	8.152
9	-5.3	5.460	12.212
10	-5.3	3.503	9.883

Tabla 8. Resultados de docking molecular FGF8b/FGFR Ab2n

FGF8b/FGFR Ab2n			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-6.0	0.000	0.000
2	-5.7	2.651	10.243
3	-5.7	3.564	7.331
4	-5.6	2.725	10.209
5	-5.5	3.791	7.532
6	-5.5	2.008	3.527
7	-5.5	24.556	30.162
8	-5.3	26.486	31.841
9	-5.3	25.699	30.685
10	-5.3	2.549	6.196

Las tablas 9 y 10 presentan los resultados de los péptidos a los que se les realizó tres cortes por el extremo carboxilo (Ab3c) y tres cortes por el extremo amino (Ab3n). Los valores de afinidad muestran interacción viable hacia el complejo, probablemente mayor que los demás péptidos. Con respecto a los valores de RMSD, ambos péptidos contienen resultados viables de los valores RMSD l.b pero los valores de RMSD u.b en la mayoría se encuentran por encima de 10.

Tabla 9. Resultados de docking molecular FGF8b/FGFR Ab3c.

FGF8b/FGFR Ab3c			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-6.5	0.000	0.000
2	-6.2	3.749	11.048
3	-6.1	2.918	11.533
4	-6.0	4.254	10.554
5	-6.0	3.268	9.995
6	-5.9	25.481	30.006
7	-5.9	25.383	29.934
8	-5.8	3.208	8.278
9	-5.8	5.417	10.724
10	-5.8	3.426	8.820

Tabla 10. Resultado de docking molecular FGF8b/FGFR Ab3n

FGF8b/FGFR Ab3n			
Modo	Afinidad (kcal/mol)	Distribución desde el mejor modo	
		rmsd l.b	rmsd u.b
1	-6.2	0.000	0.000
2	-6.1	3.897	9.567
3	-6.0	3.134	11.116
4	-6.0	3.449	10.572
5	-5.8	4.316	10.747
6	-5.7	3.151	9.188
7	-5.6	20.296	23.133
8	-5.6	5.706	14.056
9	-5.4	18.322	22.236
10	-5.4	3.617	11.212

Se realizó la tabla 11 teniendo en cuenta los resultados anteriores. En esta tabla se encuentra el promedio de los valores de afinidad y el valor de la mejor afinidad, así como la secuencia de cada péptido.

Tabla 11. Mejores características de los péptidos evaluados.

Péptido	Secuencia peptídica	Promedio energía de afinidad (kcal/mol)	Mejor energía de afinidad (kcal/mol)
Ab1c	PNFTQHVREQSL	-5.2	-5.8
Ab2c	PNFTQHVREQS	-5.5	-5.8
Ab3c	PNFTQHVREQ	-6.0	-6.5
8b-13	PNFTQHVREQSLV	-5.4	-5.8
Ab1n	NFTQHVREQSLV	-5.3	-5.6
Ab2n	FTQHVREQSLV	-5.5	-6.0
Ab3n	TQHVREQSLV	-5.8	-6.2

En los resultados de la tabla 11 podemos concluir que al quitar residuos de los extremos del péptido 8b-13 no influye significativamente la afinidad hacia el complejo debido a que todos los resultados son negativos por lo que son probablemente viables en el acoplamiento hacia el receptor. Estos resultados son prometedores, debido a que se sugieren péptidos

con afinidad hacía el complejo y con menores residuos que el péptido precursor. En síntesis de péptidos en fase sólida, generalmente, algunos residuos como la prolina influyen sustancialmente los rendimientos por lo que, encontrar péptidos que mejoran y/o mantienen la afinidad por el receptor amplían las posibilidades de mejorar notablemente la obtención de estas moléculas peptídicas. Además, se identificó que los péptidos Ab2n, Ab3n y Ab3c son los péptidos con mejores resultados de energía de afinidad, comparado con el péptido precursor 8b-13. Por lo que, a estos péptidos se les realizó una evaluación más profunda al identificar los residuos que interactúan en el acople hacia el complejo FGF8b/FGFR, comparados con el péptido 8b-13.

2.4 Análisis de interacciones

En la tabla 12 se presentan los resultados de los residuos claves en la interacción del péptido 8b-13 con el complejo FGF8b/FGFR. En este acople se identificaron 12 reacciones tipo enlaces hidrógeno, dos hidrofóbicas y dos electroestáticas. La GLN5 del péptido es el residuo que se encuentra más involucrado con el complejo participando en seis interacciones respectivamente. Seguido se encuentra la GLU9, con tres interacciones. La interacción de la mejor conformación del péptido 8b-13 con el complejo se encuentra representada en la figura 2, donde en colores se muestran los residuos del péptido 8b-13 interactuando con los residuos del complejo.

Tabla 12. *Residuos involucrados en el acoplamiento molecular del 8b-13 al complejo FGF8b/FGFR.*

FGF8B/FGFR 8b-13	
Residuos	Categoría
R:ILE3324:HN1 - A:GLU9:OE1	Puente de sal
R:ILE3324:HN1 - A:VAL7:O	Puente de Hidrógeno
R:ILE3324:HN3 - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno
R:ILE3324:HN2 - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HE - A:GLU9:O	Puente de Hidrógeno
R:VAL3280:HN - A:GLU9:OE2	Pi-anión
R:TYR3281:HH - A:ASN2:O	Pi- Alquilo
R:TYR3281 - A:PHE3	Hidrofóbico
R:ILE3324:HN3 - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno
R:ILE3324:HN2 - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno

A:GLN5:HE21 - R:GLU3250:OE2	Puente de Hidrógeno
A:GLN5:HE21 - R:SER3282:O N:LYS1176 - A:PRO1	Puente de Hidrógeno Carbono
N:LYS1176:CE - A:PRO1:O	Alquilo
R:GLU3250:OE1 - A:PHE3	Pi-Pi

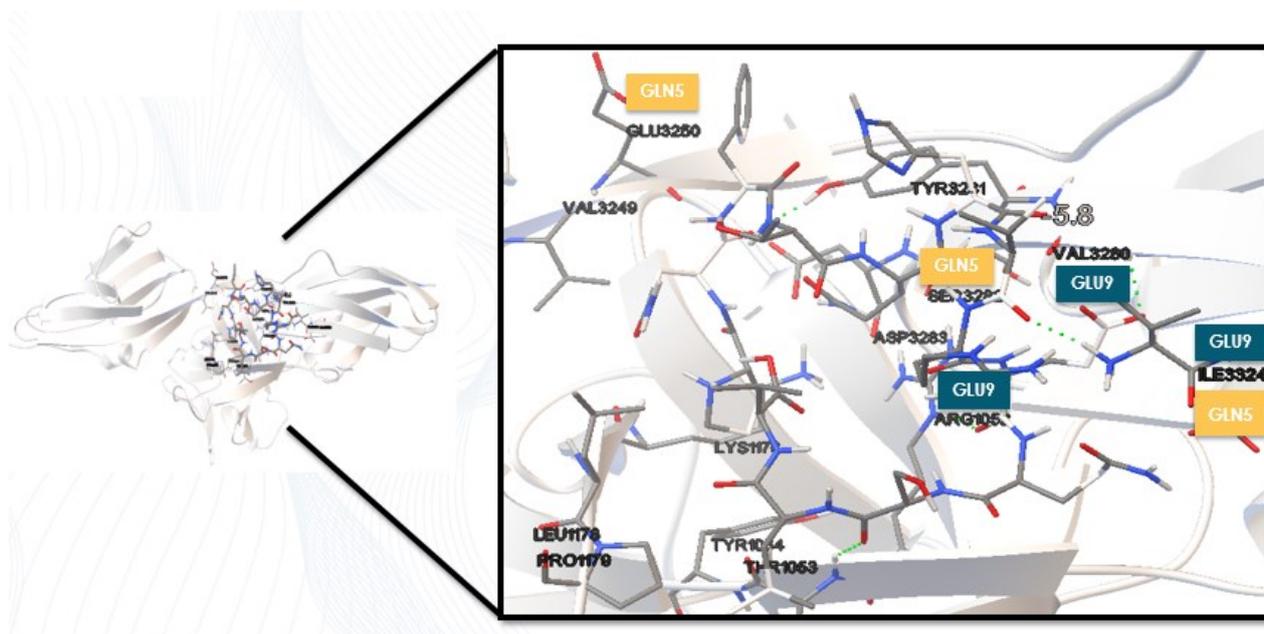


Figura 2. Representación del acople molecular del péptido 8b-13 al complejo FGF8b/FGFR.

En la tabla 13 se muestran los residuos de interacción en el acople del péptido Ab2n al complejo FGF8b/FGFR y se evidencian los residuos que más participan en la interacción como la ARG6 y la VAL5. Esta interacción se encuentra estabilizada por una interacción atractiva, cuatro puentes de hidrógeno, un enlace carbono y una interacción tipo pi-sigma. En la figura 3 se encuentra la representación gráfica de la mejor conformación y mejor resultado de energía de afinidad (-6,0) del péptido Ab2n hacia el complejo FGF8b/FGFR.

Tabla 13. Residuos involucrados en el acoplamiento molecular del Ab2n al complejo FGF8b/FGFR.

FGF8B/FGFR Ab2n	
Residuos	Categoría
A:ARG6:NH1 - R:GLU3250:OE1	Atractiva
N:ARG1052:HH12 - A:VAL5:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HH22 - A:GLN3:OE1	Puente de Hidrógeno

R:TYR3281:HH - A:ARG6:O	Puente de Hidrógeno
A:THR2:HG1 - R:GLU3325:OE2	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:CD - A:VAL5:O	Carbono
N:ILE1051:CG2 - A:PHE1	Pi-Sigma

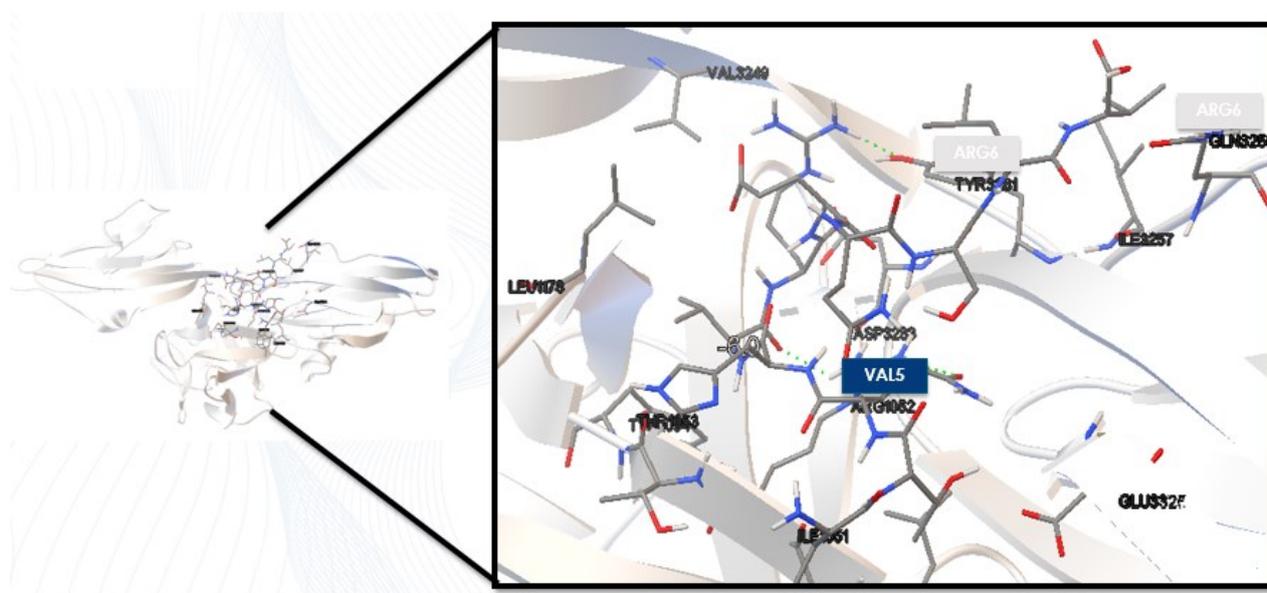


Figura 3. Representación del acoplamiento molecular del Ab2n con el complejo FGF8b/FGFR.

En la tabla 14 se observan los residuos de interacción del péptido Ab3c con el complejo FGF8b/FGFR y se evidencia que el residuo GLN5 se encuentra participando mucho más en la interacción que los otros residuos registrados. La interacción se encuentra estabilizada por diez puentes de hidrógeno, una pi-anión, una alquilo y dos pi-alquilo. En la figura 4 se encuentra la representación de la interacción entre los residuos del péptido Ab3c de la mejor conformación y energía de afinidad con los residuos del complejo FGF8b/FGFR.

Tabla 14. Residuos involucrados en el acoplamiento molecular del Ab3c al complejo FGF8b/FGFR.

FGF8B/FGFR Ab3c	
Residuos	Categoría
N:ARG1052:HE - A:GLN5:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HH12 - A:GLU9:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HH21 - A:GLN5:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HH22 - A:THR4:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052:HH22 - A:GLN5:O	Puente de Hidrógeno
N:LYS1176:HZ3 - A:GLU9:O	Puente de Hidrógeno
R:TYR3281:HH - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno

R:ILE3324:HN1 - A:GLN5:OE1	Puente de Hidrógeno
A:ASN2:HD21 - R:GLN3259:OE1	Puente de Hidrógeno
A:GLN5:HE22 - R:CYS3278:O	Puente de Hidrógeno
R:GLU3325:OE2 - A:HIS6	Pi-anión
A:ARG8 - N:LEU1178	Alquilo
A:PHE3 - R:LYS3279	Pi-Alquilo
A:HIS6 - N:LEU1050	Pi-Alquilo

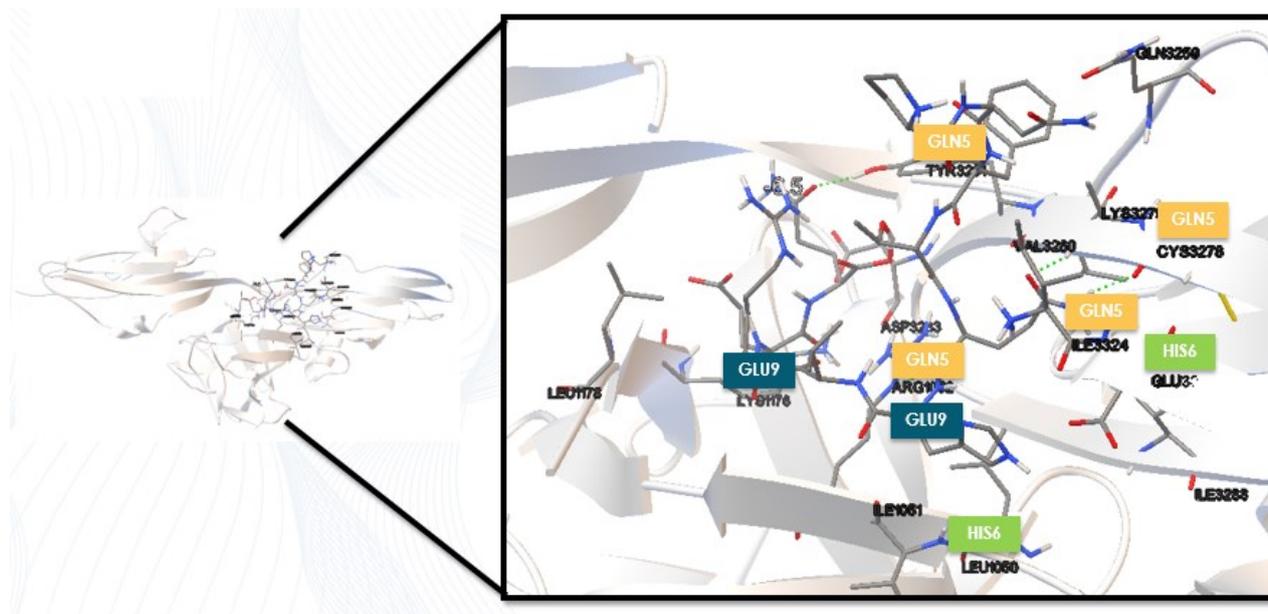


Figura 4. Representación del acoplamiento molecular del Ab3c con el complejo FGF8b/FGFR.

En la tabla 15 se encuentran los resultados de los residuos involucrados en la interacción entre el péptido Ab3n y el complejo FGF8b/FGFR. En los resultados se observa el residuo ARG5 con mayor participación en la interacción (4 veces), esta interacción se encuentra estabilizada por ocho puentes de hidrógeno, un puente de sal, una interacción de tipo alquilo y dos de tipo pi-alquilo. En la gráfica 8 se observa el acoplamiento de la mejor conformación y energía de afinidad del péptido Ab3n que se encuentran en colores, con los residuos del complejo.

Tabla 15. Residuos involucrados en el acoplamiento molecular del Ab3n al complejo FGF8b/FGFR.

FGF8B/FGFR Ab3n	
Residuos	Categoría
A:ARG5:HH12 - R:ASP3283:OD1	Puente de sal
N:ILE1051:HN - A:GLN2:OE1	Puente de Hidrógeno

N:ARG1052:HE - A:GLU6:O	Puente de Hidrógeno
N:THR1053:HN - A:GLU6:OE2	Puente de Hidrógeno
R:TYR3281:HH - A:HIS3:O	Puente de Hidrógeno
R:ILE3324:HN3 - A:GLN2:O	Puente de Hidrógeno
A:GLN2:O - R:GLU3250:OE1	Puente de Hidrógeno
A:VAL4:H - R:VAL3280:O	Puente de Hidrógeno
A:ARG5:HH11 - R:ASP3283:O	Puente de Hidrógeno
N:ARG1052 - A:ARG5	Alquilo
N:TYR1054 - A:ARG5	Pi-Alquilo
R:TYR3281 - A:VAL4	Pi-Alquilo

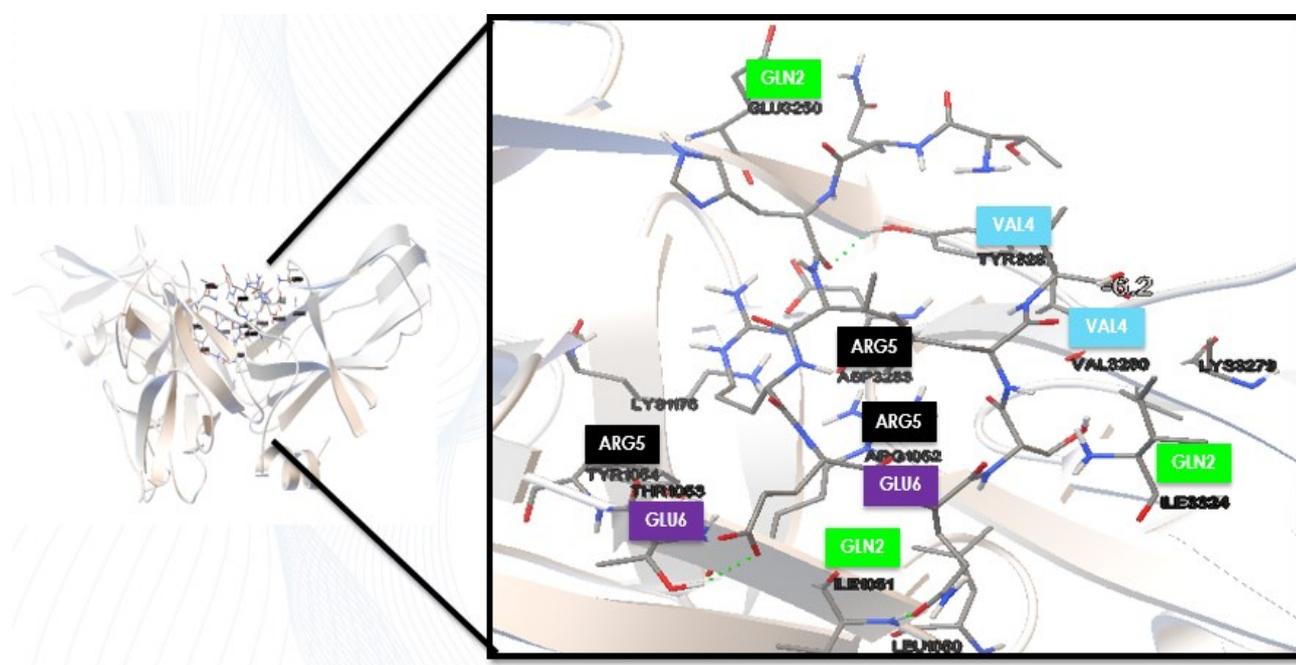


Figura 5. Representación del acoplamiento molecular del Ab3n con el complejo FGF8b/FGFR.

3. Conclusiones

En este trabajo se realizó el análisis *in silico* del péptido 8b-13 hacia el receptor FGFR y hacia el complejo FGF8b/FGFR con el fin de identificar el mejor comportamiento y la mejor afinidad hacia estas proteínas.

Se identificó que el péptido 8b-13 presentaba mejor afinidad hacia el complejo ratificando de esta manera la actividad biológica de este péptido al inhibir la interacción del FGF8b al receptor FGFR, como lo mencionado por estudios previos (4,7). Con este resultado, la

predicción del acople molecular se realizó de la misma manera para todos los péptidos de la librería con el complejo FGF8b/FGFR con el fin de realizar la comparación de los resultados obtenidos por el péptido 8b-13 y los péptidos derivados.

Los resultados del docking molecular permitieron observar las conformaciones viables para cada uno de los péptidos, además de los valores de afinidad para cada conformación. En donde se identificó la viabilidad de los péptidos al acoplarse con el complejo, los aminoácidos importantes en el acople y los tipos de interacción que se encontraban estabilizando el complejo péptido 8b-13 acoplado al complejo FGF8b/FGFR.

Los resultados sugieren que las secuencias peptídicas Ab3c y Ab3n presentan mayor afinidad hacia el complejo FGF8b/FGFR y al presentar una menor cantidad de residuos en las secuencias propuestas se pueden mejorar significativamente su obtención por SSPS (síntesis de péptidos en fase sólida).

Además, se identificó que el residuo GLN5 es el residuo con mayor incidencia en la interacción de los péptidos derivados de la secuencia peptídica 8b-13 con el complejo, participando la mayoría de veces en esta interacción, seguido a este se encuentra el residuo GLU9.

Estos resultados son de gran interés ya que no solo presentan los residuos importantes en los acoples moleculares, sino que, además sugiere que péptidos cortos sintéticos derivados del 8b-13 pueden ser utilizados en la evaluación experimental dirigida a la inhibición de la proliferación de células asociadas al cáncer de próstata como una alternativa para el diagnóstico y/o tratamiento de esta enfermedad.

Agradecimientos

Primeramente, a Dios por ponerme justo en el camino para descubrir esta hermosa carrera, brindarme el tiempo y la salud para culminarla.

A mis padres, que fueron siempre mi motivación e impulso para seguir adelante a pesar de las adversidades y quienes trasnocharon conmigo en varias oportunidades. Mi familia en general, a quienes siempre les dedicaré mis triunfos y están ahí aplaudiendo cada logro.

A mi asesor y amigo de trabajo de grado German García que con su paciencia, dedicación y compañía me impulso a seguir con el trabajo sin importar las adversidades presentadas.

A mis amigos, colegas que siempre estuvieron brindándome su apoyo, conocimiento y acompañamiento en todo este proceso, el camino no hubiese sido lo mismo sin buenas amistades que en medio de días difíciles siempre encontraba una sonrisa que me impulsaba a seguir; mis amistades más antiguas que siempre me han dado aliento para jamás rendirme y seguir por mis sueños sabiendo que siempre estarán ahí para apoyarme.

A la universidad Antonio Nariño y docentes en general por los espacios brindados, enseñanzas y buenos momentos durante toda la carrera.

Referencias

1. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: a cancer journal for clinicians*, 69(1), 7-34.
2. Acuña, L. (11 de Julio de 2019). Cuenta de Alto Costo. Obtenido de https://www.cuentadealtocosto.org/site/images/Reporte_Especial_Dia_mundial_del_cancer_de_prostata_2019.pdf.
3. Coughlin, S. S. (2019). A Review of Social Determinants of Prostate Cancer Risk, Stage, and Survival. *Prostate International*.
4. Bidwell III, G. L., & Raucher, D. (2009). Therapeutic peptides for cancer therapy. Part I—peptide inhibitors of signal transduction cascades. *Expert opinion on drug delivery*, 6(10), 1033-1047.
5. Li, T., Luo, W., He, D., Wang, R., Huang, Y., Zeng, X., ... & Li, X. (2013). A short peptide derived from the gN helix domain of FGF8b suppresses the growth of human prostate cancer cells. *Cancer letters*, 339(2), 226-236.
6. Valta, M. P., Tuomela, J., Bjartell, A., Valve, E., Väänänen, H. K., & Härkönen, P. (2008). FGF - 8 is involved in bone metastasis of prostate cancer. *International*

- journal of cancer, 123(1), 22-31.
7. Gnanapragasam, V. J., Robinson, M. C., Marsh, C., Robson, C. N., Hamdy, F. C., & Leung, H. Y. (2003). FGF8 isoform b expression in human prostate cancer. *British journal of cancer*, 88(9), 1432-1438.
 8. Dorkin, T. J., Robinson, M. C., Marsh, C., Bjartell, A., Neal, D. E., & Leung, H. Y. (1999). FGF8 over-expression in prostate cancer is associated with decreased patient survival and persists in androgen independent disease. *Oncogene*, 18(17), 2755.
 9. Drake, J. M., Graham, N. A., Lee, J. K., Stoyanova, T., Faltermeier, C. M., Sud, S., ... & Witte, O. N. (2013). Metastatic castration-resistant prostate cancer reveals inpatient similarity and interpatient heterogeneity of therapeutic kinase targets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(49), E4762-E4769.
 10. Gdowski, A. S., Ranjan, A., & Vishwanatha, J. K. (2017). Current concepts in bone metastasis, contemporary therapeutic strategies and ongoing clinical trials. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 36(1), 108.
 11. Liu, H., Lin, X., Huang, T., Song, L., Zhu, C., Ma, H., ... & Huang, Y. (2018). A short peptide reverses the aggressive phenotype of prostate cancer cells. *European journal of pharmacology*, 838, 129-137.
 12. Rentsch, R., & Renard, B. Y. (2015). Docking small peptides remains a great challenge: an assessment using AutoDock Vina. *Briefings in Bioinformatics*, 16(6), 1045-1056.
 13. Shen Y, Maupetit J, Derreumaux P, Tufféry P. Improved PEP-FOLD approach for peptide and miniprotein structure prediction *J. Chem. Theor. Comput.* 2014; 10:4745-4758
 14. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.
 15. O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 (2010) 455-46. DOI 10.1002/jcc.21334.
 16. Seeliger, D., & de Groot, B. L. (2010). Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. *Journal of computer-aided molecular design*, 24(5), 417-422.
 17. Raschka, S. (2014). Molecular docking, estimating free energies of binding, and AutoDock's semi-empirical force field.
 18. BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego: Dassault Systèmes, 2016.
 19. Chang, K. Y., & Yang, J. R. (2013). Analysis and prediction of highly effective antiviral

peptides based on random forests. *PloS one*, 8(8), e70166.