

## José Fernando Díaz Pereira

Investigador Científico  
fer@cib.csic.es



**PhD, 1993**  
Universidad Complutense de Madrid  
**Becario Postdoctoral, 1994-1995**  
**Investigador Asociado, 1996-1997**  
Universidad Católica de Lovaina (Bélgica)  
**Investigador Contratado, 1998-2001**  
**Científico Titular, 2001-2007**  
**Investigador Científico, 2008**  
**Jefe de Grupo, 2008**  
CIB, CSIC

## Isabel Barasoain Blasco

Científica Titular  
i.barasoain@cib.csic.es



**PhD, 1976**  
Universidad Complutense de Madrid  
**Postdoctoral, 1978-1980**  
Rosenstiel Basic Research Center,  
Brandeis University, (Waltham, MA, USA)  
**Postdoctoral, 1980-1981**  
Center for Cancer Research (MIT)  
Cambridge (MA, USA)  
**Científica Titular, 1981**  
CIB, CSIC

### Otros miembros Other lab members:

Francisco de Asís Balaguer Perez  
Chiara Trigili  
Juan Estévez Gallego  
Daniel Lucena Agell

Aylin Martínez Teresa-Calleja  
Mariano Redondo Horcajo  
Javier Rodríguez Salarisch  
Gonzalo Saez Calvo

<http://www.cib.csic.es/es/grupo.php?idgrupo=68>

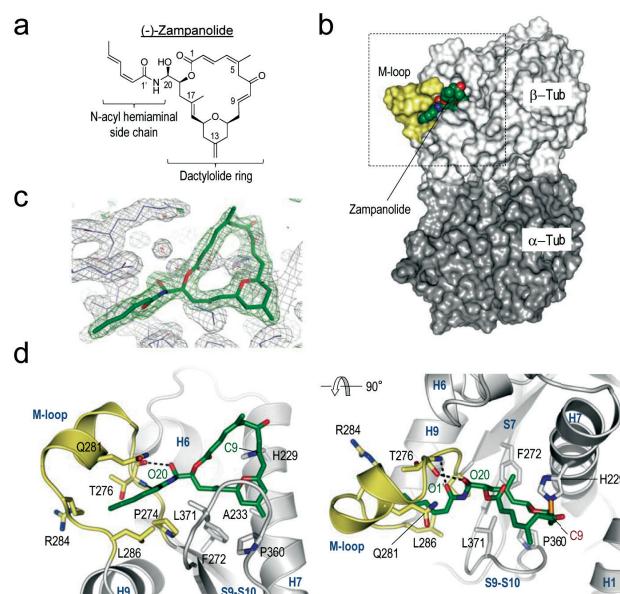
# Agentes Estabilizantes de Microtúbulos

La búsqueda y desarrollo de nuevos y mejores compuestos antitumorales es un campo de la mayor importancia en la investigación farmacológica. Dentro de los antitumorales nos especializamos en los dirigidos contra tubulina, proteína esencial para la división celular y la angiogénesis, buscando nuevos sitios farmacológicos y estudiando a nivel bioquímico, celular y estructural la interacción de estos compuestos con su diana.

Los agentes moduladores de tubulina son un grupo de compuestos químicamente muy diversos que son capaces de inhibir o promover el ensamblaje de esta proteína en microtúbulos lo que impide que puedan cumplir adecuadamente su funciones celulares. Dado que los microtúbulos están implicados en la segregación de los cromosomas, en el tráfico de vesículas y orgánulos y en el mantenimiento de la forma celular, son esenciales para la mitosis y la angiogénesis y por tanto son una diana óptima para agentes antitumorales, contra los cuales los tumores no pueden desarrollar resistencia por utilización de caminos alternativos como es el caso de los inhibidores de kinasas.

Durante el bienio 2013-2014 la actividad del grupo se ha centrado en la obtención de técnicas para la determinación estructural de los complejos entre agentes moduladores de tubulina (especialmente de agentes estabilizantes) y la proteína, en la caracterización de nuevos sitios farmacológicos en la molécula y en el estudio de la relación estructura función de distintas familias de fármacos. Como hitos más relevantes cabe resaltar:

- Las estructuras a alta resolución del complejo activado de tubulina con agentes estabilizantes de microtúbulos del sitio de Paclitaxel (Prota et al. 2013) y Laulimalide (Prota et al. 2014).
- El descubrimiento de un nuevo sitio farmacológico en tubulina (PM/Maitansina) con un compuesto en fase I de pruebas clínicas. (Pera et al 2014, Prota et al 2014b).



**Figura 1 | Figure 1**

Estructura de los complejos tubulina-Zampanolida y Tubulina-Epothilona A. (A) Estructuras de Zampanolida y Epothilona A. (B) Vista general del complejo formado por tubulina y Zampanolida. La caja muestra el área que aparece en más detalle en (C). (C y D) Vista de la red de interacción entre Zampanolida (C) o Epothilona A (D) y  $\beta$ -tubulina. Tubulin-Zampanolide and tubulin-Epothilone A complex structures. (A) Chemical structure of Zampanolide and Epothilone A. (B) Overall view of the complex formed between tubulin and Zampanolide. The dashed box depicts the area shown in more detail in (C). (C and D) Close-up views of the interaction network observed between Zampanolide (C) or Epothilone A (D) and  $\beta$ -tubulin.



# Microtubule Stabilizing Agents

The search for new and better anti-cancer drugs and their development is a field of utmost importance in current drug research. We are specialized in those targeting tubulin, a protein essential for cell division and angiogenesis, we search for new pharmacological sites and study the interaction of these compounds with their target at biochemical, structural and cellular level.

**T**ubulin modulating agents are a group of chemically diverse compounds able to either inhibit or promote microtubule polymerization which impairs microtubule mediated cellular functions. Microtubules are involved in chromosome segregation, vesicles and organelles traffic and the maintenance of cellular shape, thus they are essential for mitosis and angiogenesis. This makes them an optimal target for antitumoral agents to which tumours can not develop resistance using alternative cellular pathways as is the case with the kinase inhibitors. During the years 2013 and 2014 the group has been working in the development of tools for the structural determination of the complex between the tubulin modulating agents (specially microtubule stabilizing agents) and tubulin, in the characterization of new druggable sites in the molecule and in the study of the structure activity relationship of several drugs families. The more relevant findings of the group during the period have been.

- The high resolution structure of an activated complex of tubulin with microtubule stabilizing agents of the paclitaxel (Prota et al. 2013) and laulimalide site (Prota et al. 2014).
- The discovery of a new druggable site in tubulin (PM/Maytansine) having already a compound in Phase I of clinical trials. (Pera et al 2014, Prota et al 2014b).



## Financiación | Funding

- BIO2013-42984-R (**MINECO**)
- S2010/BMD-2457 (**CAM**)
- 2011CU0006 (**CSIC**)
- BIO2010-16351 2011-2013 (**MINECO**)

## Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- Prota, A.E., Bargsten, K., Zurwerra, D., Field, J.J., Díaz, J.F. Altmann, K.H. and Steinmetz, M.O. *Molecular Mechanism of Action of Microtubule-Stabilizing Anticancer Agents*, **Science** (2013) 339, (6119) 587-590 DOI:10.1126/science.1230582.
- Carda, M., Murga, J., Paños, J., Angulo-Pachón, C.A., García-Pla, J., Díaz-Oltra, S., Marco, J.A., Trigili, C., Redondo-Horcajo, C., Díaz, J.F. and Barasoain, I. *Synthesis and Biological Evaluation As Microtubule-Active Agents of Several Tetrahydrofuran and Spiroacetal Derivatives*. (2013) **Current Medicinal Chemistry**, 20, 1173-1182.
- Field, J.J., Calvo, E., Northcote, P., Miller, J.H., Altmann, K.H. and Díaz, J.F. *Methods for studying microtubule binding site interactions: zampanolide as a covalent binding agent*. (2013) **Methods in Cell Biology** 115, 303-326. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-407757-7.00019-0>.
- Pera, B., Barasoain, I., Canales, A., Matesanz, R., Rodríguez-Salarichs, J., García-Fernandez, L.F. Moneo, V. Jiménez-Barbero, J., Galmarini, C.M., Cuevas, C., Díaz, J.F. and Andreu, J.M. *New interfacial microtubule inhibitors of marine origin with potent antitumor activity and a distinct mechanism* (2013) **ACS Chemical Biology**, 8, 284-294. <http://dx.doi.org/10.1021/cb400461j>.
- Prota, A.E., Bargsten, K., Northcote, P.T., Marsh, M., Altmann, K.H., Miller, J.H., Díaz, J.F. and Steinmetz, M.O. *Structural Basis of Microtubule Stabilization by Laulimalide and Peloruside A* (2014) **Angew. Chem. Int. Ed.**, 53, 1621-1625, DOI: 10.1002/anie.201307749.
- Canales, A., Nieto, L., Rodríguez-Salarichs, J., Sánchez-Murcia, P.A., Claire Coderech, C., Cortés-Cabrera, A., Paterson, I., Carlomagno, T., Gago, F., Andreu, J.M., Altmann, K.H. Jiménez-Barbero, J. and Díaz, J.F. *Molecular Recognition of Epothilones by Microtubules and Tubulin Dimers Revealed by Biochemical and NMR Approaches* (2014) **ACS Chem. Biol.** 9 (4) 1033-1043 [dx.doi.org/10.1021/cb400673h](http://dx.doi.org/10.1021/cb400673h).
- Martínez-Díez M., Guillén-Navarro, M.J., Pera, B., Bouchet, B.P., Martínez Leal J.F., Barasoain I., Cuevas C., Andreu, J.M., García Fernández, L.F., Díaz, J.F., Avilés, P., Galmarini, C.M. *PM060184, a new tubulin binding agent with potent antitumor activity including P-glycoprotein over-expressing tumors* (2014) **Biochemical Pharmacology** 88 291-302 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2014.01.026>.
- Matesanz, R., Trigili, C., Rodríguez-Salarichs, J., Zanardi, I., Pera, B., Nogales, A., Fang, W.-S., Jiménez-Barbero, J., Canales, A., Barasoain, I., Ojima, I., Díaz, J.F. *Taxanes with high potency inducing tubulin assembly overcome tumoural cell resistances*. (2014) **Bioorganic and Medicinal Chemistry** 22, 5078-5090. DOI:10.1016/j.bmc.2014.05.048.
- Gaugaz, F.Z., Redondo-Horcajo, M., Barasoain, I., Díaz, J.F. Cobos-Correa, A. Kaufmann, M. Altmann, K.H. *The Impact of Cyclopropane Configuration on the Biological Activity of Cyclopropyl-Epothilones*. (2014) **ChemMedChem** 9, 2227-2232. <http://dx.doi.org/10.1002/cmdc.201402129>.
- Prota A.E., Bargsten, K., Díaz, J.F., Marsh, M., Cuevas C., Liniger, M., Neuhaus, C., Andreu, J.M. Altmann, K.-H. and Steinmetz M.O. *A new tubulin-binding site and pharmacophore for microtubule-destabilizing anticancer drugs*. (2014) **PNAS** 111, 38, 13817-13821. DOI: 10.1073/pnas.1408124111.

## Figura 2 | Figure 2

PM050489 un potente agente despolimerizante de microtúbulos. (A) Estructuras de PM050489 y análogos. (B) Efectos celulares de PM050489 comparado con isohomoaalcondrina B (IHB) y vinblastina (VBL). (C) Efecto de PM050489 en la fracción de tubulina polimerizada de células A549 comparado con paclitaxel y VBL. (D) Efecto de PM050489 y PM060184 en el ciclo celular de A549 comparado con IHB y VBL.

PM050489 is a potent microtubule depolymerizing agent. (A) Chemical structures of PM050489 and its analogs. (B) Cellular effects of PM050489, compared to isohomoaalcondrin B (IHB) and vinblastine (VBL). (C) Effects of PM050489 on the polymerized tubulin pool of A549 cells, compared to paclitaxel and VBL. (D) Effects of PM050489 and PM060184 on the cell cycle of A549 cells compared to IHB and VBL.