



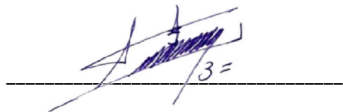
BUAP

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por el D.C. Francisco Javier Meléndez Bustamante, D.C. Diana Casique Aguirre, D.C. Fabián Galindo Ramírez y el D.C. Eliud Morales Dávila, informan haber leído y aprobado, la tesis denominada **“Investigación de la selectividad del receptor de quimiocinas, CXCR7”**, que presenta el alumno **Ian Asaf Muñoz Granados** (224470030), para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los veinticuatro días del mes de febrero del año dos mil veintiséis.

ATENTAMENTE



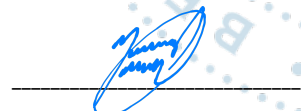
D.C. Francisco Javier Meléndez Bustamante



D.C. Diana Casique Aguirre



D.C. Fabián Galindo Ramírez



D.C. Eliud Morales Dávila



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**POSGRADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“Investigación de la selectividad del receptor
de quimiocinas, CXCR7”**

**Tesis presentada para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Químicas en el área de
Fisicoquímica**

Presenta QFB. Ian Asaf Muñoz Granados

Asesores

Dr. José Manuel Pérez Aguilar.

Dra. Brenda Leonor Sánchez Gaytán

Marzo, 2026.

Tabla de contenido

Resumen	3
Teoría	3
Inicios	3
Progresos representativos.	5
Estructura de las proteínas.	5
Ángulos diedros flexibles ϕ , ψ y ángulo rígido ω	6
Ángulos diedros flexibles χ	7
Campo de fuerza.....	7
Proteínas de membrana.	9
Activación de GPCRs.....	11
CXCR7/ACKR3	12
Justificación.	15
Objetivos.....	15
Metodología.	16
Obtención de la estructura de CXCR7	16
Construcción del complejo CXCR7-CXCL12.....	17
Construcción del complejo CXCR7-CXCL11	18
Construcción del complejo CXCR7-LIH383	18
Construcción del complejo CXCR7-CCX662.....	18
Construcción del sistema CXCR7-APO	18
Preparación de los sistemas.	18
Numeración de Ballesteros-Weinstein para GPCRs de la clase A.....	19
Análisis de estructura secundaria	19
Simulaciones de dinámica molecular.....	19
Resultados y discusión.	20
.....	37
Conclusiones.	51
Bibliografía	51
Apéndice I	57
Apéndice II.....	58
Apéndice III.....	58
Apéndice IV	59
Apéndice V	59

Resumen

El receptor CXCR7/ACKR3, perteneciente a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) de la clase A, exhibe una notable capacidad pleiotrópica al interactuar con ligantes de diversa naturaleza química, que abarcan desde quimiocinas (CXCL12, CXCL11) y péptidos opioides, hasta moléculas de bajo peso molecular como el compuesto CCX662. Mediante la implementación de diversas técnicas computacionales, incluidas las simulaciones de dinámica molecular, se caracterizaron los complejos formados por el receptor CXCR7 y distintos ligantes, lo que permitió obtener una descripción detallada de las interacciones ligante-proteína y de los cambios conformacionales derivados de estas asociaciones. Complementariamente, se realizó la caracterización conformacional del sistema en ausencia de ligante (CXCR7-APO), lo que permitió contrastar con los efectos producidos por los ligantes.

De manera relevante, se describió la presencia de un sitio de unión a sodio en la cavidad criptica del receptor, así como el descubrimiento un nuevo sitio de unión a sodio en la región extracelular del sitio de unión ortostérico. La identificación de dicho sitio resulta fundamental para el diseño racional de fármacos con mayor especificidad y selectividad dirigidos a CXCR7.

Teoría

Inicios

Las raíces del modelado molecular comenzaron con la noción de la geometría molecular, energía y diversas propiedades que pueden calcularse a partir de modelos mecánicos sujetos a fuerzas físicas básicas. Una molécula está representada como un sistema mecánico en el cual las partículas “átomos” están conectados por resortes “enlaces covalentes”. La molécula puede rotar, vibrar y trasladarse para adoptar conformaciones favorables en el espacio como respuesta colectiva a las fuerzas intra e intermoleculares que actúan sobre la molécula.¹

La mecánica molecular surgió naturalmente de los conceptos de enlace molecular y fuerzas de van der Waals, en la década de los años 1960 un trabajo pionero desarrollo un campo de fuerza sistemático basado en información espectroscópica, calores de formación, estructuras de compuestos pequeños que compartían grupos químicos, e información de mecánica cuántica, comenzaron independientemente en los laboratorios de Shneior Lifson en el instituto de ciencias Weizmann², en la universidad de Cornell con Harold Scheraga, en la universidad de estatal de Wayne con Norman Allinger; estos investigadores comenzaron a desarrollar los parámetros del campo de fuerza para compuestos químicos probando los resultados de los cálculos frente a datos experimentales de estructuras y energías.¹ Para finales de la década de 1960, Levitt y Lifson reportaron el primer cálculo de energía de una proteína completa (mioglobina y lisozima), en la cual los potenciales moleculares y la restricciones experimentales definieron la función energética en coordenadas cartesianas.³ Esto debido a el tratamiento de coordenadas cartesianas descrito por Lifson y Warshel en 1968⁴. Su esfuerzo en programar los campos de fuerza en coordenadas cartesianas allano el camino para los subsecuentes cálculos de minimización de energía y cálculos de dinámica molecular de biomoléculas, dando paso a una eficiente evaluación de las funciones, junto con el análisis de la primera y segunda derivada que permitieron ser integradas en los programas de modelado molecular².

Pasado más de una década, se establecieron la primera generación de campos de fuerza de biomoléculas. En esta ocasión Martin Karplus en la universidad de Harvard revitalizó la idea de usar dinámica molecular, la mayoría de programas y campos de fuerzas actuales, están basados en los trabajos de los pioneros en el área antes mencionados, así mismo la incorporación del campo de fuerza de agua en 1980 por el equipo de Berendsen y Jorgensen los modelos (SCP y TIP3P/TIP4P)⁵ respectivamente dieron paso a simulaciones de biomoléculas en solución explícita.

Progresos representativos.

La primer simulación de dinámica molecular de un proceso biológico fue en 1977 de una proteína pequeña, el inhibidor de la tripsina pancreática bovina, mostrando fluctuaciones atómicas substanciales en la escala de los picosegundos^{6,7}. El decapeptido linear GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) fue estudiado en 1984 por su potencial farmacológico⁸, para 1985 usando simulación de dinámica molecular, se obtuvieron 300 ps de la proteína mioglobina, dicha simulación contaba con 1423 átomos y a una temperatura de 298 K⁹, en 1989 se describió la simulación de dinámica molecular de una micela hidratada, dicho ensamble consistió de una micela esférica con 85 moléculas de lisofosfatidiletanolamina y 1591 moléculas de agua¹⁰. En 1992 se comparó la importancia de usar solvente explícito en el sistema de la proteasa del virus del VIH, donde se incluyó el dímero de la proteasa (HIV-1 PR), 6990 moléculas de agua del modelo SCP, donde se concluyó que el uso de agua explícita en las simulaciones de dinámica molecular daba resultados más similares a la estructura resuelta de rayos X, que en condiciones diferentes de simulación¹¹, para finales de la década de 1990, se habían alcanzado nuevos horizontes, con la implementación del método de malla de partículas de Ewald, (" *PME Particle Mesh Ewald*"), condiciones periódicas, solvatación implícita y dinámicas de Langevin empezaron a ser usadas en la primera década de los años 2000. Años después simulaciones más largas y grandes en cantidad de átomos incluidos en el sistema son posibles, gracias a programas especializados como NAMD, GROMACS y sin uso especializado de computadoras como Anton¹.

Estructura de las proteínas.

El término proteína se origina de la palabra griega "*proteios*", que significa "*primario*", el termino fue aptado por Jöns Berzelius en 1838 para enfatizar la importancia de esta clase de moléculas¹. Proteínas y polipéptidos están formados por la unión de aminoácidos. Esa secuencia de aminoácidos es conocida como estructura primaria. Cada aminoácido consiste en un carbono central tetraédrico conocido como alfa (α),

dicho carbono alfa (C_α) está unido a cuatro unidades: un átomo de hidrógeno, un grupo amino protonado (NH_3^+), un grupo carbonilo (COO^-), y una cadena lateral distintiva para cada aminoácido o grupo R. El C_α en su arreglo tetraédrico puede generar dos imágenes especulares. Solo el isómero L es parte constitutiva de las proteínas en el planeta Tierra. La forma dipolar o zwitteriónica de los aminoácidos es típica para pH neutro (pH de 7).

Un polipéptido se forma cuando los aminoácidos se unen, el carbono del carboxilo de un aminoácido se une al nitrógeno del grupo amino de otro aminoácido para formar un enlace peptídico con la liberación de una molécula de agua (Figura 1). Cada aminoácido tiene una combinación de propiedades únicas (tamaño, polaridad, constituyentes cíclicos, puentes disulfuro, etc.) que forman y estabilizan la estructura tridimensional de una proteína¹.

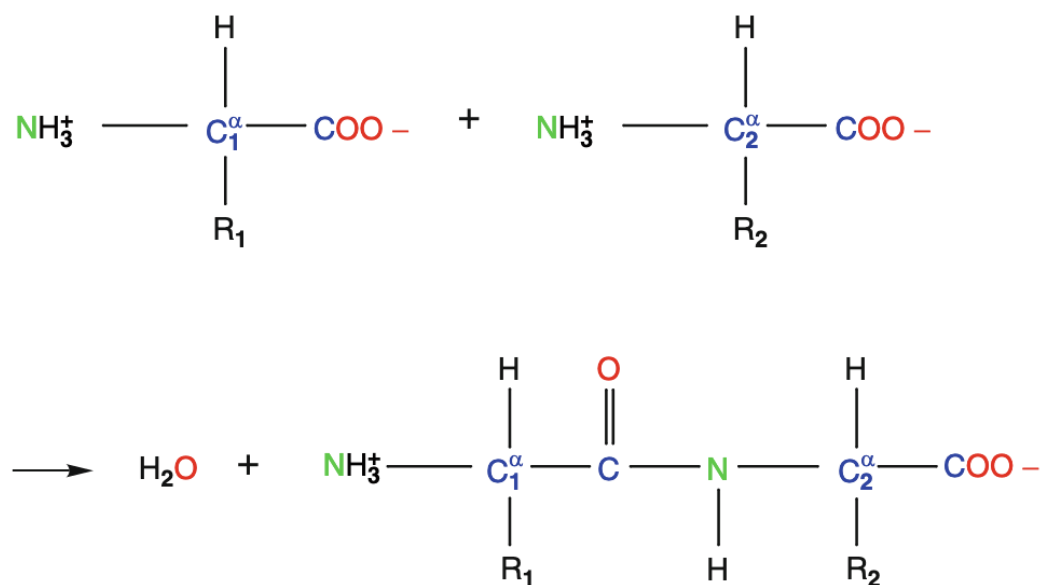


Figura 1 Fórmula general de un aminoácido y formación de un dipéptido por la unión de dos aminoácidos.

Ángulos diedros flexibles ϕ , ψ y ángulo rígido ω

Los polipéptidos tienen una amplia variedad de conformaciones que difieren solo en sus orientaciones rotacionales sobre enlaces covalentes. Este tipo de rotaciones

flexibles está caracterizado por ángulos diedros, los cuales son una medida relativa de orientación de cuatro átomos unidos en una molécula, $i-j-k-l$ (Apéndice I). Los dos ángulos diedros ϕ y ψ son usados para definir las rotaciones entre el enlace del nitrógeno con el C_α de la cadena principal y entre C_α y el carbono del carbonilo, respectivamente. El ángulo diedro ω define la rotación sobre el enlace peptídico formado por la secuencia de átomos $C_\alpha - \{C-N\} - C_\alpha$ donde los C_α corresponden a los carbonos alfa de dos aminoácidos adyacentes. Debido al carácter de doble enlace del enlace peptídico e impedimentos estéricos entre cadenas laterales, el ángulo diedro esta típicamente en la configuración trans (180°). En esta orientación los cuatro átomos recaen sobre el mismo plano, con las distancias de los carbonos alfa más distantes posibles¹. (Apéndice I)

Ángulos diedros flexibles χ

Además de la flexibilidad de los ángulos ψ y ϕ asociada a los dos enlaces del esqueleto que involucran al C_α , son posibles múltiples conformaciones para 18 de los 20 aminoácidos cuando las geometrías de sus cadenas laterales difieren. Los ángulos diedros utilizados para definir las rotaciones de las cadenas laterales se denotan por la letra χ , añadiendo subíndices según sea necesario¹. (Apéndice I)

Campo de fuerza.

El enfoque de la mecánica molecular fue desarrollado por Alder y Wainwright a finales de la década de 1950, consiste en utilizar un esquema de “esferas unidas con resortes” para representar moléculas, donde cada esfera corresponde a un átomo y cada resorte a un enlace covalente. Esta representación permite modelar moléculas mediante la mecánica newtoniana. El cálculo de las fuerzas y la integración de la ecuación de movimiento de Newton permiten calcular la evolución temporal de un sistema dado.¹²

El primer campo de fuerza apareció en la década de 1960, con el desarrollo de la mecánica molecular, y su meta principal era predecir estructuras moleculares, espectros vibracionales y entalpías de moléculas aisladas, estos campos de fuerza fueron creados para estudiar principalmente hidrocarburos, como lo son los campos

de fuerza implementados por el grupo de Allinger. Desde entonces el alcance de los campos de fuerza se ha movido a tratar sistemas más complejos, dando lugar al desarrollo de una variedad de campos de fuerza aplicables como CHARMM, AMBER, GROMOS, OPLS, la mayoría son generales, pero los tres primeros son los que se usan frecuentemente en simulaciones de biomoléculas.¹³

El campo de fuerza de CHARMM, es uno de los campos de fuerza más exitosos en el estudio de biomoléculas. Descrito por primera vez por Karplus en su artículo “CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations”¹⁴, en 2006 este campo de fuerza fue utilizado en una simulación que rompió la barrera de 1 millón de átomos en una simulación de dinámica molecular, donde se estudió la curvatura dinámica de las membranas lipídicas causada por proteínas, el sistema consistió de 1 122 340 átomos y el tiempo de simulación fue 10 ns.¹⁵

La dinámica molecular es un método de simulación clásico que muestrea el espacio de fases a través de generar una trayectoria que está totalmente determinada por las interacciones entre las partículas; de acuerdo con la aproximación de Born-Oppenheimer, el movimiento de los núcleos de una molécula es mucho más lento que el movimiento de los electrones, así que ambos movimientos se pueden tratar de manera separada. En métodos basados en mecánica cuántica, esto significa la parte electrónica del Hamiltoniano es resuelta para una configuración nuclear fija. El cambio de esta configuración genera un nuevo problema electrónico que debe resolverse de nuevo. Sin embargo, en los métodos clásicos, la aproximación de Born-Oppenheimer implica que los electrones son ignorados, mientras que la energía molecular se calcula en función de la posición de los núcleos.¹⁶

Las simulaciones de dinámica molecular requieren una descripción precisa de la energía y de las interacciones entre las diferentes entidades que forman el biosistema. Al conjunto de funciones de energía potencial de las que se derivan las fuerzas se denominan comúnmente campo de fuerzas (*FF* del inglés *Force Field*) y es un

componente fundamental para determinar la evolución temporal del sistema. En nuestro caso, se utilizará el campo de fuerza de CHARMM (*Chemestry at HARvard Macromolecular Mechanics*). Así el cálculo de la energía potencial en un campo de fuerza toma la siguiente forma:

$$U = E_{\text{enlace}} + E_{\text{no enlace}} = (E_{\text{enlace}} + E_{\text{angulos}} + E_{\text{torsiones}}) + (E_{VDW} + E_{Coulomb})$$

Sustituyendo:

$$U = \sum_{\text{enlace}} \frac{1}{2} K_b (r - r_0)^2 + \sum_{\text{angulos}} \frac{1}{2} K_a (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{torsión}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \delta)] \\ + \sum_{\text{impropio}} V_{\text{imp}} + \sum_{LJ} 4\epsilon_{ij} \left(\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right) + \sum_{\text{elec}} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

Los FF comprenden términos de interacción enlazantes y no enlazantes, las interacciones enlazantes incluyen la energía del oscilador armónico de las longitudes de los enlaces, los ángulos de enlace y los ángulos diedros de torsión, mientras que las interacciones de *van der Waals* y las interacciones electrostáticas contribuyen a las interacciones no enlazantes. Cabe mencionar que las interacciones no enlazantes del tipo van der Waals están descritas por el potencial de 12-6 de Lennard-Jones.¹⁷

Proteínas de membrana.

Las proteínas transmembranas, atraviesan por completo la membrana celular formando hélices α de paso único o múltiple por la membrana, son anfipáticas debido a que presentan una distribución asimétrica de los grupos hidrófilos e hidrófobos, lo que les hace estar en parte embebidas en la membrana y en partes sobresalientes. La extensión en que están embebidas se regula por el equilibrio termodinámico, determinado por la secuencia de aminoácidos y la estructura covalente de la molécula, así como por su interacción con las moléculas que la rodean.¹⁸ Los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), también conocidos como receptores de siete hélices transmembranales (7HT-) representan la familia de proteínas de membrana más extensa, GPCRs son activadas por una variedad de estímulos incluyendo fotones, iones, pequeñas moléculas orgánicas y macromoléculas

(péptidos y proteínas). La familia de las GPCRs está compuesta por aproximadamente 800 genes en el genoma humano, que regulan vías de señalización involucradas en diversos roles fisiológicos.¹⁹

Se han identificado miles de distintos GPCR en organismos, desde levaduras hasta las plantas fanerógamas y mamíferos, y en conjunto regulan un espectro extraordinario de procesos celulares.²⁰

Los receptores acoplados a proteína G (GPCRs) se clasifican en seis clases: Clase A (receptores similares a rodopsina), clase B, C, D, E y F. Todas las GPCRs de la clase A, comparten una arquitectura de siete hélices transmembranales (HT-1-HT-7) que están conectadas por tres hazas extracelulares (ECL1-3) y tres hazas intracelulares (ICL1-3). El N terminal de la proteína está en la parte extracelular y es responsable por reconocer a una variedad de ligantes, el conjunto de las 7 hélices transmembranales forma el núcleo estructural, la unión de ligantes genera la transducción de la señal a través de cambios conformacionales en la región intracelular. La parte intracelular interactúa con proteínas G, arrestinas y otros efectores de señal rio abajo.²¹

El primer estudio documentado sobre GPCRs data del siglo diecinueve, donde se describió la purificación y aplicación de alcaloides como morfina en 1805 y pilocarpina en 1875, para la mitad del siglo veinte se descubrió la función molecular de la adrenalina mediada por algo que se le denominó “receptores adrenérgicos”. Los reportes de la primera cristalografía de rayos-X de dos estructuras prototípicas de GPCRs, rodopsina bovina en el año 2000 y el adreno receptor β_2 en 2007 revelaron los detalles de la arquitectura de los receptores, dando indicios de mecanismos y diseño de fármacos basados en la estructura. Los esfuerzos desde las estructuras de rayos-X de muchas otras GPCRs, así como el progreso con cryo microscopia electrónica (cryo-EM) y resonancia magnética nuclear (NMR) para estudiar pequeñas moléculas e interacciones receptor ligante y dinámicas del receptor.²²

La habilidad de las GPCRs de transmitir una señal a través de la membrana celular depende en su habilidad de cambiar de forma. Ligantes extracelulares se unen en el

lado extracelular del GPCR y favorecen cambios estructurales. El control de este mecanismo es altamente complejo, entender las bases estructurales para estos procesos dinámicos de señalización han representado un reto, para elucidar las bases moleculares de la señalización de GPCR, debemos entender la dinámica de las GPCRs, como estas cambian de forma a través del tiempo. Actualmente no solo se tiene información de cristalografías sino también de experimentos espectroscópicos y simulaciones computacionales. Simulaciones de dinámica molecular a nivel atómico, se han convertido en una herramienta poderosa en años recientes, debido al incremento del poder computacional, mejoras en algoritmos de simulación y refinamiento de funciones de energía que representan mejor el trasfondo físico. Iniciando desde una estructura estática experimental, las simulaciones predicen el movimiento de cada átomo en el receptor, así como también cada movimiento de cada átomo de la molécula que interactúa con el receptor.²³

Activación de GPCRs

Existen dos mecanismos posibles mediante los cuales una molécula llamada agonista puede mediar la activación de los GPCRs. Por un lado, la molécula agonista puede estabilizar un conjunto de conformaciones conocidas como “estados activos”, desplazando el equilibrio conformacional hacia estos.²⁴ Por otro lado, la unión del agonista puede iniciar cambios estructurales discretos en el sitio de unión a ligante que se propagan a través del receptor mediante el reordenamiento de residuos específicos; estos reajustes conformacionales dan lugar a cambios estructurales globales hacia poblaciones conformacionales activas.²⁵ Finalmente, los receptores en estado activo presentan una mayor probabilidad de interactuar con moléculas intracelulares (efectores) que inician cascadas de señalización capaces de alterar el metabolismo celular.²⁶

Diversas estructuras resueltas han servido como punto de partida para simulaciones de dinámica molecular que han logrado dilucidar mecanismos de activación e inactivación²⁷. Además, la extensión de estas simulaciones permite capturar conformaciones intermedias adoptadas durante la fase de transición de estados

inactivos a activos. A un nivel más detallado, las simulaciones de dinámica molecular facilitan el estudio de rearrreglos estructurales sutiles relacionados con la activación. Como se demostró en el estudio del receptor de adenosina A_{2A}, donde se observó que el residuo W6.48 tenía diferentes estados conformacionales en respuesta a diversos agonistas. Además, el análisis de los contactos receptor-ligante permitió identificar interacciones que promueven respuestas de señalización específicas y cambios locales estructurales que incrementan la movilidad de la hélice transmembranal 6 (-6).^{28,29}

CXCR7/ACKR3

CXCR7 es un receptor transmembranal que fue nombrado **ACKR3**, debido a que pertenece a la familia de receptores atípicos de quimiocinas (ACKRs). La mayoría de los ACKRs carecen del dominio funcional necesario para acoplar proteínas G y señalizar de manera convencional. En 2005, este receptor fue designado oficialmente como **CXCR7** de acuerdo con la nomenclatura de receptores de quimiocinas.³⁰

Una característica distintiva es que la mayoría de los receptores de quimiocinas comparten un motivo de secuencia conservado **DRYLAIV** en el extremo N-terminal de la segunda asa intracelular, el cual es crítico para el acoplamiento a proteínas Gi. Sin embargo, la secuencia de CXCR7 presenta la variante **DRYLSIT**. Esta diferencia estructural se considera la razón principal por la cual CXCR7 es incapaz de inducir la transducción de señales a través de proteínas Gi.³¹

Hacia 2012, la función de CXCR7 aún resultaba controversial; no obstante, investigaciones posteriores describieron que su pérdida en mamíferos resulta en letalidad postnatal debido a un desarrollo cardíaco aberrante e hiperplasia de miocitos, también se determinó que la señalización de la adrenomodulina —una hormona peptídica mitogénica esencial para el desarrollo cardiovascular normal— está estrechamente regulada por este receptor³².

Por otro lado, se ha reportado la interacción de CXCR7 con el receptor CXCR4 mediante la formación de heterodímeros³³ Tanto el receptor CXCR4 como su ligante endógeno,

el factor derivado de células estromales 1 (SDF-1 o CXCL12), han sido ampliamente estudiados por su papel esencial en la migración celular durante procesos de desarrollo, incluidos la organogénesis, hematopoyesis, vascularización y respuestas inmunes.³⁴ El eje de señalización CXCR4/CXCL12 regula la localización de células troncales en la médula ósea y la retención de células progenitoras hematopoyéticas así como el tráfico de leucocitos.³⁵ Además, la expresión de CXCR4 se ha vinculado con la supervivencia y proliferación de células cancerosas en diversos tumores (próstata, ovario y pulmón), donde su presencia se correlaciona con el grado de malignidad y el desarrollo de metástasis.³³ Finalmente, el descubrimiento de que la quimiocina CXCL12 posee una afinidad elevada para el receptor CXCR7 permitió que el CXCR7 dejara de ser considerado un receptor huérfano.³⁶

El gen de CXCL12, localizado en el cromosoma 10q11, codifica seis variantes que comparten los primeros tres exones y difieren en el cuarto. Tras los procesos de transcripción, traducción, y escisión del péptido señal, se genera una proteína madura de 68 aminoácidos. El panel A de la figura 5, muestra la secuencia inicial, mientras que el panel B, presenta la secuencia madura y biológicamente activa de la isoforma alfa³⁷; inicialmente se consideró que CXCL12 era un quimiocina que interactuaba exclusivamente con el receptor CXCR4; sin embargo, posteriormente se demostró que el CXCR7 actúa como un segundo receptor para este ligante, con una afinidad de unión 10 veces superior a la del CXCR4.³⁸ Cuando CXCL12 se une al receptor CXCR4, induce un cambio conformacional tridimensional que inicia el intercambio de guanósín difosfato (GDP, por sus siglas en inglés) por guanósín trifosfato (GTP, por sus siglas en inglés) en la subunidad α de la proteína G. Esto provoca la disociación de las subunidades β y γ y activa diversas vías de señalización. Al modular la actividad de la adenilil ciclase, las subunidades α i inhiben la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPc, por sus siglas en inglés), mientras que las subunidades β y γ pueden activar a la fosfolipasa C- β (PLC- β , por sus siglas en inglés). Esta última hidroliza al fosfatidilinositol 4,5, bifosfato (PIP2, por sus siglas en inglés), facilitando la producción de los segundos mensajeros DAG (diacilglicerol) e IP3 (inositol 1,4,5-trifosfato). Estos

mensajeros secundarios inducen la liberación de calcio (Ca^{2+}) del retículo endoplásmico y activan a la proteína quinasa C (PKC). A través de receptor CXCR4, el CXCL12 también puede activar las rutas de PI3K (fosfoinositol 3-quinasa)/AKT, IP3, y MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos) para regular la supervivencia celular, la quimiotaxis y la proliferación, además de las quinasas JNK y P38.³⁹ Hallazgos *in vivo* en modelos de pez cebra sugieren que el receptor CXCR7 funciona principalmente secuestrando CXCL12, lo que genera un gradiente de dicha quimiocina.⁴⁰ En modelos murinos, se ha demostrado que el CXCR7 actúa como un receptor depurador (*scavenger*) de CXCL12 para limitar la población de células B en la zona marginal esplénica.⁴¹

Un segundo ligante endógeno de CXCR7 es el CXCL11 (también llamado α -quimioatrayente de células T inducible por IFN o I-TAC), expresado principalmente en órganos como páncreas, timo, hígado, bazo, pulmón, próstata, placenta e intestino.⁴² La secreción de la quimiocina CXCL11 es inducida por el estímulo de IFN- γ ; su secuencia codificante se localiza en el cromosoma 4q21⁴³. En la figura 6, el Panel A muestra la secuencia del precursor, mientras que el Panel B presenta la forma madura de CXCL11 de 73 residuos tras la escisión del péptido señal. Los interferones pueden inducir la producción de CXCL11, cuyos niveles se incrementan en procesos infecciosos o neoplásicos. CXCL11 puede unirse tanto a CXCR7 como a las variantes CXCR3-A y CXCR3-B. Mientras que la unión a CXCR3-A o CXCR7 promueve la proliferativa celular, la interacción con CXCR3-B inhibe el crecimiento celular.⁴⁴ De manera similar a CXCR4, CXCR3-A actúa a través de proteína Gi ⁴⁵, mientras que la isoforma CXCR3-B lo hace a través de proteína Gs .⁴⁶ Finalmente, se ha demostrado que la unión de CXCL12 o CXCL11 al receptor CXCR7, promueve el reclutamiento de β -arrestina.³⁹

Además de la capacidad de CXCR7 por unirse a las quimiocinas CXCL12 y CXCL11, también se ha reportado que puede ser activado por péptidos opioides que se encuentran en el sistema nervioso central y células de la inmunidad, incluyendo encefalina, dinorfina y nociceptina. Donde todos los péptidos opioides muestran una

alta homología de secuencia principalmente en el motivo N terminal de dichos péptidos F/YGGFL/M, por lo que se diseñó un octapéptido denominado LIH383 de secuencia FGGFMRRK el cual es selectivo para CXCR7 y tiene una EC_{50} de 0.61nM. Y siendo CXCR7 el único receptor de quimiocinas que se ha demostrado ser activado por péptidos opioides.⁴⁷

Justificación.

El receptor CXCR7 desempeña un papel crítico en la regulación de diversos procesos fisiológicos y patológicos, destacando su implicación directa en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y en la progresión de distintos tipos de cáncer, tales como el cáncer de pulmón, próstata, mama y páncreas⁴⁸. A pesar de su relevancia clínica, los mecanismos moleculares que gobiernan su selectividad funcional frente a ligantes de distinta naturaleza química —desde quimiocinas endógenas hasta péptidos y moléculas pequeñas— aún no han sido esclarecidos en su totalidad.

En este contexto, las técnicas computacionales, específicamente las simulaciones de dinámica molecular, constituyen una herramienta indispensable para el estudio de este sistema. Dicha técnica permite caracterizar a los cambios conformacionales de receptor CXCR7 con una resolución atómica que resulta, hasta la fecha, inaccesible para la mayoría de los métodos experimentales convencionales. De este modo, el uso de las simulaciones de dinámica molecular facilita la caracterización exhaustiva de las interacciones ligante-receptor y la identificación de los respectivos cambios estructurales asociados, proporcionando una mejor comprensión de la función del receptor.

Objetivos.

Objetivo general

Generar modelos tridimensionales del receptor CXCR7 (ACKR3) con ligantes de diversa naturaleza química y mediante simulaciones de dinámica molecular, analizar las interacciones ligante-receptor que nos permita describir un mecanismo de

interacción detallado para poder obtener información relevante sobre la selectividad de CXCR7.

Objetivos particulares

- Caracterizar mediante simulaciones de dinámica molecular al receptor CXCR7 con quimiocinas endógenas CXCL12 y CXCL11, analizando las interacciones en el sitio de unión ortostérico.
- Evaluar mediante simulaciones de dinámica molecular las interacciones del octapéptido LIH383 y el compuesto sintético CCX662 en el sitio de unión ortostérico, comparando su modo de unión con el de los ligantes endógenos.
- Describir las conformaciones exploradas por sistema CXCR7 en su forma APO.
- Analizar, cuantificar y comparar a los diferentes sistemas mediante análisis de cambios conformacionales a lo largo de las trayectorias generadas por la técnica de simulación de dinámica molecular. Los diferentes parámetros estructurales involucran cálculos de: RMSD, RMSF, contactos ligante-receptor, contenido de estructura secundaria e interacción ion-receptor.

Metodología.

Obtención de la estructura de CXCR7

La estructura del receptor CXCR7 se construyó mediante la técnica de modelado por homología utilizando el *software* científico *Modeller*.⁴⁹ Al momento de realizar el modelado, no se disponía de estructuras experimentales resueltas, usando como modelo de referencia a CXCR4 con un porcentaje de identidad de 30.55%, lo que se considera un buen porcentaje de homología (Figura 2) y la estructura de referencia está depositada en el PDB con el código de acceso 4RWS⁵⁰. No obstante, en 2022 se reportaron estructuras del receptor obtenidas mediante criomicroscopía electrónica (cryo-EM). Se comparó el modelo generado por homología con dichas estructuras experimentales para validar la precisión de la predicción. Los átomos de carbono alfa (C α) de las siete hélices transmembranales mostraron un valor para la desviación de

CLUSTAL 0(1.2.4) alineamiento múltiple de secuencias

4RWS_CXCR4	-----SMKEPCFREENANFNKIFLPTIYSIIFLTGI VGNGLVILVMGYQ-----SM	46
CXCR7	WPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKS VLLYTL SFIYIFIFVIGMIANSVVVWVNIQAKTTGYD	60
	. * . * . . * ** !** !**.*!* * *	
4RWS_CXCR4	TDKYRLHLSVADLLFVITLPFWAVDAVA--NWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVWILAFI	104
CXCR7	THCYILNLAIALDLWVLTIPVWVSLVQHNQWPMGELTCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCM	120
	*. * !**!* ** .!*!*.*.* * !* !** !**.*!*!*!*!*!*!*!* !	
4RWS_CXCR4	SLDRYLAI V HATNSQRPRKLLAEKV VYVGWIPALLLTIPDFIFANVSE--ADDRYICCR	162
CXCR7	SVDRYLSITYFTNT PSSRKMKVRRVVCILVWLLAF CVSLPDYTYLKT VTSASNNETYCRS	180
	*!*****!.. !** !** !..!* * !** !* !**!* !.. !** !** *	
4RWS_CXCR4	FYPN--DLWVVFQFQHIMVGLILPGIVILSCYCI IISKLSH--GHQKRKALKPTVILI	217
CXCR7	FYPEHSIKEWLIGMELSVVVGFAVPFSIIAVFYFLLARAI SASSDQEKHSSRKIIFSYV	240
	***! . *! !** !**!* !* !* * !* !* !* !**!*!* * . !	
4RWS_CXCR4	LAFFACWLPYYIGISIDSFILLEI IKQGEFENTVHKWISITEALAFFHCCLNPILYA*-	275
CXCR7	VVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHALFTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFI	300
	!..!******!.. !* * !*.* * !..*!*!*!* ! !*!*!*!*!*!*!*!*!	
4RWS_CXCR4	---	275
CXCR7	N*	301

Matriz de Porcentaje de Identidad

4RWS_CXCR4	100.00%	30.55%
CXCR7	30.55%	100.00%

la raíz cuadrada media (RMSD, por sus siglas en inglés) de 2.68 Å en relación con la estructura resuelta por cryo-EM (depositada en la base de datos PDB con el código de acceso 7SK3).

Construcción del complejo CXCR7-CXCL12

Para construir el complejo CXCR7-CXCL12, se realizó un alineamiento estructural del modelo de la estructura del receptor CXCR7, creada utilizando la técnica computacional de modelado por homología, con la estructura del receptor CXCR4 del complejo CXCR4-CXCL12 que fue previamente reportado por nuestro grupo de investigación.⁵¹

Figura 2. Alineamiento múltiple de secuencias de CXCR4 y CXCR7 y matriz de porcentaje de identidad.

Construcción del complejo CXCR7-CXCL11

Para construir la estructura inicial del complejo CXCR7-CXCL11, se alineó la estructura del receptor CXCR7, creada mediante modelado por homología, con la estructura del receptor CXCR3 del complejo CXCR3-CXCL11; dicha estructura del complejo CXCR3-CXCL11 presenta el código de acceso 8HNK.pdb.⁵²

Construcción del complejo CXCR7-LIH383

Para generar la conformación inicial del complejo CXCR7-LIH383, se realizó un alineamiento estructural del modelo por homología del receptor CXCR7 con el receptor opioide μ (MOR). Se utilizó como plantilla la estructura depositada en el PDB (PDB ID: 8EFQ), la cual presenta al receptor opioide μ en presencia del péptido DAMGO y la proteína Gi. Posteriormente, la información estructural de la cadena principal del péptido DAMGO fue utilizada como referencia para generar la estructura del octapéptido amidado en su región C-terminal, LIH383 (FGGFMRRK-NH2).⁵³

Construcción del complejo CXCR7-CCX662

Para obtener una conformación inicial del complejo CXCR7-CCX662, la estructura depositada en la base de datos PDB (PDB ID 7SK9) fue usada. Dicha estructura, resuelta mediante la técnica de cryo-EM, contiene al receptor CXCR7 humano unido a una molécula del ligante CCX662⁵⁴. La pose molecular de CCX662 en el bolsillo ortostérico de CXCR7 fue obtenida por alineamiento de la estructura del modelo por homología de CXCR7 con la estructura resuelta por cryo-EM.

Construcción del sistema CXCR7-APO

La conformación inicial del sistema CXCR7-APO, consistió en la estructura generada a partir de la técnica de modelado por homología. La estructura del receptor humano CXCR7 consta de 300 residuos de aminoácido, de W19 a N319.

Preparación de los sistemas.

Todos los complejos proteicos generados fueron embebidos en una bicapa lipídica de 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC) hidratada con el modelo de agua

TIP3P. Cada sistema se ionizó a una concentración salina 0.15M de NaCl. La preparación de los sistemas biomoleculares se realizó con el software científico VMD⁵⁵. El tamaño de para los sistemas resultantes fue de aproximadamente 90,000 átomos por sistema.

Numeración de Ballesteros-Weinstein para GPCRs de la clase A

La numeración de Ballesteros-Weinstein está basada en la presencia de residuos altamente conservados en cada una de las siete hélices transmembranales. Consiste en dos números separados por un punto, donde el primer número denota a la hélice transmembranal correspondiente, 1-7, mientras que el segundo número denota la posición relativa a el residuo más conservado en dicha hélice al cual se le asigna el número 50. En general, los residuos altamente conservados para cada hélice transmembranal son N^{1.50}, D^{2.50}, R^{3.50}, W^{4.50}, P^{5.50}, P^{6.50} and P^{7.50}, respectivamente. Esta nomenclatura es utilizada para las GPCRs de la clase A y es utilizada en el resto del documento.⁵⁶

Análisis de estructura secundaria

Para analizar la estructura secundaria de las proteínas investigadas, se utilizó el algoritmo STRIDE, el cual es un programa integrado en VMD que reconoce elementos de estructura secundaria en proteínas a partir de sus coordenadas atómicas. Utiliza información tanto de formación de enlaces de hidrógeno como de valores de ángulos diedros de la cadena principal. STRIDE utiliza el siguiente código de letras H (Hélice alfa), G (Hélice 3-10), I (Hélice-PI), E (Conformación extendida), B (Puente aislado), T (Giros) y C (ninguna de las anteriores).⁵⁷

Simulaciones de dinámica molecular.

Todos los sistemas biomoleculares se caracterizaron mediante la técnica computacional de simulaciones de dinámica molecular usando el software NAMD2.13⁵⁸ y utilizando los campos de fuerza de CHARMM36 con correcciones CMAP⁵⁹. Los sistemas fueron simulados a una temperatura fisiológica de (310.15 K) y a

presión de 1 atm por un tiempo de 1.0 μ s de trayectoria usando pasos de tiempo de 2.0 fs.

Resultados y discusión.

La secuencia primaria de CXCR7 consta de 362 aminoácidos, sin embargo, durante la fase de generación del modelo por homología en *Modeller*, se limitó la estructura a los residuos W19-N319. Esta decisión metodológica se fundamentó en la ausencia de información estructural disponible de segmentos en la región N-terminal (1-18) y C-terminal (320-362). Esta decisión metodológica permitió optimizar el muestreo conformacional de las regiones críticas del receptor: parte del extremo N-terminal, las siete hélices transmembranales (HT1-7), los bucles intra y extracelulares, y parte del segmento C-terminal proximal a la hélice 8. Esta arquitectura conserva los elementos estructurales suficientes para investigar aspectos conformacionales dinámicos del receptor sin incurrir en un costo computacional excesivo debido a la inclusión de regiones que posiblemente tienen un carácter de segmentos intrínsecamente desordenados.

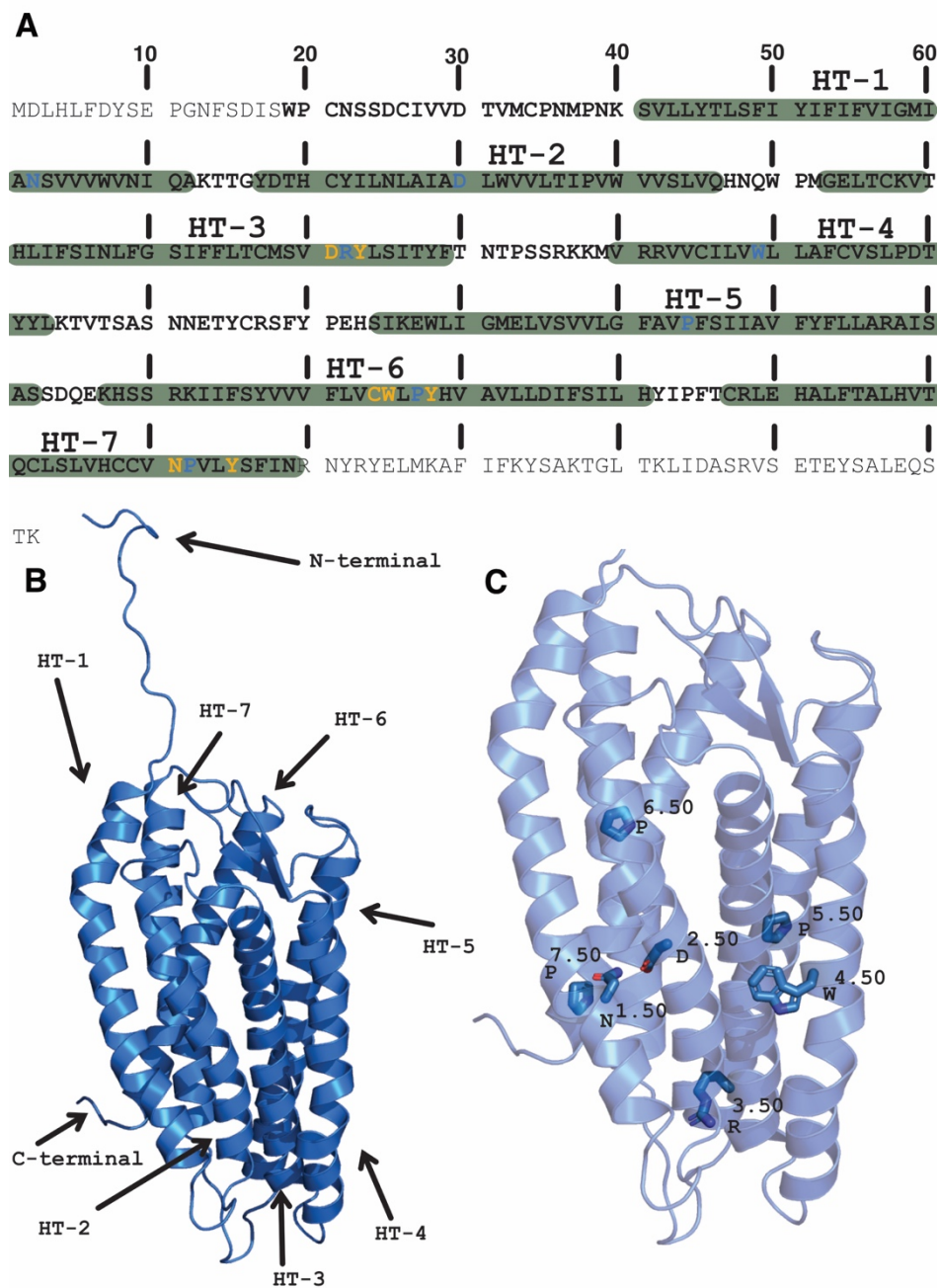


Figura 3. Secuencia de aminoácidos de CXCR7, en gris se muestran los residuos que no fueron considerados en el modelo, en negritas los residuos que forman parte del modelo, las regiones subrayadas en verde son parte de las hélices transmembranales (HT). En azul se muestran los residuos más conservados de cada hélice transmembranal según la notación de Ballesteros-Weinstein y en amarillo se muestran los motivos de aminoácidos conservados en GPCRs de la clase A. Panel B, se muestra CXCR7 en representación de estructura secundaria con las siete hélices transmembranales señaladas, así como el N-terminal y C-terminal. Panel C, se muestra resaltados los residuos más conservados según la notación de Ballesteros-Weinstein.

Análisis de estabilidad estructural. Con la idea de evaluar la estabilidad estructural de los cinco sistemas de CXCR7, se calculó la raíz de la desviación cuadrática media (RMSD) de los carbonos alfa (C_{α}) (Apéndice III). El análisis se realizó bajo un enfoque dual: una medición global de todo el receptor CXCR7 y un cálculo truncado donde se excluyó el extremo N-terminal (Figura 4). Esta distinción permitió aislar el efecto de la flexibilidad del segmento N-terminal sobre las fluctuaciones globales del receptor. En el análisis global, la ausencia de convergencia inmediata sugiere un proceso de adaptación estructural prolongado atribuible al comportamiento flexible del segmento N-terminal. En el sistema APO, la estabilidad estructural global se alcanzó aproximadamente a los 600 ns. En contraste, los sistemas acoplados a las quimiocinas endógenas, CXCL12 y CXCL11, mostraron transiciones hacia valores de RMSD estables, lo cual es consistente con la función biológica reportada para el segmento N-terminal, como parte importante del mecanismo de reconocimiento del receptor y la quimiocina. Dicho mecanismo de reconocimiento propone que la interface de interacción entre quimiocinas y sus receptores consta de dos sitios: el sitio de reconocimiento 1 (CRS1), que comprende el cuerpo de la quimiocina y el segmento N-terminal del receptor, y el sitio de reconocimiento 2 (CRS2), que involucra la cavidad ortostérica del receptor y el segmento N-terminal de la quimiocina⁶⁰

Notablemente, el sistema CXCR7-LIH383 exhibió una meseta en sus valores de RMSD indicando que logra una estabilidad estructural rápidamente tras los pocos cientos de nanosegundos, mientras que el ligante sintético CCX662 mostró un perfil de estabilización hacia los 600 ns, similar al sistema APO (Figura 4).

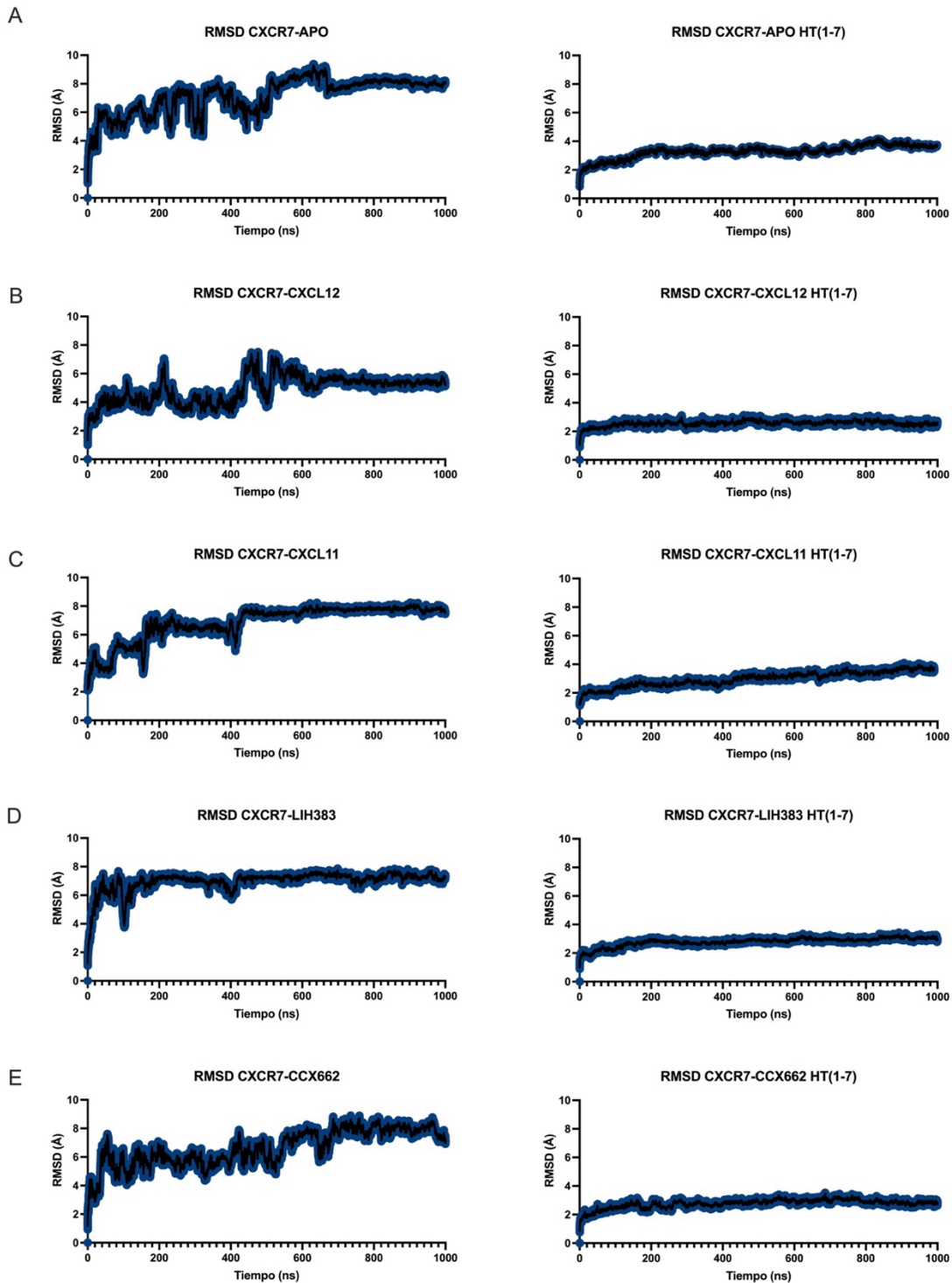


Figura 4. Valores de RMSD de CXCR7 para cada uno de los sistemas, del lado izquierdo muestra los valores de RMSD de manera global y en el lado derecho se muestran los valores truncados de RMSD.

Caracterización de estabilidad estructural en presencia de quimiocinas y ligantes proteicos. Como segunda fase, se evaluó tanto el RMSD como el contenido de estructura secundaria de los ligantes de naturaleza proteínica: CXCL12, CXCL11 y LIH383.

Los valores de RMSD de CXCL12 que se muestran en el panel D de la figura 5, convergen tras los primeros cientos de nanosegundos, sugiriendo la estabilidad global de la quimiocina durante su interacción con CXCR7. El comportamiento dinámico observado en los valores de RMSD, podrían reflejar reajustes estructurales intrínsecos de la interacción proteína-ligante (proteína). En el panel D, se muestra un mapa de calor relacionado con los cambios en el tiempo de la estructura secundaria de CXCL12, donde el extremo N-terminal (K1-R8), el cual es la región que interactúa con el bolsillo ortostérico de CXCR7, carece de una estructura secundaria definida, lo cual es consistente con reportes previos. En contraste, el cuerpo de la quimiocina, formado por tres láminas beta plegadas antiparalelas y una hélice alfa cercana al extremo C-terminal, permanece estable a lo largo del tiempo de la simulación de dinámica molecular. Finalmente, el extremo C-terminal se caracteriza por ser una región intrínsecamente desordenada. Recordando que el cuerpo de la quimiocina es la región que interactúa con el sitio de reconocimiento 1 de CXCR7 (CRS1) mientras que el segmento N-terminal es la región que interactúa con el sitio de reconocimiento 2 del receptor (CRS2)⁶⁰.

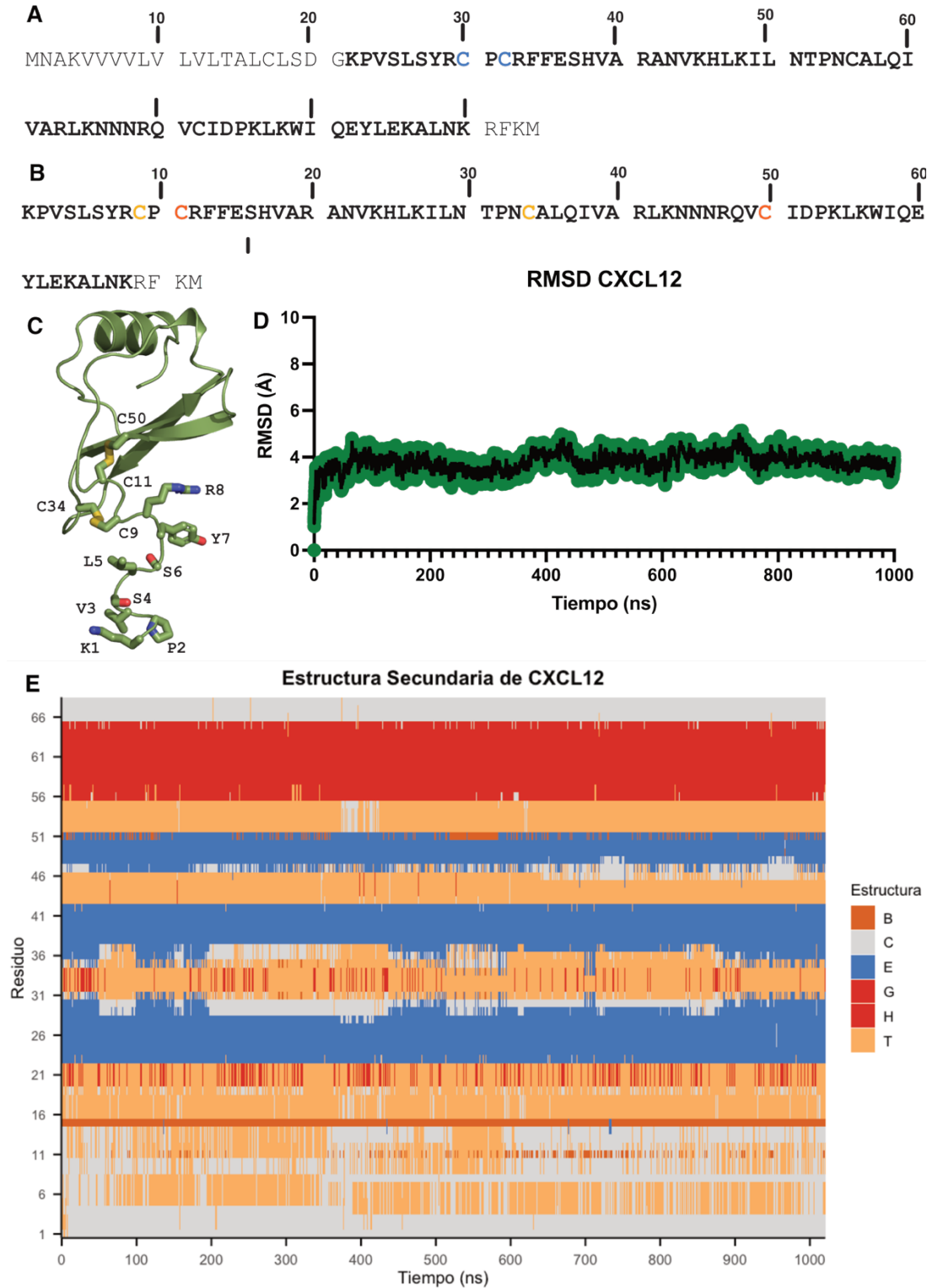


Figura 5. En el panel A, se muestra la secuencia de CXCL12 en su forma inmadura, en color gris se muestran los residuos pertenecientes al péptido señal. En el panel B, se muestra la secuencia de CXCL12 en su forma biológicamente activa. En el panel C, se muestra en verde la estructura tridimensional de CXCL12 resaltando en representación de tubos los primeros 8 residuos y dos puentes disulfuro. En el panel D, se muestra los valores de RMSD de CXCL12. En el panel E, se muestra la gráfica de estructura secundaria de CXCL12.

Los valores de RMSD global para CXCL11 (Panel D) exhiben fluctuaciones significativas durante los primeros 500 ns, alcanzando una meseta de estabilidad posteriormente. Este comportamiento sugiere reajustes estructurales globales de la quimiocina y evidencia que, a diferencia de CXCL12, CXCL11 requiere un periodo más prolongado para alcanzar el equilibrio conformacional.

El mapa de calor de la estructura secundaria de CXCL11 (Panel E) revela que el extremo N-terminal (F1-R8), que interactúa con el bolsillo ortostérico de CXCR7, no adopta una estructura secundaria definida y mantiene una naturaleza flexible similar a la de CXCL12. CXCL11 presenta una arquitectura de tres láminas beta antiparalelas y una hélice alfa cercana al extremo C-terminal. Durante la trayectoria de la simulación, las láminas beta permanecieron estables; sin embargo, se observó un acortamiento de la hélice alfa a partir de los 300 ns.

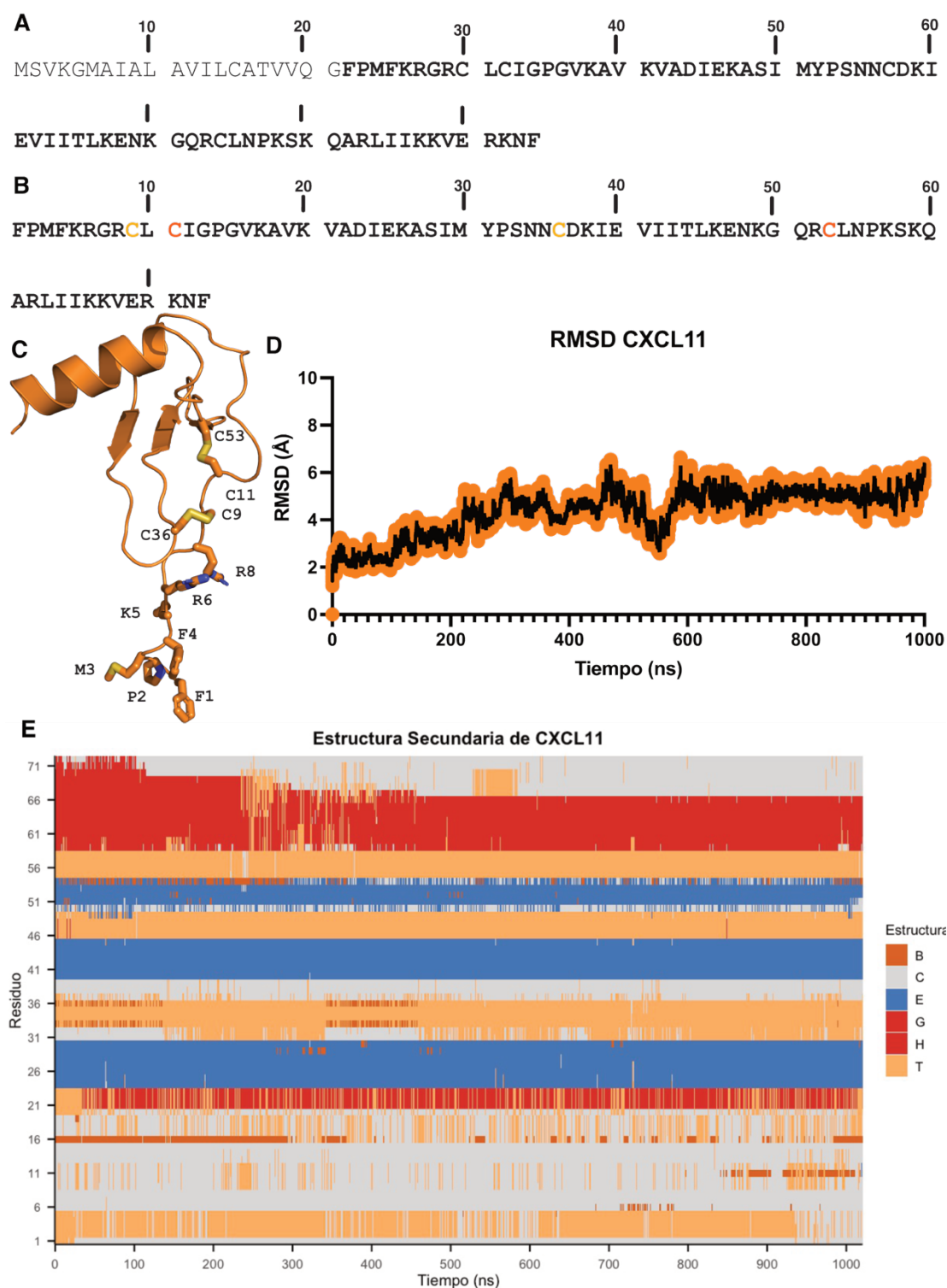


Figura 6. En el panel A, se muestra la secuencia del precursor de CXCL11. En el panel B, se muestra la secuencia madura de CXCL11. En el panel C, se muestra en color naranja, la estructura tridimensional de CXCL11 en representación de tubos los primeros 8 residuos y dos puentes disulfuro. En el panel D, se muestran los valores de RMSD de CXCL11. En el panel E, se muestra la gráfica de estructura secundaria de CXCL11.

La pose inicial de la molécula pequeña CCX662 se obtuvo a partir de la estructura resuelta mediante criomicroscopía electrónica (cryo-EM). El análisis de RMSD, calculado con respecto al centro de masa del ligante, revela una estabilidad estructural notable con fluctuaciones mínimas a lo largo de la trayectoria. Es relevante destacar que, tras los primeros 100 ns de simulación, se observa un descenso en los valores de RMSD, lo cual es indicativo de una alta estabilidad de CCX662 en la cavidad ortostérica de CXCR7 (Figura 7).

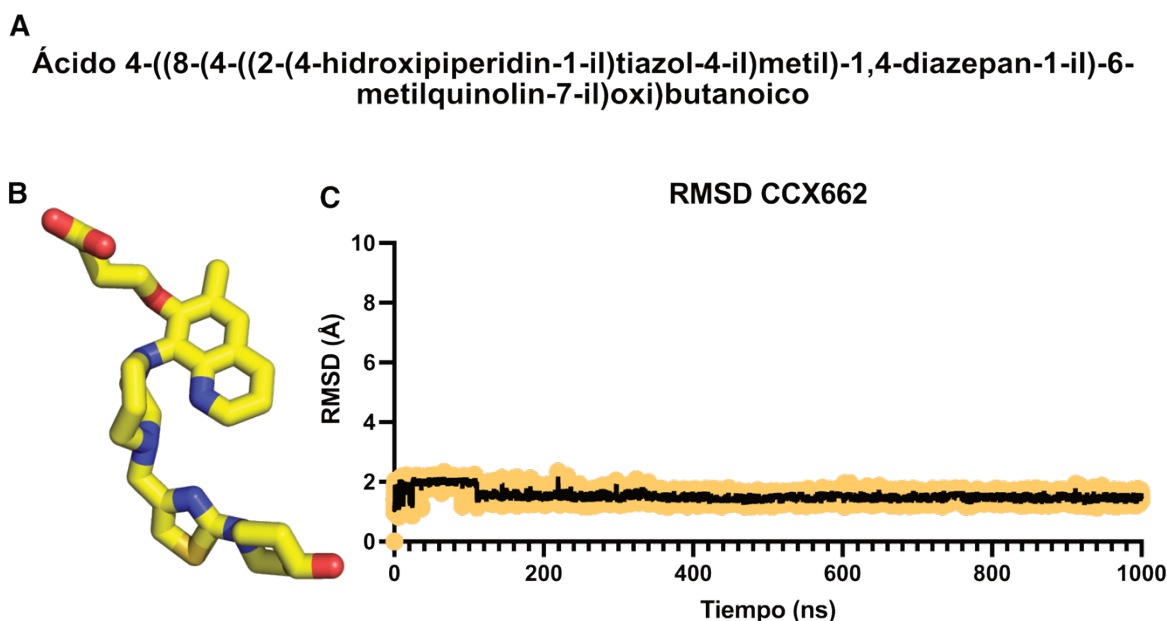


Figura 7. En el panel A, se muestra la nomenclatura IUPAC del compuesto CCX662. En el panel B, se muestra en representación de tubos y color amarillo la estructura del compuesto pequeño CCX662. En el panel C, se muestra los valores de RMSD del centro de masas del compuesto CCX662.

El octapéptido LIH383 se posiciona dentro de la cavidad ortostérica de CXCR7 de manera análoga a los extremos N-terminales de CXCL12 y CXCL11, los cuales emplean sus ocho residuos proximales para interactuar con el Sitio de Reconocimiento 2 (CRS2) de CXCR7. Como indican los valores de RMSD, el sistema alcanza la convergencia tras los primeros cientos de nanosegundos; la estabilidad de la pose de LIH383 se

mantiene durante toda la trayectoria e incluso presenta un descenso en los valores de RMSD después de los 600 ns. El análisis del contenido de estructura secundaria durante los 1000 ns de simulación muestra que LIH383 permanece en una conformación no estructurada, comportamiento consistente con lo observado en los ligantes endógenos, CXCL12 y CXCL11, al interactuar con el CRS2 (Figura 8).

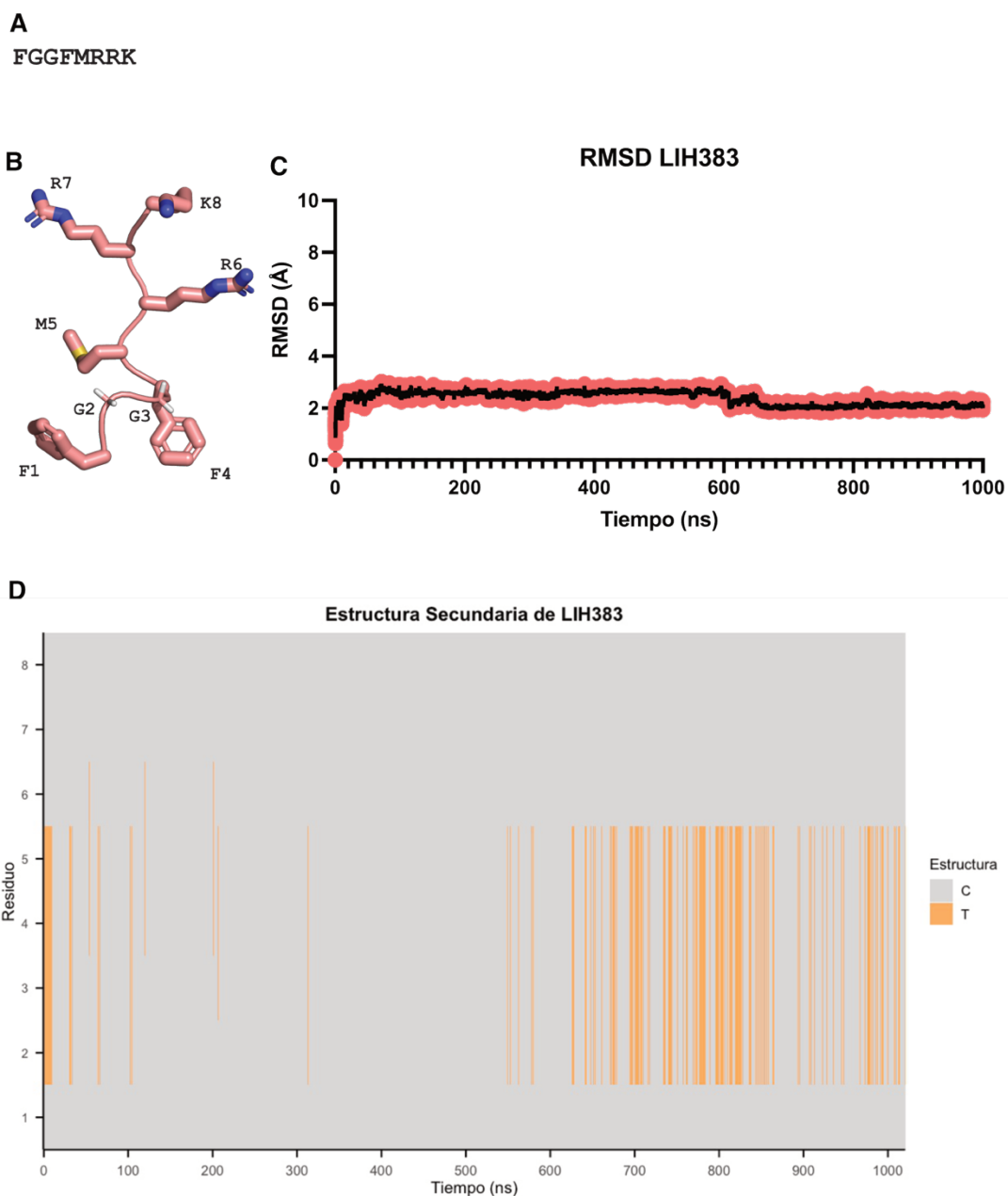


Figura 8. En el panel A, se muestra la secuencia del octapéptido LIH383. En el panel B, se muestra en representación de tubos y color salmón los ocho residuos de LIH383. En el panel C, se muestra los valores de RMSD de LIH383. En el panel D, se muestra la gráfica de estructura secundaria de LIH383.

Análisis de Contactos. Tras el análisis de RMSD, se cuantificaron los contactos entre cada ligante y los residuos de CXCR7, evaluando inicialmente las interacciones con cada una de las hélices transmembranales (HT1-7). Como se detalla en la figura 9, empleando una distancia de corte de 5 Å, los resultados muestran que tanto los ligantes peptídicos como el compuesto sintético CCX662 carecen de interacciones con las hélices HT-1 y HT-4, lo cual es consistente con datos reportados en la literatura para receptores de la Clase A.

En los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) de la Clase A, el Sitio de Reconocimiento 2 (CRS2) o cavidad ortostérica está constituido principalmente por residuos de las hélices HT-3, HT-6 y HT-7 ⁶¹. De manera notable, el perfil de interacción de CXCL12 se ajusta a este patrón, estableciendo contactos predominantes con dicho grupo de hélices. En contraste, CXCL11 muestra una preferencia distintiva por la hélice HT-5 en lugar de la HT-7, aunque conserva interacciones fundamentales con HT-3 y HT-6. Por su parte, el péptido LIH383 exhibe un comportamiento análogo al de CXCL12, vinculándose con el grupo de hélices HT-3, HT-6 y HT-7. Finalmente, la molécula de bajo peso molecular CCX662 presenta un perfil diferenciado donde la mayoría de los contactos se concentran específicamente en la hélice HT-3. Estos datos, normalizados y expresados en términos de porcentaje relativo (Tabla 1 del apéndice II), ilustran que, a pesar de ocupar la misma cavidad ortostérica, cada ligante exhibe un patrón de interacción molecular único.

Para profundizar en el estudio, se evaluaron las interacciones de los ocho residuos proximales al extremo N-terminal de cada ligante peptídico (dicho segmento se aloja específicamente en el CRS2). Este mapeo permite comparar de manera directa la arquitectura de contactos de los ligantes de naturaleza proteica frente al perfil de interacciones totales del compuesto sintético CCX662, el cual se aloja específicamente en la misma región funcional del receptor.

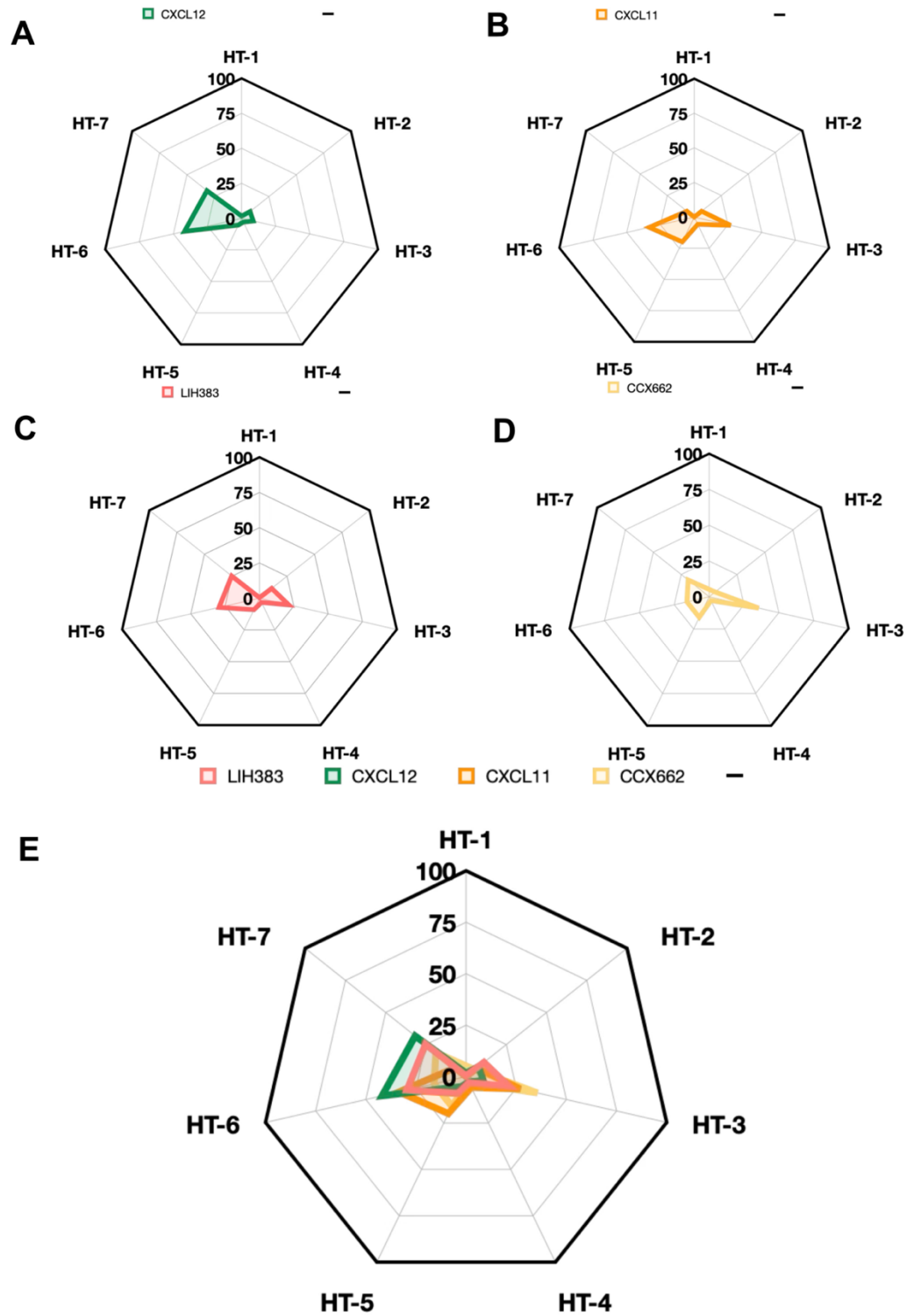


Figura 9. En el panel A, se muestran en verde los contactos de CXCL12 a las siete hélices transmembranales de CXCR7. En el panel B, se muestran en naranja los contactos de CXCL11 a las siete hélices transmembranales de CXCR7. En el panel C, se muestra en salmón los contactos del octapéptido LIH383 a las siete hélices transmembranales de CXCR7. En el panel D, se muestra en amarillo los contactos de la molécula pequeña CCX662 con las siete hélices transmembranales de CXCR7. En el panel E, se muestra la superposición de las gráficas de contactos mostradas en el panel A,B,C,D.

En la estructura de cryo-EM, el extremo N-terminal de CXCL12 se aloja en la cavidad ortostérica de CXCR7 (CRS2). En particular, el residuo K1 de la quimiocina se proyecta hacia la cavidad formada entre las hélices TM3 y TM5, posicionando su cadena lateral en proximidad a los residuos E213^{5.39}, D179^{4.60} y Y200^{ECL2}, mientras que el grupo carbonilo de su cadena principal se orienta hacia el residuo Y268^{6.51}.⁵⁴ Los datos derivados de la simulación del complejo CXCR7-CXCL12 confirman estas interacciones donde la cadena lateral de K1 se orienta preferentemente hacia los residuos E213^{5.39} y D179^{4.60}. De manera relevante, la simulación también identifica interacciones con el residuo H121^{3.39}, demostrando que la simulación es capaz de reproducir los contactos observados experimentalmente, tal como se ilustra en la figura 10.

Otros residuos clave incluyen P2, establece interacciones de empaquetamiento hidrofóbico con W100^{2.60} y F124^{3.32}. La cadena lateral de V3 se empaqueta cerca de L297^{7.35} y H298^{7.36}, y con el grupo amida de su cadena principal interactuando con Q301^{7.39}. El residuo S4 establece interacciones polares con S103^{2.63}, mientras que la cadena lateral de L5 se localiza por debajo del puente disulfuro conservado C117^{3.25} – C196^{ECL2}. La Y7 se sitúa en las cercanías del residuo R179^{ECL2} mientras que la cadena lateral de R8 forma un puente salino con D275^{6.58} conforme esta reportado⁵⁴. Los datos de contactos para los residuos P2, V3, S4, S6, Y7 y R8, exhiben un patrón más amplio de interacciones con diferentes residuos como se muestra en la figura 10. Finalmente, el residuo R8 interactúa también con el residuo E290^{7.28} lo cual permite estabilizar la pose de CXCL12 en el CRS2.

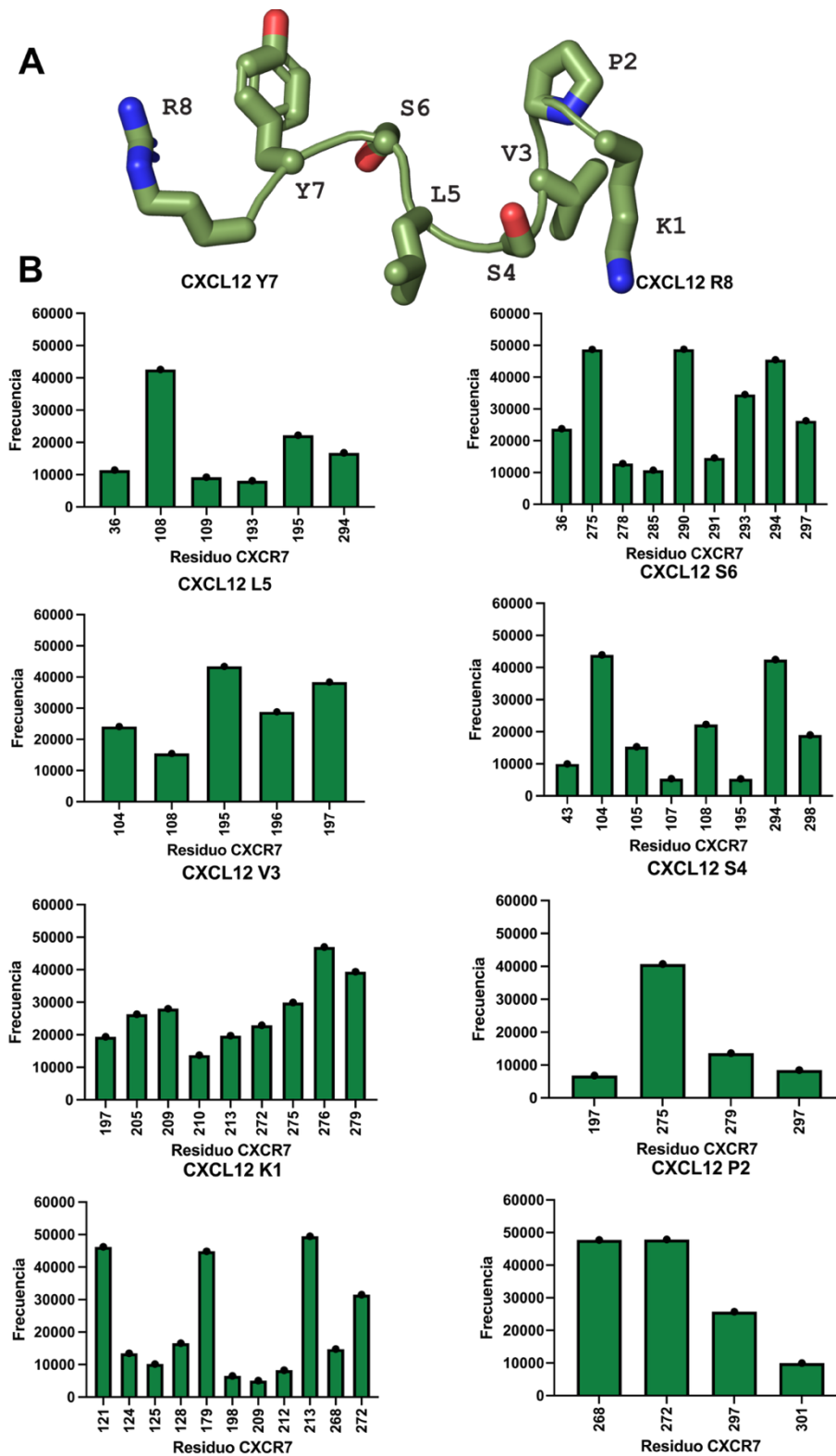


Figura 10. . En el panel A, se muestra en verde y representación de tubos, los ocho residuos próximos al N-terminal de CXCL12 (KPVLSYR). En el panel B, se muestran las gráficas de contactos de cada uno de los residuos contra los residuos de CXCR7.

CXCR3-CXCL11. El receptor CXCR3, el cual es receptor GPCR de la Clase A, tiene como ligantes naturales, a las quimiocinas CXCL11, CXCL10 y CXCL9, las cuales presentan una afinidad de unión por el receptor alta, intermedia y baja, respectivamente. De acuerdo con la estructura resuelta por cryo-EM, el extremo N-terminal de CXCL11 (residuos 1-8) se inserta profundamente en el CRS2 de CXCR3. Este segmento se ha dividido en dos regiones funcionales, el motivo hidrofóbico FPMF (residuos 1-4) y el motivo catiónico KRGR (residuos 5-8) (Figura 11).

El motivo FPMF adopta una conformación torsional en el fondo de la cavidad ortostérica. En esta región, el residuo F1 se posiciona en la zona más profunda estableciendo interacciones de tipo π - π con los residuos aromáticos F131^{3.32} y F135^{3.36}. Asimismo, el grupo amino (cargado positivamente) de la cadena principal de F1 interactúa con S304^{7.39} y Y308^{7.43}. Adicionalmente, los residuos Y271^{6.51} y W109^{2.60} contribuyen a la estabilización de este motivo mediante contactos hidrofóbicos. Experimentalmente, se ha demostrado que la remoción de tres o cuatro residuos del motivo FPMF resulta en la pérdida de la actividad agonista de la quimiocina CXCL11. Por su parte, el motivo KRGR se extiende hacia la región extracelular de la cavidad a través de una red de interacciones electrostáticas. Dichas interacciones incluyen puentes salinos críticos entre K5 con D52^{1.31}, R6 con D282^{6.62}, y R8 con E293^{7.28}. La relevancia funcional del motivo KRGR es determinante para la afinidad de unión ya que la mutación de este segmento por la secuencia AAGA, reduce significativamente la capacidad de CXCL11 para asociarse con el receptor CXCR3.⁶²

CXCR7-CXCL11. Los datos de la trayectoria del sistema CXCR7-CXCL11 revelan que el residuo F1 de CXCL11 establece un perfil de interacciones altamente conservado en comparación con lo reportado para el receptor CXCR3. Destaca el contacto entre F1 y F124^{3.32}, posición que se encuentra conservada en ambos receptores (F131^{3.32} en el receptor CXCR3). Asimismo, se identificaron interacciones con S216^{5.42} y Y268^{6.51}; aunque estos residuos se localizan en hélices distintas a las de CXCR3, la naturaleza química de los contactos se mantiene en ambos receptores.

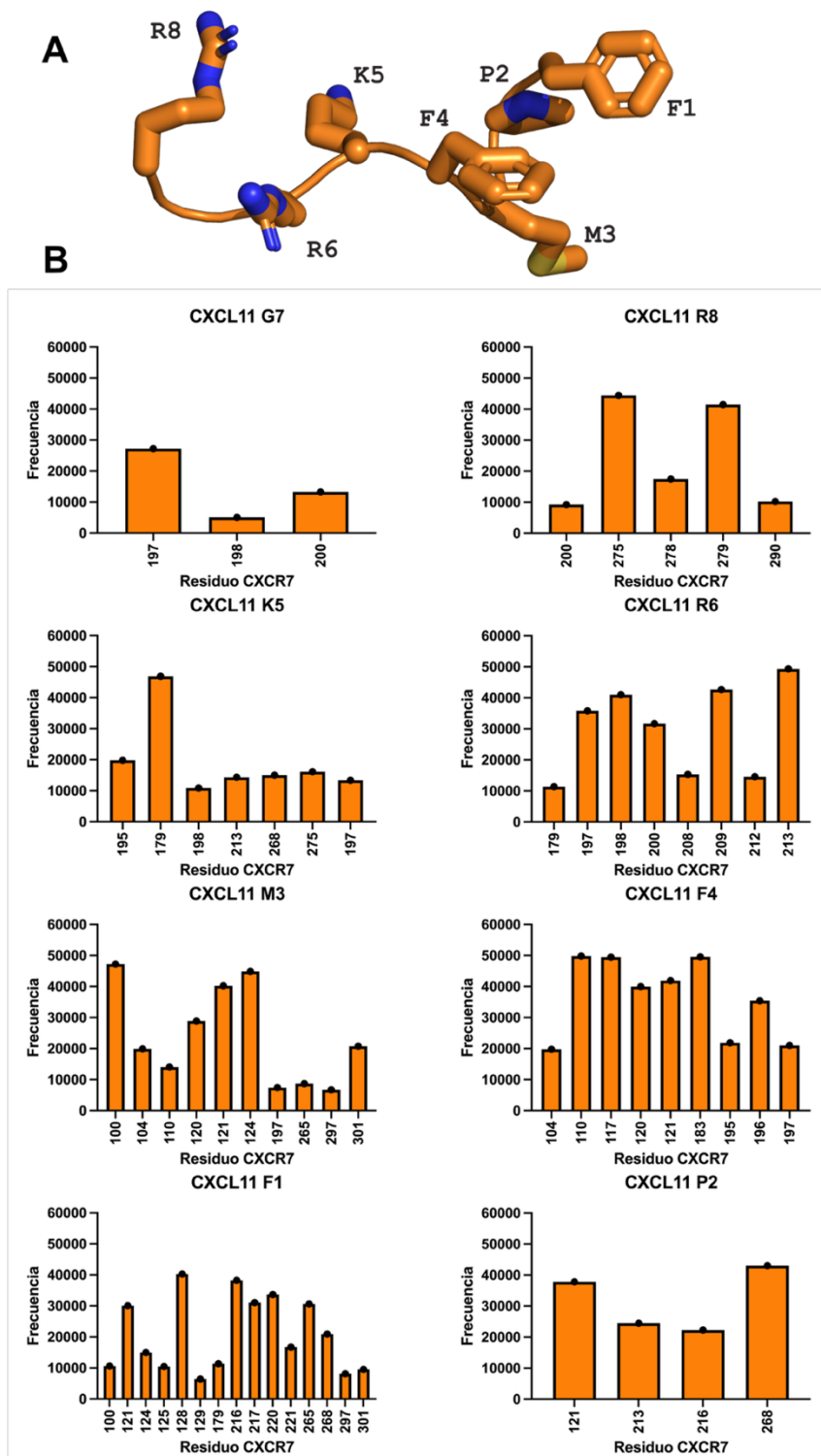


Figura 11. En el panel A, se muestra en naranja y representación de tubos los ocho residuos próximos al N-terminal de CXCL11 (FPMFKRGR). En el panel B, se muestran las gráficas de contactos de cada residuo contra los residuos de CXCR7.

Por su parte, el residuo P2 interactúa con un grupo de residuos formado por H121^{3.29}, E213^{5.39}, S216^{5.42}, Y268^{6.51}. El residuo M3 establece una red de contactos hidrofóbicos con W100^{2.60}, T120^{3.28}, H121^{3.29} y F124^{3.32}, mientras que F4 exhibe un patrón de interacciones polares distintivo que contribuye a la especificidad del ligante.

Respecto al motivo catiónico KRGR, la simulación captura la formación de puentes salinos críticos: K5 y R6 interactúan con los residuos ácidos D179^{4.60} y E213^{5.39}, mientras que la R8 estabiliza su pose mediante interacciones electrostáticas con D275^{6.58} y E290^{7.28}. Estos resultados sugieren que, a pesar de las diferencias estructurales entre CXCR7 y CXCR3, el mecanismo de reconocimiento del motivo KRGR mediante interacciones tipo puente salino, se mantiene como un factor determinante de la estabilidad del complejo.

El péptido LIH383 es un agonista selectivo de CXCR7 que compite directamente con los ligantes naturales CXCL12 ($EC_{50} = 1.2$ nM) y CXCL11 ($EC_{50} = 2.2$ nM), presentando una potencia superior con una EC_{50} de 0.61 nM⁶³. Ante la ausencia de datos estructurales experimentales a la fecha, el presente análisis de contactos mediante simulaciones de dinámica molecular constituye una primera aproximación a la arquitectura de unión de LIH383 en el CRS2 de CXCR7 (Figura 12).

De manera análoga a CXCL11, los residuos de LIH383 se organizan en dos regiones funcionales: un motivo hidrofóbico FGGF (residuos 1-4) y un motivo catiónico MRRK (residuos 5-8). El residuo F1 establece contactos similares a los observados en CXCL11 con los residuos F124^{3.32}, S216^{5.42} y H121^{3.29}.

Adicionalmente, se identificaron interacciones con D179^{4.60} y E213^{5.39}, mimetizando el patrón de anclaje del residuo K1 de CXCL12. Por su parte, los residuos G2, G3 y F4 mantienen una red de interacciones hidrofóbicas que estabilizan la posición de esta región del péptido. El motivo catiónico asegura la formación del complejo mediante puentes salinos: R6 contacta con E193^{ECL2}, R7 interactúa con un clúster formado por D179^{4.60}, D275^{6.58} y E213^{5.39}, y finalmente K8 se ancla con D275^{6.58} y E290^{7.28}.

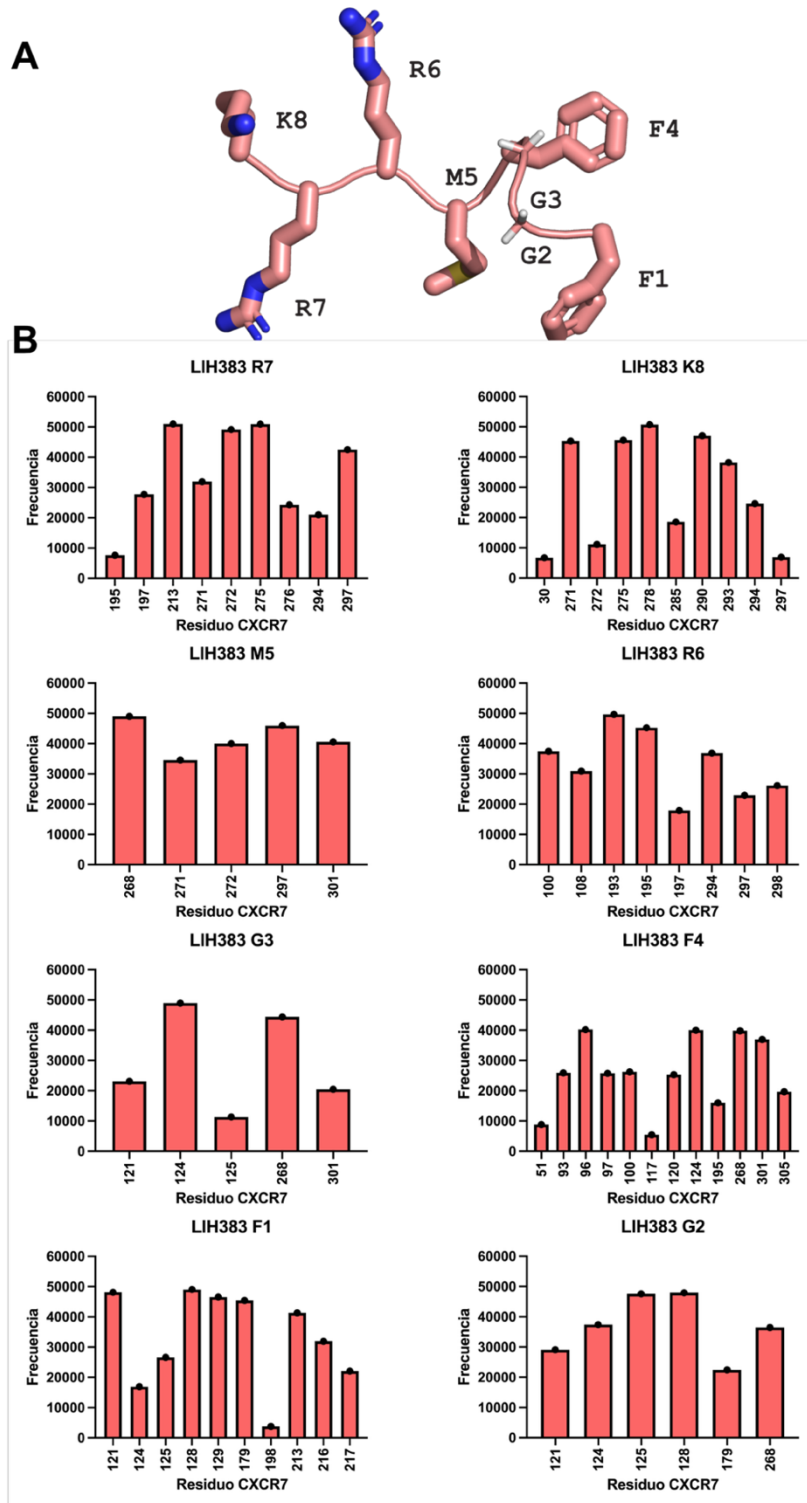


Figura 12. En el panel A, se muestran en salmón y representación de tubos los ocho residuos del octapéptido LIH383 (FGGFMRRK). En el panel B, se muestran las gráficas de contactos de cada residuo contra los residuos de CXCR7.

El compuesto sintético CCX662, cuya pose fue determinada mediante cryo-EM, se localiza en el CRS2 de CXCR7 donde se conoce que este ligante es capaz de reclutar arrestinas con una eficacia similar a CXCL12.⁵⁴ El núcleo del ligante establece contactos clave con los residuos H269^{6.52}, F124^{3.32}, Q301^{7.39} y L305^{7.43}. Por otra parte, la región flexible que presenta un grupo carboxilato se orienta hacia la entrada de la cavidad para interactuar con S103^{2.63}, N108^{ECL1} y H298^{7.36}.

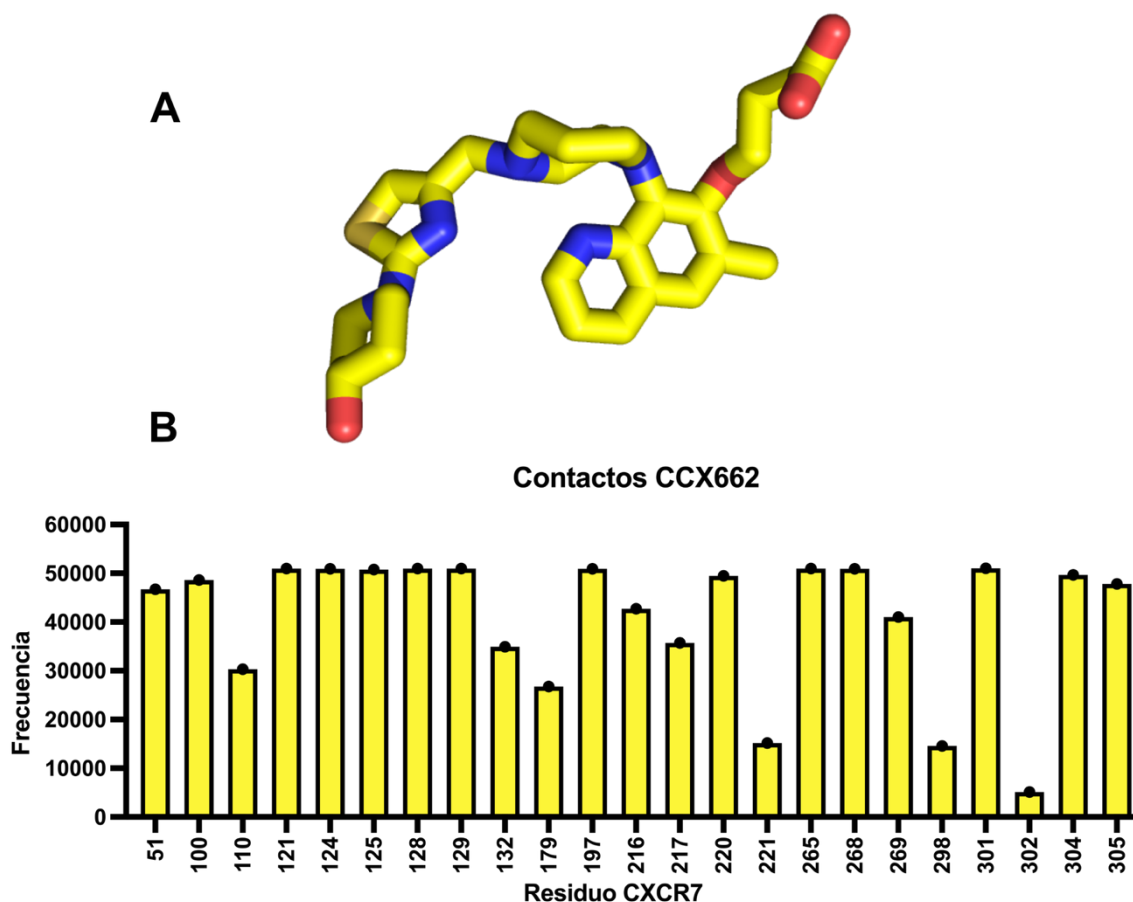


Figura 13. En el panel A, se muestra en amarillo y representación de tubos al compuesto pequeño CCX662. En el panel B, se muestran los contactos de CCX662 contra los residuos de CXCR7.

Como se ilustra en la figura 13, la trayectoria del sistema CXCR7-CCX662 logró reproducir fielmente los contactos reportados de manera experimental, destacando las interacciones con H269^{6.52}, F124^{3.32}, Q301^{7.39}, L305^{7.43} y H298^{7.36}. La mayoría de

estos contactos permanecen estables durante la totalidad de la simulación de dinámica molecular, lo que es consistente con los bajos valores de RMSD analizados previamente para este complejo. Adicionalmente, se identificaron nuevos contactos emergentes durante la simulación, los cuales se detallan en la gráfica de frecuencias.

Una vez analizados los sistemas de CXCR7 con los respectivos ligantes, se analizó el sistema en ausencia de ligante denominado como CXCR7-APO. Hasta el momento, no existen datos sobre estudios de receptor CXCR7 en las mismas condiciones. En la figura 3, se muestra el RMSD de CXCR7-APO, donde se observa que los valores de RMSD de las hélices transmembranales (TM1-7), llegan a una convergencia a los pocos cientos de nanosegundos de simulación.

Sitios de unión a sodio. Uno de los hallazgos más relevantes en GPCRs de la clase A, fue la descripción de un sitio de unión alostérico para el ion sodio, el cual se descubrió que modula negativamente la unión de ligantes agonistas a los receptores opioides, pero sin afectar a la unión de ligantes los antagonistas. En el año 2014, se describió el sitio de unión a sodio para una variedad de GPCRs de la clase A. El sitio de unión a sodio se encuentra en el centro de las siete hélices transmembranales y presenta al residuo conservado D^{2.50}, el cual es crítico para los efectos dependientes de dicho catión⁶⁴.

De manera interesante, las simulaciones de dinámica molecular de CXCR7 permitieron capturar la formación del sitio de unión a sodio, el cual es frecuentemente denominado sitio críptico debido a su ubicación en la parte central de las siete hélices transmembranales (figura 15).

El análisis de contactos revela que el residuo D90^{2.50}, es esencial para la formación del sitio de unión a sodio críptico como se ha reportado en la literatura. Para evaluar como el ion sodio se aloja en dicha cavidad, se calculó la coordenada del eje Z del ion con relación al átomo de carbono del carboxilo D90, establecido como el punto de referencia (0,0,0)(Figura 14 panel C). La gráfica muestra que el ion sodio requiere

aproximadamente 200 ns para migrar y alojarse en la cavidad, permaneciendo estable durante el resto de la trayectoria.

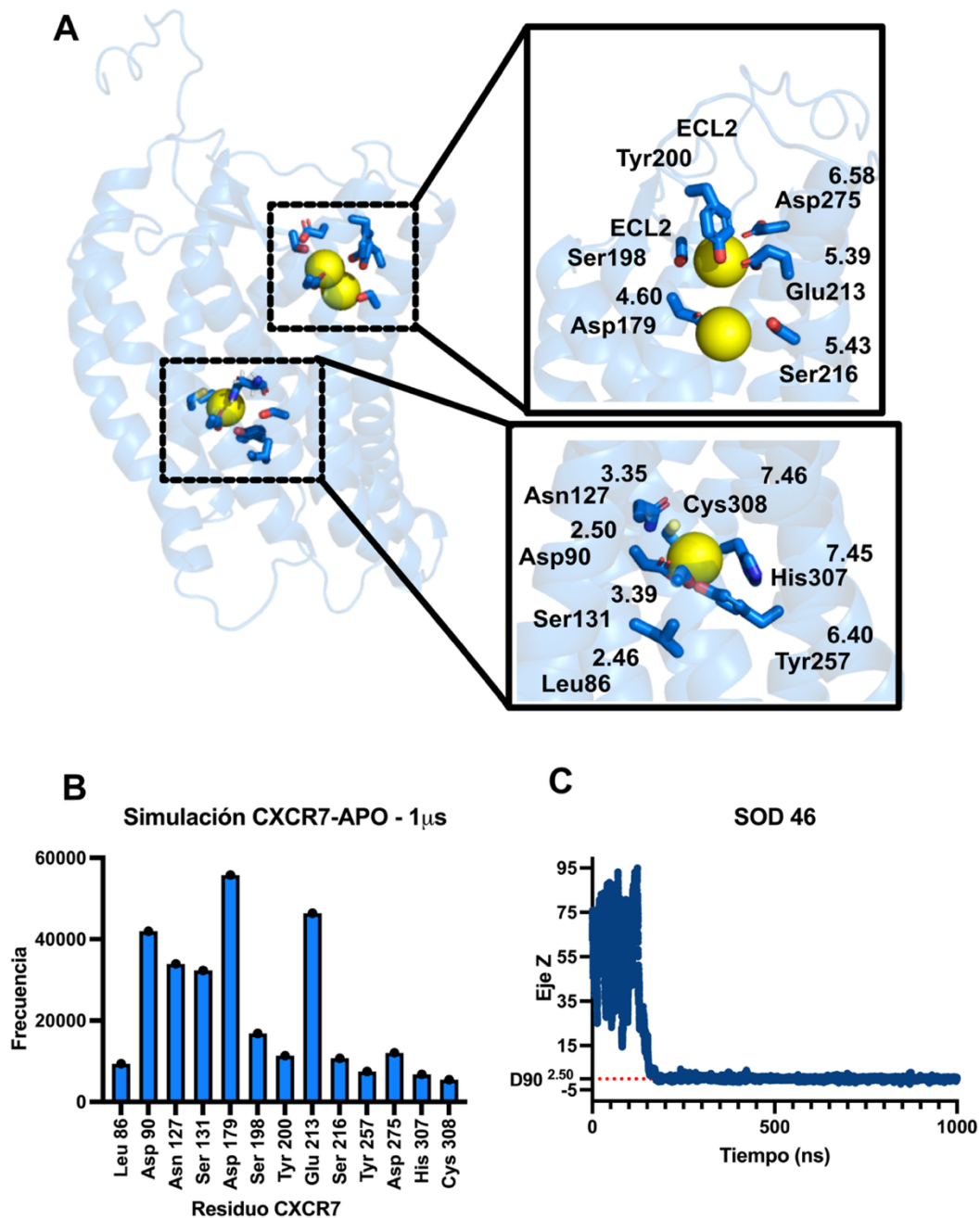


Figura 14. En el panel A, se muestra en azul y representación de estructura secundaria a CXCR7, con residuos resaltados en azul y representación de tubos, iones sodio se muestran en amarillo y representación de esferas. En el panel B, se muestran los contactos de iones sodio contra residuos de CXCR7. En el panel C, se muestra la coordenada Z del ion sodio de la cavidad criptica respecto del carbono del ácido carboxílico del residuo D90.

Como se ilustra en la figura 14, además del sitio crítico de unión a sodio conservado en la Clase A de esta familia de receptores, se identificó un segundo sitio de unión a sodio localizado en una región más extracelular de la cavidad ortostérica de CXCR7.

Análisis detallado muestra que CXCR7 presenta la capacidad de estabilizar un segundo sitio de unión a sodio, que involucra a los residuos D179^{4.60}, D275^{6.58}, E213^{5.39} y S216^{5.43}. Notablemente, este conjunto de residuos es el mismo que participa en interacciones electrostáticas que estabilizan las poses moleculares de los ligantes CXCL12, CXCL11 y LIH383. Esto sugiere que varios ligantes utilizan la presencia de este sitio de unión a sodio para reconocer y favorecer la interacción con esta región de CXCR7.

Para corroborar el hallazgo del segundo sitio de unión a sodio, se realizaron réplicas de la simulación del sistema CXCR7-APO. (Apéndice IV)

El análisis de las réplicas para el sistema CXCR7-APO reveló comportamientos dinámicos consistentes con la función alostérica del receptor, como se muestra en la figura 14. En las simulaciones 2 y 4, se capturó con éxito la formación del sitio de unión a sodio crítico. Por otro lado, en la simulación 3 se observó exclusivamente la ocupación del nuevo sitio de unión a sodio. Mientras que la simulación 4 se evidenció la ocupación simultánea de ambos sitios. Estos resultados sugieren que los sitios de unión a sodio operan de manera independiente, permitiendo la formación de uno sin la necesidad de la ocupación previa del otro.

Asimismo, se presenta el análisis de RMSD para las tres réplicas, donde la línea negra representa el valor promedio y las bandas sombreadas indican la desviación estándar a lo largo de los 500 ns de trayectoria. En la figura 15 panel D, se observa que la convergencia del RMSD global se alcanza tras los primeros 100 ns, un comportamiento análogo se aprecia en el RMSD de las hélices transmembranales.

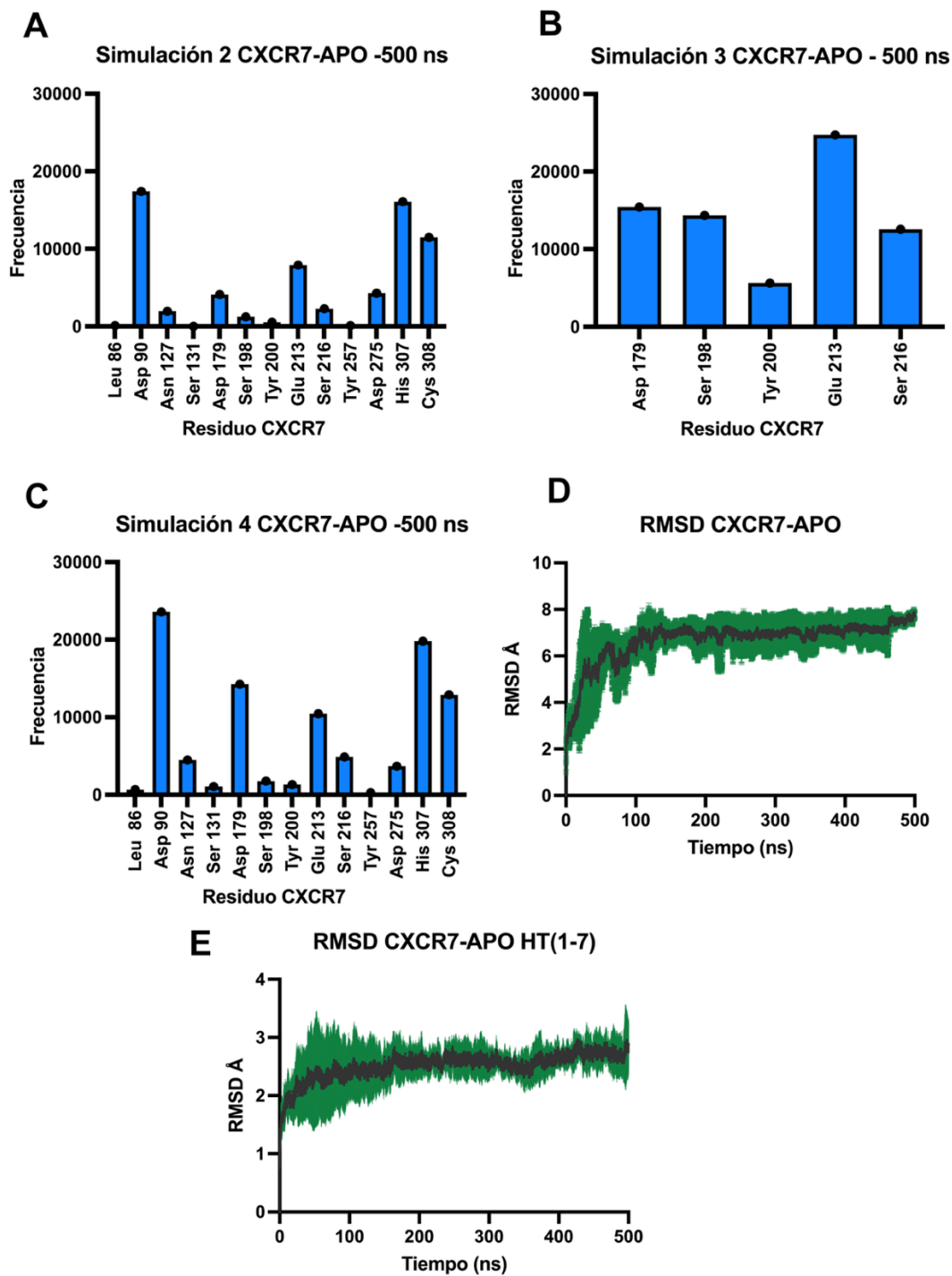


Figura 15. En el panel A, B, C se muestra la gráfica de contactos de residuos de CXCR7 contra iones sodio para las simulaciones 2, 3 y 4 respectivamente. En el panel D, se muestra la gráfica de valores de RMSD globales de CXCR7, en negro se muestra el promedio de los valores de RMSD, y en verde se muestra la desviación estándar de los valores de RMSD. En el panel E, se muestran los valores de RMSD truncados de CXCR7, en negro se muestra el promedio de los valores de RMSD, y en verde se muestra la desviación estándar de los valores de RMSD.

El paso del ion sodio hacia la cavidad críptica de CXCR7 debe de estar acompañada por una serie de efectos alostéricos y cambios conformacionales de diversos residuos involucrados. En este contexto, un estudio reciente reportó para 18 diferentes GPCRs, que el tiempo en que tarda en llegar el ion sodio a la cavidad críptica varía de acuerdo con cada receptor, siendo los receptores opioides KOR, MOR, DOR, NOR, aquellos en donde el ion sodio tardó relativamente poco en establecerse en dicha cavidad con valores de 0.08 μ s, 0.23 μ s, 0.18 μ s y 0.6 μ s respectivamente. En el caso de otros receptores como CXCR4, el ion sodio que tardó más tiempo en alojarse en dicha cavidad (5.5 μ s,) siendo el receptor de Histamina 1 (H1), el receptor donde el sodio tarda el mayor tiempo de todos los receptores estudiados con 27 μ s⁶⁵. Con esto, se puede comparar que el ion sodio tardó en alojarse en el sitio críptico del receptor CXCR7 un tiempo similar al observado para los receptores opioides MOR y DOR.

Basado en nuestros resultados, se observó que el paso del ion sodio hacia la cavidad críptica no es un proceso de difusión libre, sino que es un proceso que depende de varios cambios conformacionales, en particular, un mecanismo de compuerta molecular. En otras palabras, para que el ion sodio pueda penetrar hasta el sitio de unión profundo, es necesario un reordenamiento de residuos específicos. Durante la simulación del sistema CXCR7-APO (4 réplicas y un total de 3.0 μ s), se observó la participación de dos residuos aromáticos clave, la F124^{3,32} y el W265^{6,48}; el segundo residuo forma parte del motivo conservado CWxP en la hélice transmembranal 6.

Como se muestra en la figura 16, en el panel A, la entrada del ion sodio está fuertemente asociada a las transiciones rotaméricas del residuo F124^{3,32}. Se observa que la perturbación electrostática generada por la proximidad del ion sodio induce un cambio en el ángulo diedro χ_1 de este residuo (N-C α -C β -C γ) lo que permite su tránsito, actuando, así como una compuerta molecular que permite el acceso a la cavidad críptica. Una vez que el ion se posiciona y forma interacciones en el sitio profundo, el residuo F124^{3,32} recupera su conformación inicial, cerrando la compuerta formada principalmente por F124^{3,32} y W265^{6,48}.

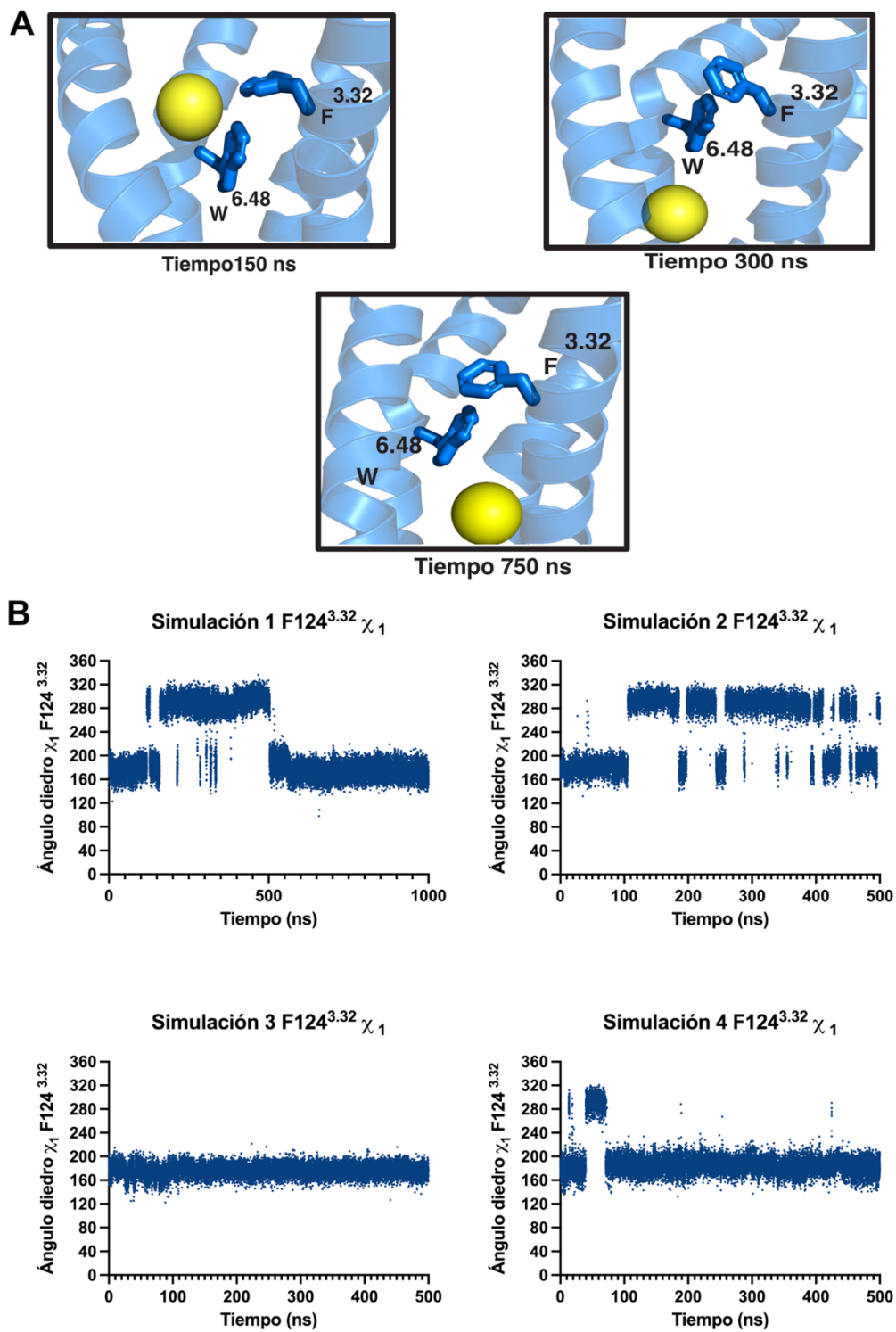


Figura 16. En el panel A, se muestra en azul y representación de estructura secundaria a CXCR7, y resaltados en representación de tubos a los residuos F124 y W265, el ion sodio se muestra en color amarillo y representación de esfera, se muestra los cambios rotaméricos de F124 a los tiempos (150, 300, 750) ns. En el panel B, se muestran las gráficas de ángulo diedro χ_1 de F124 en cada una de las simulaciones.

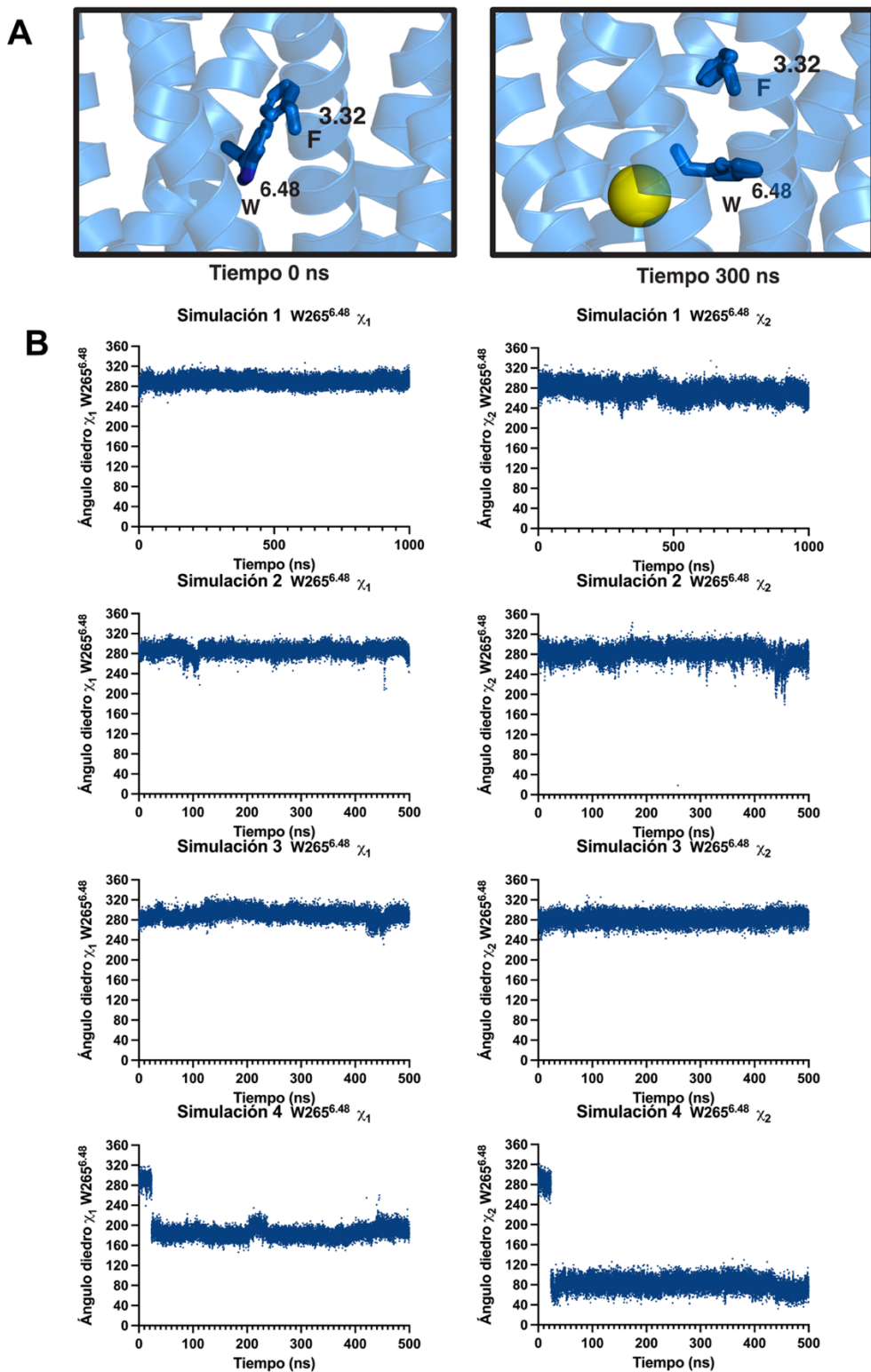


Figura 17. En el panel A, se muestra en azul y representación de estructura secundaria a CXCR7, y resaltados en representación de tubos a los residuos F124 y W265 de la simulación 4, ion sodio se muestra en amarillo y representación de esfera, se muestra los cambios rotaméricos de W268 a los tiempos (0, 300) ns. En el panel B, se muestra el ángulo diedro χ_1 y χ_2 para W265 en cada una de las simulaciones respectivamente.

Estos resultados son consistentes entre las cuatro réplicas realizadas. En la simulación 2, se identificó un comportamiento análogo de residuo F124^{3,32}, permitiendo establecer la formación del sitio de unión a sodio críptico. Por el contrario, en la simulación 3 no se observó la formación de dicho sitio durante el tiempo de simulación, lo cual se relacionó directamente con la ausencia de cambios en el ángulo diedro de F124^{3,32}, es decir, la compuerta se mantuvo en un estado cerrado. De manera notable, en la simulación 4, el residuo F124 exploró brevemente el estado abierto de la compuerta, aunque no se observó el paso del ion sodio; sin embargo, en esta réplica el acceso al sitio de unión a sodio críptico fue facilitado por un cambio en el estado rotamérico de residuo W265^{6,48} como se muestra en los cambios en sus ángulos χ_1 y χ_2 . (Figura 17)

Nuestras simulaciones de dinámica molecular permitieron capturar la formación del sitio de unión al ion sodio en la cavidad críptica del receptor CXCR7. Aun cuando este fenómeno es una característica conservada en la mayoría de las GPCRs de la Clase A, sus detalles moleculares no se manifiestan de manera uniforme en todos los miembros de dicha familia. Un caso reciente que remarcar tiene que ver con el aprovechamiento de este sitio de unión a sodio en la cavidad críptica en el diseño racional de fármacos; el desarrollo del agonista VIP36 para el receptor CB1. Este ligante fue diseñado específicamente para que incluir un grupo cargado positivamente que pudiera ocupar la cavidad críptica que alberga al residuo conservado D^{2,50}. En el receptor CB1, esta investigación permitió obtener ligantes tanto con una mayor selectividad periférica como con una señalización sesgada, logrando minimizar efectos secundarios como la tolerancia y la psicoactividad.⁶⁶

En relación con el segundo sitio de unión a sodio identificado en nuestro trabajo, los ligantes endógenos, CXCL12 y CXCL11, establecieron contactos significativos con los residuos que conforman este segundo sitio de unión a ion sodio. Destacaron por su relevancia D179^{4,60} y E213^{5,39}, los cuales, en el caso de CXCL12, interactúan de manera persistente durante la trayectoria con el residuo de K1. En el caso de CXCL11, estos mismos residuos de CXCR7 forman interacciones con los residuos K5 y R6 mediante la

formación de puentes salinos, lo que representa una contribución energética altamente favorable para la estabilidad del complejo.

Asimismo, el grupo amino de la cadena principal del residuo F1 en el péptido LIH383, también establece interacciones con D179^{4.60} y E213^{5.39}. En conjunto, estos resultados sugieren que tanto los ligantes endógenos como el octapéptido son capaces de explotar la presencia de este sitio de unión mediante interacciones carga-carga. Este mecanismo de mimetismo molecular con el sitio de unión a sodio no solo estabiliza la pose molecular de los ligandos, sino que parece ser un determinante clave en la afinidad del reconocimiento ligante-receptor en CXCR7.

En general, las simulaciones de dinámica molecular permiten explorar estados conformacionales intermedios de los GPCRs que no siempre son capturados en las estructuras cristalográficas de los estados activo e inactivo. Durante el tiempo de simulación (denominadas trayectorias), las transiciones entre diferentes estados funcionales pueden ocurrir a través de diversas vías. En los receptores GPCR, una conformación recurrente es el acercamiento de las regiones intracelulares de las hélices transmembranales 6 (TM-6) y 3 (TM-3), lo que facilita la formación de una red de interacciones electrostáticas conocidas como candado iónico. En este mecanismo, el residuo D/E^{6.30} establece un puente salino con el residuo R^{3.50} del motivo conservado DRY. La formación de este candado iónico es consistente con la estabilización de estados inactivos observados en diversos GPCRs, incluyendo el receptor prototípico de rodopsina²⁴.

En el caso del receptor CXCR7, la posición canónica D/E^{6.30} no se encuentra conservada; dicho sitio es ocupado por un residuo de lisina, mientras que la posición adyacente, presenta un residuo de glutamato, E246^{6.29}. Debido a la proximidad del residuo ácido, se evaluó la posible interacción entre R142^{3.50} y E246^{6.29} mediante el cálculo de distancias con la finalidad de determinar la formación del candado iónico en cada uno de los sistemas (figura 18).

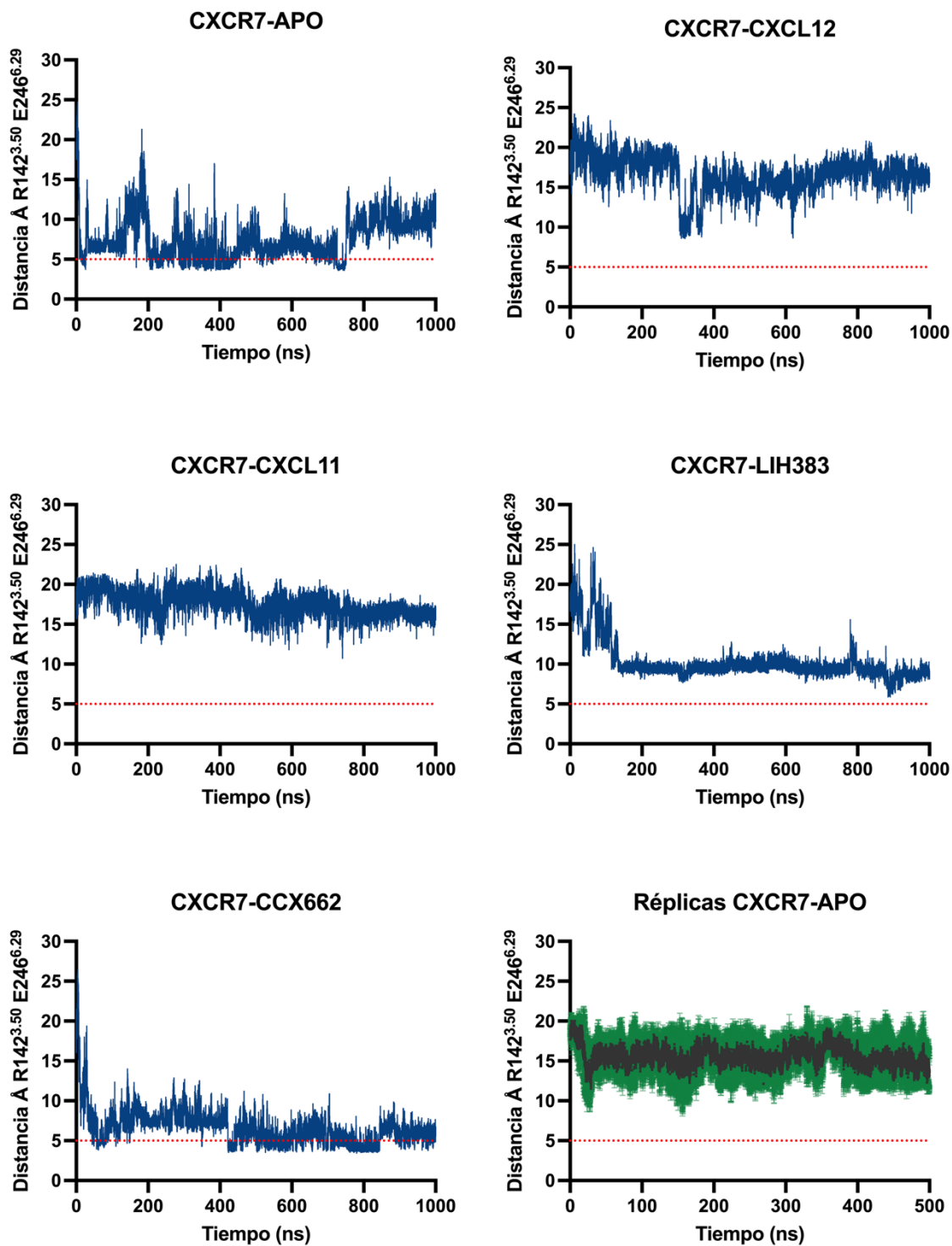


Figura 18. Se muestran las gráficas de distancia para cada sistema respecto al candado iónico formado por R142-E246, en rojo se resalta el valor de 5 Å, para fines de referencia.

Los resultados muestran que el sistema CXCR7-APO es capaz de formar el candado iónico entre R142^{3.50} y E246^{6.29}, lo que sugiere que el sistema explora conformaciones

asociadas con un estado inactivo. No obstante, se observa un comportamiento basal dinámico donde esta interacción se rompe de manera espontánea y recurrente sin requerir la presencia de un ligante. Por el contrario, los ligantes agonistas CXCL12, CXCL11 y LHM3383, impiden la formación de este contacto durante todo el tiempo de simulación, lo cual es congruente con la literatura que indica que la unión de un ligante agonista al receptor favorece la transición hacia estados activos al promover la apertura de las hélices transmembranales para el eventual acoplamiento de la proteína G.

De manera inesperada, el ligando sintético CCX662 estabilizó el candado iónico de forma persistente. Este comportamiento concuerda con la naturaleza ambigua de CCX662 descrita en diversos estudios, donde el ligante se ha descrito como un agonista⁶⁷, un agonista parcial⁶⁸ o incluso un antagonista⁶⁹ dependiendo del ensayo funcional.

El comportamiento observado en las réplicas del sistema CXCR7-APO, muestra un comportamiento similar a la simulación original del sistema CXCR7-APO (1.0 μ s), donde después de los 700 ns, se observa la apertura del candado iónico.

Para evaluar la flexibilidad de los C_{α} de los residuos de CXCR7 en cada sistema, se calculó la fluctuación cuadrática media (RMSF) de cada residuo. Valores de RMSF permite identificar las regiones del receptor que presentan mayor movilidad local, calculando la desviación de la posición de cada aminoácido respecto a su estructura promedio durante la trayectoria. Valores elevados de RMSF se asocian a regiones flexibles como son asas intra o extracelulares, así como regiones próximas al segmento N-terminal de CXCR7. Mientras que valores bajos indican regiones estructuralmente estables, como las hélices transmembranales, como se muestra en la figura 19.

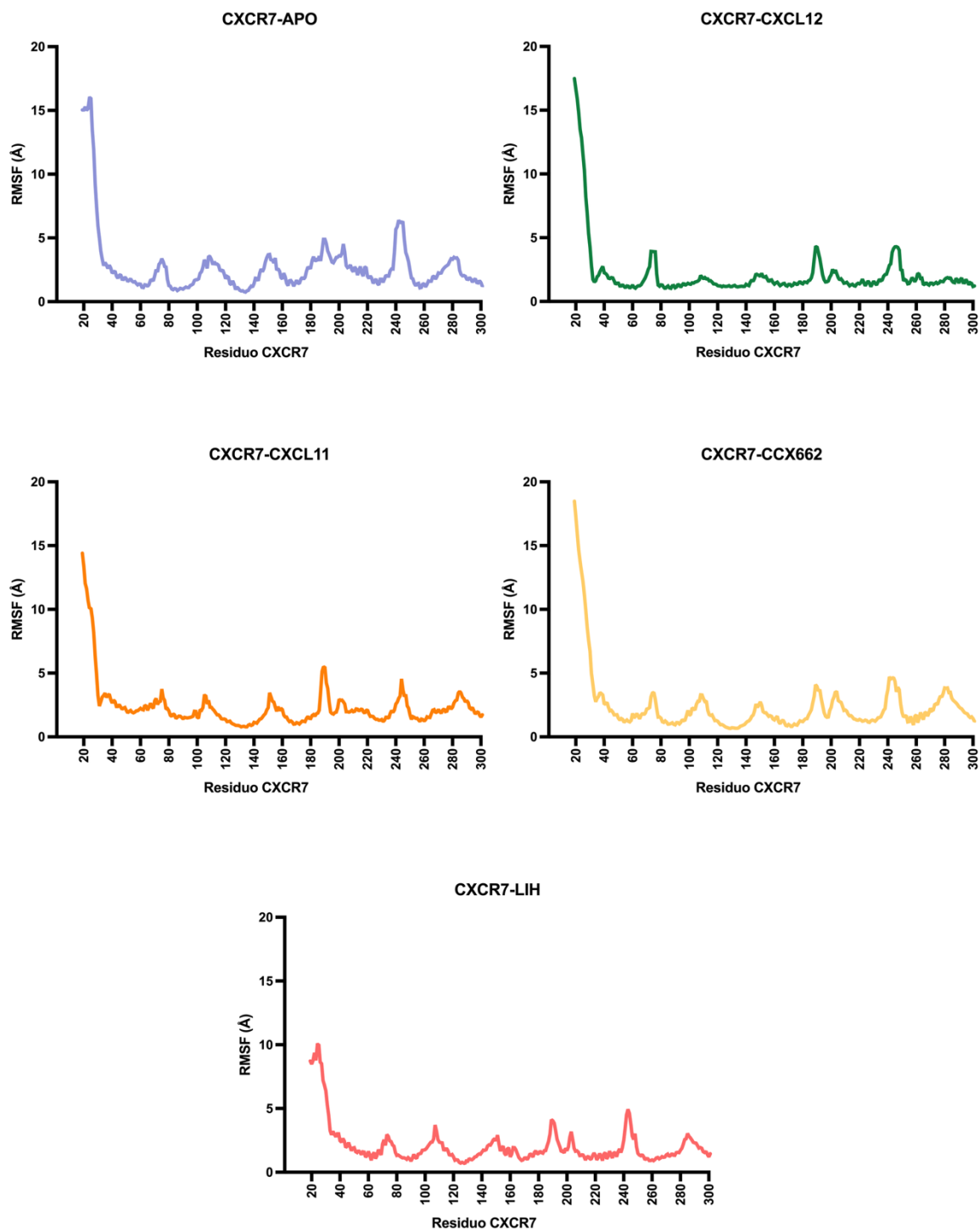


Figura 19. Se muestran las gráficas de los valores de RMSF de CXCR7 para cada uno de los sistemas.

Conclusiones.

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas para el receptor CXCR7 —tanto en su estado libre (APO) como en complejo con los ligantes CXCL12, CXCL11, LIH383 y CCX662— permitieron recopilar datos estructurales críticos sobre los residuos clave que modulan la interacción en el sitio de unión ortostérico. Estos resultados proporcionan información que explica la notable capacidad pleiotrópica de CXCR7 para reconocer y responder a ligandos de diversa naturaleza química.

De manera fundamental, el estudio logró caracterizar la formación de dos sitios de unión a sodio: uno localizado en la cavidad críptica del receptor y un segundo sitio situado en la región extracelular del sitio de unión ortostérico. Se observó que este último es ocupado específicamente por residuos con carga positiva de los ligantes endógenos (Arg y Lys), lo que sugiere su importancia en la interacción ligante-receptor. Así, nuestros resultados sugieren que ambos sitios de unión a sodio desempeñan un papel determinante en la función del receptor así como en la modulación funcional debida a la presencia de ligantes de CXCR7.

Bibliografía

- (1) Schlick, T. *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide: An Interdisciplinary Guide*; Interdisciplinary Applied Mathematics; Springer New York: New York, NY, 2010; Vol. 21. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6351-2>.
- (2) Levitt, M. The Birth of Computational Structural Biology. *Nat. Struct. Biol.* **2001**, 8 (5), 392–393. <https://doi.org/10.1038/87545>.
- (3) Levitt, M.; Lifson, S. Refinement of Protein Conformations Using a Macromolecular Energy Minimization Procedure. *J. Mol. Biol.* **1969**, 46 (2), 269–279. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(69\)90421-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(69)90421-5).
- (4) Lifson, S.; Warshel, A. Consistent Force Field for Calculations of Conformations, Vibrational Spectra, and Enthalpies of Cycloalkane and n-Alkane Molecules. *J. Chem. Phys.* **1968**, 49 (11), 5116–5129. <https://doi.org/10.1063/1.1670007>.
- (5) Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. *J. Chem. Phys.* **1983**, 79 (2), 926–935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>.

- (6) Warshel, A.; Levitt, M. Theoretical Studies of Enzymic Reactions: Dielectric, Electrostatic and Steric Stabilization of the Carbonium Ion in the Reaction of Lysozyme. *J. Mol. Biol.* **1976**, *103* (2), 227–249. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(76\)90311-9](https://doi.org/10.1016/0022-2836(76)90311-9).
- (7) McCammon, J. A.; Gelin, B. R.; Karplus, M. Dynamics of Folded Proteins. *Nature* **1977**, 267 (5612), 585–590. <https://doi.org/10.1038/267585a0>.
- (8) Struthers, R. S.; Hagler, A. T.; Rivier, J. Design of Peptide Analogs. In *Conformationally Directed Drug Design*; ACS Symposium Series; American Chemical Society, 1984; Vol. 251, pp 239–261. <https://doi.org/10.1021/bk-1984-0251.ch011>.
- (9) Levy, R. M.; Sheridan, R. P.; Keepers, J. W.; Dubey, G. S.; Swaminathan, S.; Karplus, M. Molecular Dynamics of Myoglobin at 298 Degrees K. Results from a 300-Ps Computer Simulation. *Biophys. J.* **1985**, *48* (3), 509–518. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(85\)83806-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(85)83806-6).
- (10) Wendoloski, J. J.; Kimatian, S. J.; Schutt, C. E.; Salemme, F. R. Molecular Dynamics Simulation of a Phospholipid Micelle. *Science* **1989**, *243* (4891), 636–638. <https://doi.org/10.1126/science.2916118>.
- (11) Harte, W. E.; Swaminathan, S.; Beveridge, D. L. Molecular Dynamics of HIV-1 Protease. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **1992**, *13* (3), 175–194. <https://doi.org/10.1002/prot.340130302>.
- (12) Zhu, X.; Lopes, P. E. M.; MacKerell, A. D. Recent Developments and Applications of the CHARMM Force Fields. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2012**, *2* (1), 167–185. <https://doi.org/10.1002/wcms.74>.
- (13) (PDF) Force Fields and Molecular Dynamics Simulations. *ResearchGate* **2025**. <https://doi.org/10.1051/sfn/201112009>.
- (14) Brooks, B. R.; Bruccoleri, R. E.; Olafson, B. D.; States, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. *J. Comput. Chem.* **1983**, *4* (2), 187–217. <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>.
- (15) Chandler, D. E.; Hsin, J.; Harrison, C. B.; Gumbart, J.; Schulten, K. Intrinsic Curvature Properties of Photosynthetic Proteins in Chromatophores. *Biophys. J.* **2008**, *95* (6), 2822–2836. <https://doi.org/10.1529/biophysj.108.132852>.
- (16) Amorim, H.; Netz, P. *Molecular Dynamics Simulations of Proteins: Theory and Applications* (2008); 2017.
- (17) Patodia, S. Molecular Dynamics Simulation of Proteins: A Brief Overview. *J. Phys. Chem. Biophys.* **2014**, *4* (6). <https://doi.org/10.4172/2161-0398.1000166>.
- (18) *Membranas celulares*. McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?sectionid=285936517&bookid=3467> (accessed 2025-09-06).
- (19) Lee, Y.; Basith, S.; Choi, S. Recent Advances in Structure-Based Drug Design Targeting Class A G Protein-Coupled Receptors Utilizing Crystal Structures and Computational Simulations. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (1), 1–46. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01453>.

- (20) Karp, G. *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos*, 5a ed. en español.; Blengio Pinto, J. R., Pérez Tamayo Ruiz, A. M., Translators; McGraw-Hill/Interamericana: México, 2014.
- (21) Zhang, D.; Zhao, Q.; Wu, B. Structural Studies of G Protein-Coupled Receptors. *Mol. Cells* **2015**, 38 (10), 836–842. <https://doi.org/10.14348/molcells.2015.0263>.
- (22) Lorente, J. S.; Sokolov, A. V.; Ferguson, G.; Schiöth, H. B.; Hauser, A. S.; Gloriam, D. E. GPCR Drug Discovery: New Agents, Targets and Indications. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2025**, 24 (6), 458–479. <https://doi.org/10.1038/s41573-025-01139-y>.
- (23) Latorraca, N. R.; Venkatakrisnan, A. J.; Dror, R. O. GPCR Dynamics: Structures in Motion. *Chem. Rev.* **2017**, 117 (1), 139–155. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00177>.
- (24) Samama, P.; Cotecchia, S.; Costa, T.; Lefkowitz, R. J. A Mutation-Induced Activated State of the Beta 2-Adrenergic Receptor. Extending the Ternary Complex Model. *J. Biol. Chem.* **1993**, 268 (7), 4625–4636. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)53442-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53442-6).
- (25) Hunyady, L.; Vauquelin, G.; Vanderheyden, P. Agonist Induction and Conformational Selection during Activation of a G-Protein-Coupled Receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* **2003**, 24 (2), 81–86. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(02\)00050-0](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(02)00050-0).
- (26) Kenakin, T.; Miller, L. J. Seven Transmembrane Receptors as Shapeshifting Proteins: The Impact of Allosteric Modulation and Functional Selectivity on New Drug Discovery. *Pharmacol. Rev.* **2010**, 62 (2), 265–304. <https://doi.org/10.1124/pr.108.000992>.
- (27) Martí-Solano, M.; Schmidt, D.; Kolb, P.; Selent, J. Drugging Specific Conformational States of GPCRs: Challenges and Opportunities for Computational Chemistry. *Drug Discov. Today* **2016**, 21 (4), 625–631. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.01.009>.
- (28) Li, J.; Jonsson, A. L.; Beuming, T.; Shelley, J. C.; Voth, G. A. Ligand-Dependent Activation and Deactivation of the Human Adenosine A2A Receptor. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (23), 8749–8759. <https://doi.org/10.1021/ja404391q>.
- (29) Liu, J. J.; Horst, R.; Katritch, V.; Stevens, R. C.; Wüthrich, K. Biased Signaling Pathways in B2-Adrenergic Receptor Characterized by 19F-NMR. *Science* **2012**, 335 (6072), 1106–1110. <https://doi.org/10.1126/science.1215802>.
- (30) Wang, C.; Chen, W.; Shen, J. CXCR7 Targeting and Its Major Disease Relevance. *Front. Pharmacol.* **2018**, 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00641>.
- (31) Graham, G. J.; Locati, M.; Mantovani, A.; Rot, A.; Thelen, M. The Biochemistry and Biology of the Atypical Chemokine Receptors. *Immunol. Lett.* **2012**, 145 (1), 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2012.04.004>.
- (32) Klein, K. R.; Karpinich, N. O.; Espenschied, S. T.; Willcockson, H. H.; Dunworth, W. P.; Hoopes, S. L.; Kushner, E. J.; Bautch, V. L.; Caron, K. M. Decoy Receptor CXCR7 Modulates Adrenomedullin-Mediated Cardiac and Lymphatic Vascular Development. *Dev. Cell* **2014**, 30 (5), 528–540. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.07.012>.

- (33) Décaillot, F. M.; Kazmi, M. A.; Lin, Y.; Ray-Saha, S.; Sakmar, T. P.; Sachdev, P. CXCR7/CXCR4 Heterodimer Constitutively Recruits β -Arrestin to Enhance Cell Migration*. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286* (37), 32188–32197. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.277038>.
- (34) Busillo, J. M.; Benovic, J. L. Regulation of CXCR4 Signaling. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* **2007**, *1768* (4), 952–963. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.11.002>.
- (35) Peled, A.; Petit, I.; Kollet, O.; Magid, M.; Ponomaryov, T.; Byk, T.; Nagler, A.; Ben-Hur, H.; Many, A.; Shultz, L.; Lider, O.; Alon, R.; Zipori, D.; Lapidot, T. Dependence of Human Stem Cell Engraftment and Repopulation of NOD/SCID Mice on CXCR4. *Science* **1999**, *283* (5403), 845–848. <https://doi.org/10.1126/science.283.5403.845>.
- (36) Ulvmar, M. H.; Hub, E.; Rot, A. Atypical Chemokine Receptors. *Exp. Cell Res.* **2011**, *317* (5), 556–568. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.01.012>.
- (37) Cambier, S.; Gouwy, M.; Proost, P. The Chemokines CXCL8 and CXCL12: Molecular and Functional Properties, Role in Disease and Efforts towards Pharmacological Intervention. *Cell. Mol. Immunol.* **2023**, *20* (3), 217–251. <https://doi.org/10.1038/s41423-023-00974-6>.
- (38) Balabanian, K.; Lagane, B.; Infantino, S.; Chow, K. Y. C.; Harriague, J.; Moepps, B.; Arenzana-Seisdedos, F.; Thelen, M.; Bachelier, F. The Chemokine SDF-1/CXCL12 Binds to and Signals through the Orphan Receptor RDC1 in T Lymphocytes *. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280* (42), 35760–35766. <https://doi.org/10.1074/jbc.M508234200>.
- (39) Wang, C.; Chen, W.; Shen, J. CXCR7 Targeting and Its Major Disease Relevance. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00641>.
- (40) Boldajipour, B.; Mahabaleswar, H.; Kardash, E.; Reichman-Fried, M.; Blaser, H.; Minina, S.; Wilson, D.; Xu, Q.; Raz, E. Control of Chemokine-Guided Cell Migration by Ligand Sequestration. *Cell* **2008**, *132* (3), 463–473. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.034>.
- (41) Wang, H.; Beaty, N.; Chen, S.; Qi, C.-F.; Masiuk, M.; Shin, D.-M.; Morse, H. C., III. The CXCR7 Chemokine Receptor Promotes B-Cell Retention in the Splenic Marginal Zone and Serves as a Sink for CXCL12. *Blood* **2012**, *119* (2), 465–468. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343608>.
- (42) Cole, K. E.; Strick, C. A.; Paradis, T. J.; Ogborne, K. T.; Loetscher, M.; Gladue, R. P.; Lin, W.; Boyd, J. G.; Moser, B.; Wood, D. E.; Sahagan, B. G.; Neote, K. Interferon-Inducible T Cell Alpha Chemoattractant (I-TAC): A Novel Non-ELR CXC Chemokine with Potent Activity on Activated T Cells through Selective High Affinity Binding to CXCR3. *J. Exp. Med.* **1998**, *187* (12), 2009–2021. <https://doi.org/10.1084/jem.187.12.2009>.
- (43) Tensen, C. P.; Flier, J.; Rampersad, S. S.; Sampat-Sardjoeppersad, S.; Scheper, R. J.; Boorsma, D. M.; Willemze, R. Genomic Organization, Sequence and Transcriptional Regulation of the Human CXCL 11 Gene. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gene Struct. Expr.* **1999**, *1446* (1–2), 167–172. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(99\)00084-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(99)00084-6).

- (44) Lasagni, L.; Francalanci, M.; Annunziato, F.; Lazzeri, E.; Giannini, S.; Cosmi, L.; Sagrinati, C.; Mazzinghi, B.; Orlando, C.; Maggi, E.; Marra, F.; Romagnani, S.; Serio, M.; Romagnani, P. An Alternatively Spliced Variant of CXCR3 Mediates the Inhibition of Endothelial Cell Growth Induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and Acts as Functional Receptor for Platelet Factor 4. *J. Exp. Med.* **2003**, *197* (11), 1537–1549. <https://doi.org/10.1084/jem.20021897>.
- (45) Wu, Q.; Dhir, R.; Wells, A. Altered CXCR3 Isoform Expression Regulates Prostate Cancer Cell Migration and Invasion. *Mol. Cancer* **2012**, *11* (1), 3. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-11-3>.
- (46) Proost, P.; Mortier, A.; Loos, T.; Vandercappellen, J.; Gouwy, M.; Ronsse, I.; Schutyser, E.; Put, W.; Parmentier, M.; Struyf, S.; Van Damme, J. Proteolytic Processing of CXCL11 by CD13/Aminopeptidase N Impairs CXCR3 and CXCR7 Binding and Signaling and Reduces Lymphocyte and Endothelial Cell Migration. *Blood* **2007**, *110* (1), 37–44. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-049072>.
- (47) Meyrath, M.; Szpakowska, M.; Zeiner, J.; Massotte, L.; Merz, M. P.; Benkel, T.; Simon, K.; Ohnmacht, J.; Turner, J. D.; Krüger, R.; Seutin, V.; Ollert, M.; Kostenis, E.; Chevigé, A. The Atypical Chemokine Receptor ACKR3/CXCR7 Is a Broad-Spectrum Scavenger for Opioid Peptides. *Nat. Commun.* **2020**, *11* (1), 3033. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16664-0>.
- (48) Wang, C.; Chen, W.; Shen, J. CXCR7 Targeting and Its Major Disease Relevance. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00641>.
- (49) Sali, A.; Blundell, T. L. Comparative Protein Modelling by Satisfaction of Spatial Restraints. *J. Mol. Biol.* **1993**, *234* (3), 779–815. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1626>.
- (50) Qin, L.; Kufareva, I.; Holden, L. G.; Wang, C.; Zheng, Y.; Zhao, C.; Fenalti, G.; Wu, H.; Han, G. W.; Cherezov, V.; Abagyan, R.; Stevens, R. C.; Handel, T. M. Crystal Structure of the Chemokine Receptor CXCR4 in Complex with a Viral Chemokine. *Science* **2015**, *347* (6226), 1117–1122. <https://doi.org/10.1126/science.1261064>.
- (51) Rebolledo-Bustillo, M.; Garcia-Gomez, D.; Dávila, E. M.; Castro, M. E.; Caballero, N. A.; Melendez, F. J.; Baizabal-Aguirre, V. M.; Sanchez-Gaytan, B. L.; Perez-Aguilar, J. M. Structural Basis of the Binding Mode of the Antineoplastic Compound Motixafortide (BL-8040) in the CXCR4 Chemokine Receptor. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (5), 4393. <https://doi.org/10.3390/ijms24054393>.
- (52) Jiao, H.; Pang, B.; Liu, A.; Chen, Q.; Pan, Q.; Wang, X.; Xu, Y.; Chiang, Y.-C.; Ren, R.; Hu, H. Structural Insights into the Activation and Inhibition of CXC Chemokine Receptor 3. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2024**, *31* (4), 610–620. <https://doi.org/10.1038/s41594-023-01175-5>.
- (53) Zhuang, Y.; Wang, Y.; He, B.; He, X.; Zhou, X. E.; Guo, S.; Rao, Q.; Yang, J.; Liu, J.; Zhou, Q.; Wang, X.; Liu, M.; Liu, W.; Jiang, X.; Yang, D.; Jiang, H.; Shen, J.; Melcher, K.; Chen, H.; Jiang, Y.; Cheng, X.; Wang, M.-W.; Xie, X.; Xu, H. E. Molecular Recognition of Morphine and Fentanyl by the Human μ -Opioid Receptor. *Cell* **2022**, *185* (23), 4361–4375.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.041>.
- (54) Yen, Y.-C.; Schafer, C. T.; Gustavsson, M.; Eberle, S. A.; Dominik, P. K.; Deneka, D.; Zhang, P.; Schall, T. J.; Kossiakoff, A. A.; Tesmer, J. J. G.; Handel, T. M. Structures

- of Atypical Chemokine Receptor 3 Reveal the Basis for Its Promiscuity and Signaling Bias. *Sci. Adv.* **2022**, *8* (28), eabn8063. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abn8063>.
- (55) Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. VMD: Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graph.* **1996**, *14* (1), 33–38, 27–28. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5).
- (56) Isberg, V.; de Graaf, C.; Bortolato, A.; Cherezov, V.; Katritch, V.; Marshall, F. H.; Mordalski, S.; Pin, J.-P.; Stevens, R. C.; Vriend, G.; Gloriam, D. E. Generic GPCR Residue Numbers - Aligning Topology Maps Minding The Gaps. *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36* (1), 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.11.001>.
- (57) Stride.Pdf. <https://webclu.bio.wzw.tum.de/stride/stride.pdf> (accessed 2025-12-23).
- (58) Phillips, J. C.; Braun, R.; Wang, W.; Gumbart, J.; Tajkhorshid, E.; Villa, E.; Chipot, C.; Skeel, R. D.; Kalé, L.; Schulten, K. Scalable Molecular Dynamics with NAMD. *J. Comput. Chem.* **2005**, *26* (16), 1781–1802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>.
- (59) Huang, J.; Rauscher, S.; Nawrocki, G.; Ran, T.; Feig, M.; de Groot, B. L.; Grubmüller, H.; MacKerell, A. D. CHARMM36m: An Improved Force Field for Folded and Intrinsically Disordered Proteins. *Nat. Methods* **2017**, *14* (1), 71–73. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4067>.
- (60) Gustavsson, M.; Dyer, D. P.; Zhao, C.; Handel, T. M. Kinetics of CXCL12 Binding to Atypical Chemokine Receptor 3 Reveal a Role for the Receptor N Terminus in Chemokine Binding. *Sci. Signal.* **2019**, *12* (598), eaaw3657. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaw3657>.
- (61) Lee, S.-M.; Booe, J. M.; Pioszak, A. A. Structural Insights into Ligand Recognition and Selectivity for Class A, B, and C GPCRs. *Eur. J. Pharmacol.* **2015**, *763* (0 0), 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.013>.
- (62) Jiao, H.; Pang, B.; Liu, A.; Chen, Q.; Pan, Q.; Wang, X.; Xu, Y.; Chiang, Y.-C.; Ren, R.; Hu, H. Structural Insights into the Activation and Inhibition of CXC Chemokine Receptor 3. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2024**, *31* (4), 610–620. <https://doi.org/10.1038/s41594-023-01175-5>.
- (63) Meyrath, M.; Szpakowska, M.; Zeiner, J.; Massotte, L.; Merz, M. P.; Benkel, T.; Simon, K.; Ohnmacht, J.; Turner, J. D.; Krüger, R.; Seutin, V.; Ollert, M.; Kostenis, E.; Chevigné, A. The Atypical Chemokine Receptor ACKR3/CXCR7 Is a Broad-Spectrum Scavenger for Opioid Peptides. *Nat. Commun.* **2020**, *11* (1), 3033. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16664-0>.
- (64) Katritch, V.; Fenalti, G.; Abola, E. E.; Roth, B. L.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Allosteric Sodium in Class A GPCR Signaling. *Trends Biochem. Sci.* **2014**, *39* (5), 233–244. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.03.002>.
- (65) Selvam, B.; Shamsi, Z.; Shukla, D. Universality of the Sodium Ion Binding Mechanism in Class A G-Protein-Coupled Receptors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57* (12), 3048–3053. <https://doi.org/10.1002/anie.201708889>.
- (66) Rangari, V. A.; O'Brien, E. S.; Powers, A. S.; Slivicki, R. A.; Bertels, Z.; Appourchaux, K.; Aydin, D.; Ramos-Gonzalez, N.; Mwirigi, J.; Lin, L.; Mangutov, E.; Sobecks, B. L.; Awad-Agbaria, Y.; Uphade, M. B.; Aguilar, J.; Peddada, T. N.; Shiimura, Y.; Huang, X.-P.; Folarin-Hines, J.; Payne, M.; Kalathil, A.; Varga, B. R.; Kobilka, B. K.; Pradhan, A. A.; Cameron, M. D.; Kumar, K. K.; Dror, R. O.; Gereau, R.

W.; Majumdar, S. A Cryptic Pocket in CB1 Drives Peripheral and Functional Selectivity. *Nature* **2025**, 640 (8057), 265–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08618-7>.

Apéndice I

Definición de ángulo diedro.

El ángulo diedro $\tau_{i-j-k-l}$ está definido por una secuencia de cuatro átomos unidos, es un ángulo entre el plano normal de los átomos $i-j-k$ y el plano normal de los átomos $j-k-l$. El signo del ángulo $\tau_{i-j-k-l}$ está determinado por el triple producto de $(a \times b) \cdot c$, donde a, b, c son los vectores de distancias interatómicas para los átomos $i \rightarrow j, j \rightarrow k, y k \rightarrow l$ respectivamente.

Cuando el ángulo diedro es 0° , los cuatro átomos $i-j-k-l$ son coplanares y los átomos i y l coinciden en su proyección sobre el plano normal del enlace $j-k$, esta orientación está definida como *cis*. Cuando el ángulo diedro es 180° , los átomos son coplanares pero los átomos i y j , recaen opuestos entre sí sobre la proyección del plano normal del enlace $j-k$, dicha orientación está definida como *trans*. De manera más general, regiones angulares convenientes en el estudio de proteínas son: *cis* ($\approx 0^\circ$), *trans* ($\approx 180^\circ$), y *gauche* ($\pm 60^\circ$)

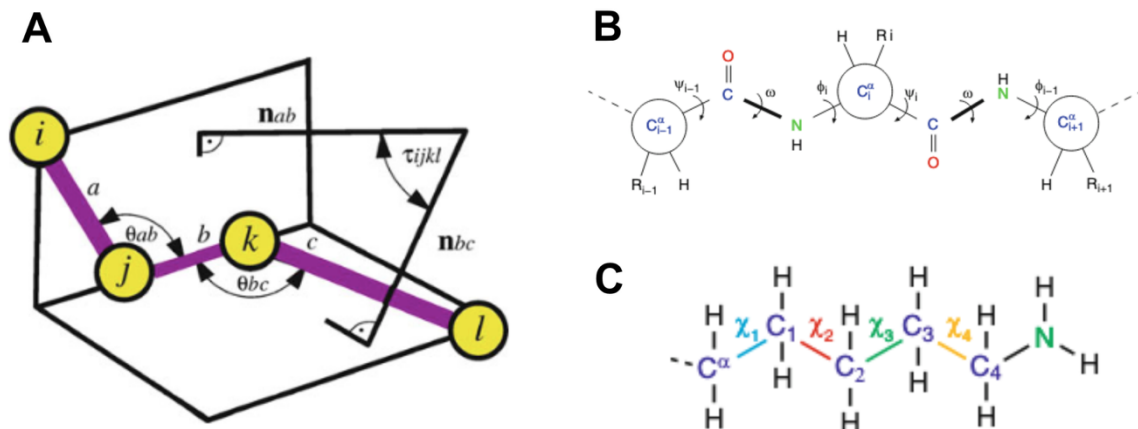


Figura 20. En el panel A, se muestran los átomos i-j-k-l formando un ángulo diedro. En el panel B, se muestra los ángulos diedros ψ , ϕ , ω que están presentes en la cadena principal de las proteínas. En el panel C, se muestran a los ángulos diedros χ y los subíndices que puede obtener dependiendo de la cadena lateral R.

Apéndice II

Tabla 1 Contactos de ligantes contra las hélices transmembranales HT1-7 en porcentajes

Ligando	HT-1	HT-2	HT-3	HT-4	HT-5	HT-6	HT-7
LIH383	0.37	11.12	21.34	3.33	9.09	29.49	25.23
CXCL12	1.67	7.78	8.59	2.97	5.38	41.89	31.69
CXCL11	0.019	6.8	27.04	5.85	19.92	33.48	6.85
CCX662	5.2	5.4	35.65	2.99	15.94	15.92	18.81

Apéndice III

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r_i(t) - r_i^{ref})^2}$$

N: Número de átomos.

$r_i(t)$: Posición del átomo i en el tiempo t

r_i^{ref} : Posición del átomo i en la estructura de referencia.

$$RMSF = \sqrt{\langle (r_i) - \langle r_i \rangle \rangle^2}$$

r_i : Posición del átomo i

$\langle r_i \rangle$: Posición promedio del átomo i a lo largo de toda la simulación.

Apéndice IV

Tabla 2. Réplicas de CXCR7 con tiempo de simulación y descripción de la formación de sitios de unión a sodio.

Réplicas CXCR7-APO	Tiempo de simulación (ns)	Sitio de unión a sodio críptico	Sitio de unión a sodio extracelular
md1_CXCR7_APO	1000	Si	Si
md2_CXCR7_APO	500	Si	No
md3_CXCR7_APO	500	No	Si
md4_CXCR7_APO	1000	Si	Si

Apéndice V

Fundamentalmente, en las simulaciones de dinámica molecular se resuelven las ecuaciones de movimientos de Newton.

$$\vec{F}_i(t_n) = m_i \ddot{\vec{r}}_i(t_n), \quad n = 0, 1, 2, \dots$$

Donde $\vec{F}_i$ es la fuerza total que actúa sobre el i -ésimo átomo, m_i es su masa, $\ddot{\vec{r}}_i$ es la segunda derivada temporal del vector de posición y t_n el valor del tiempo en el que se encuentra el sistema.

Debido a que la fuerza es conservativa, se puede reescribir como:

$$F_i = -\nabla_i U(\vec{R}) \quad \vec{R} = r_1, r_2, \dots, r_N$$

Donde ∇_i es el gradiente del componente i -ésimo y $U(\vec{R})$ es el potencial, que en el caso específico de CHARMM el potencial se escribe como:

$$\begin{aligned}
U(\vec{R}) = & \sum_{enlaces} k_i^{enlaces} (r_i - r_0)^2 + \sum_{angulos} k_i^{angulos} (\theta_i - \theta_0)^2 \\
& + \sum_{diedral} k_i^{diedral} [1 + \cos(n_i \phi_i - \delta_i)] + \sum_{impropio} k_i^{impropio} (\omega_i - \omega_0)^2 \\
& + \sum_{U-B} k_i^{U-B} (u_i - u_0)^2 + \sum_i \sum_{j>i} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \\
& + \sum_i \sum_{j>i} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 \epsilon r_{ij}}
\end{aligned}$$

Donde las expresiones matemáticas representan los descriptores estructurales de la interacción de los átomos en el sistema.