

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Calpaína y sus inhibidores

Bernardo Herradón
 Instituto de Química Orgánica General, CSIC

Biografía Resumen

Bernardo Herradón es Investigador Científico en el IQOG-CSIC, donde ha sido director (2006-2010). Se licenció (1980) y doctoró (1986) por la Universidad Complutense de Madrid. Ha investigado en la Universidad de Alcalá, ETH-Zurich y Stanford University. Su investigación ha evolucionado desde metodología sintética y síntesis de productos naturales hasta el estudio de la estructura y propiedades de compuestos útiles biológicamente o tecnológicamente. Es autor de unas 75 publicaciones científicas originales y 5 patentes, algunas extendidas a Europa, USA, Japón y China. Ha sido investigador principal en 15 proyectos de convocatorias públicas y ha liderado 10 proyectos con empresas. Entre sus objetivos está la difusión de la Cultura Científica, participando activamente en ferias científicas, visitas guiadas, mesas redondas, charlas y cursos de divulgación. Es el comisario científico de la exposición "Entre Moléculas" y director del curso de divulgación "Los Avances de la Química y su Impacto en la Sociedad".

Páginas web:
<http://www.losavancesdelaquimica.com/>
<http://www.madrimasd.org/blog/quimicaysociedad/>
<http://www.iqog.csic.es/iqog/investigador/bernardo-herradon-garcia>

La calpaína es una proteasa con cisteína con un papel metabólico muy activo. Es una proteasa única, necesitando Ca²⁺ para su activación. Nuestro grupo ha preparado inhibidores muy potentes y selectivos de esta enzima.

Summary

Calpain is a cysteine protease with a highly active metabolic role. It is a unique protease since it requires Ca²⁺ for activation. Our group has prepared many potent and selective inhibitors of calpain.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

Las proteasas o peptidasas catalizan la ruptura (hidrólisis) de enlaces peptídicos. Se han clasificado en cinco clases principales basadas en su mecanismo de catálisis: *serine*, *threonine*, *cysteine*, *aspartate*, y metalo proteasas. Las reacciones proteolíticas son fundamentales en numerosos procesos biológicos y, por lo tanto, necesitan una regulación estricta. Algunos de los procesos en los que la actividad de proteasa es importante para la homeostasis son el crecimiento celular, la muerte celular, la coagulación de la sangre, remodelación celular, activación del sistema inmune. Además, los microorganismos usan sus proteasas para su ciclo vital y para infectar al organismo huésped. Por lo tanto, las proteasas son importantes objetivos para el diseño de fármacos para el tratamiento de numerosas enfermedades.

Las calpaínas, o proteasas neutras activadas por calcio, son una familia de proteasas con un papel metabólico muy activo. Aunque su sustrato natural no está claramente determinado, estas enzimas catalizan la hidrólisis de una variedad de proteínas implicadas en la transducción de señales, en la reconstrucción del citoesqueleto, en la regulación del ciclo celular y en la apoptosis. En mamíferos, la familia de calpaínas comprende diversas isoformas específicas de tejido y dos isoenzimas ubicuas: la μ -calpaína (o calpaína-1, CAPN1) y la m-calpaína (o CAPN2), que requieren cantidades micromolares y milimolares, respectivamente, de Ca²⁺ para su activación. Estudios estructurales por difracción de rayos X han mostrado que cada isoforma está compuesta por una subunidad grande (~ 80 kDa), que presenta un dominio de proteasa con cisteína del tipo de la papaína, y una subunidad pequeña (~ 30 kDa), que es común a cada isoenzima. Los extremos C-terminales de cada subunidad tienen dominios capaces de unirse a Ca²⁺ (dominio tipo calmodulina).

La sobreactivación de las calpaínas (lo que puede ocurrir al aumentar la concentración intracelular de Ca²⁺) está implicada en numerosas enfermedades, tales como las isquemias cerebral y cardiaca, Alzheimer, Parkinson, distrofia muscular, cataratas, enfermedades desmielinizantes (como la esclerosis múltiple) y otras enfermedades degenerativas. Por otro lado, la calpaína está latente en las células en reposo (es decir, con niveles de Ca²⁺ "normales"). Por ello, la inhibición de calpaína se presenta como un tratamiento adecuado en enfermedades neurodegenerativas. Además hay que destacar que los inhibidores potentes y selectivos de calpaína pueden ser muy útiles como herramientas de trabajo para estudiar el mecanismo de acción de esta proteasa, así como su papel en ciertos procesos fisiológicos. Por otro lado, se ha descrito recientemente que isoenzimas minoritarias de calpaína, como CAPN5 y CAPN10, pueden tener papeles importantes en enfermedades relacionadas con el síndrome metabólico, como la diabetes y la hipertensión.

Se han descrito inhibidores reversibles e irreversibles de calpaína. Los rasgos estructurales más frecuentes de estos inhibidores es que son péptidos o peptidomiméticos con pocos aminoácidos (entre 2 y 6) hidrófobos y alguna funcionalidad electrófila, entre las que cabe mencionar compuestos 1,2-dicarbonílicos, aldehidos, α -cetofosfonatos, α -cetofosfinatos, α -haloacetonas, epóxidos, etc. Aparentemente, estos compuestos actúan sobre el dominio tipo papaína de la calpaína, lo que se traduce en una selectividad relativamente baja, por lo que frecuentemente también son inhibidores de otras proteasas con cisteína (por ejemplo, papaína) e incluso de proteasas con serina (serine protease). En parte debido a estos inconvenientes, aún no se ha encontrado un inhibidor de calpaína con utilidad terapéutica.

La aportación de nuestro grupo al área de inhibidores de calpaína se resume en que hemos preparado y ensayado más de 500 inhibidores de calpaína, con diversas estructuras (biarilos, heterociclos, carbohidratos, péptidos, e híbridos péptido-molde relacionados). Muchos de estos compuestos son inhibidores en escala nanomolar y algunos en escala picomolar. Hay que destacar que algunos de nuestros inhibidores no son electrófilos, actuando posiblemente impidiendo la activación de calpaína por Ca^{2+} , lo que les hace muy selectivos.

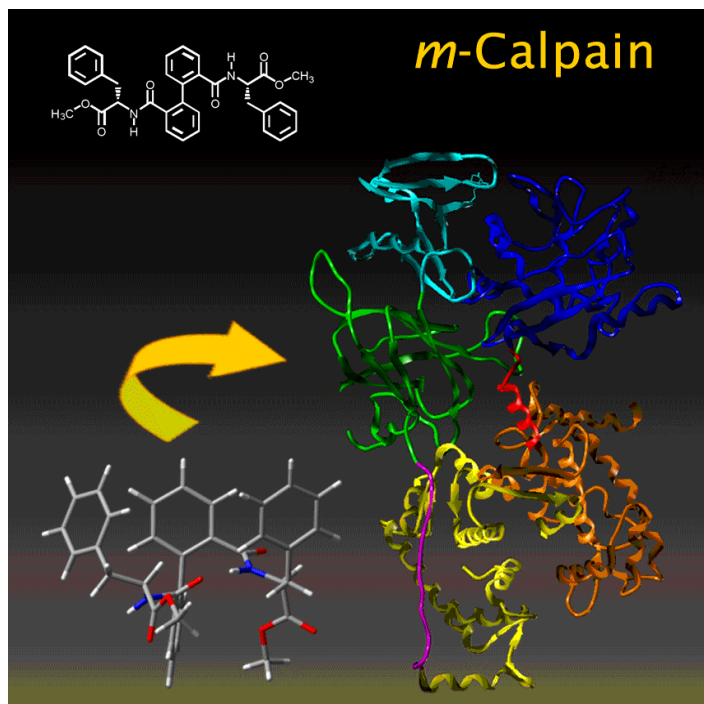
La investigación la planteamos en varias etapas. En primer lugar se sintetizan las moléculas objetivo, que se caracterizan estructuralmente por una variedad de técnicas espectroscópicas (RMN mono- y bi-dimensionales, espectrometría de masas, infrarrojo). Se intentan obtener monocristales para analizar por difracción de rayos-X. Los resultados cristalográficos sirven para confirmar la estructura y para identificar interacciones no covalentes (útiles para otros proyectos relacionados del grupo). Los compuestos sintetizados se prueban como inhibidores de calpaína.

A partir de los resultados de inhibición de calpaína, refinamos la estructura de las siguientes generaciones de inhibidores. De los compuestos más activos se hace modelización computacional exhaustiva, que incluye métodos basados en mecánica molecular (búsquedas conformacionales y simulaciones de dinámicas moleculares) y métodos químico-cuánticos, que permiten refinar la estructura y calcular propiedades moleculares (electrónicas, energéticas, electrostáticas, descriptores de reactividad e índices de aromaticidad). Finalmente, los resultados estructurales y de actividad biológica se relacionan a través de métodos SAR (relaciones estructura-actividad) que permiten racionalizar los resultados y contribuyen en el diseño de otros inhibidores.

También hemos empezado a realizar estudios de docking entre los inhibidores más potentes y la enzima.

Puesto que la calpaína tiene un papel fisiológico muy amplio, también hemos ensayado nuestros inhibidores en otras actividades biológicas (neuroprotección, antimitóticos, antivirales, antimaláricos) con resultados satisfactorios.

Figura. Calpaína y uno de sus inhibidores (fórmula y estructura).



Referencias

- 1.- MEROPS - the Peptidase Database (<http://merops.sanger.ac.uk/>)
- 2.- D. E. Goll, V. F. Thompson, H. Li, W. Wei, J. Cong, Phys. Rev. 2003, 83, 731-801.
- 3.- A. T. Neffe, A. D. Abell, Curr. Op. Drug Discov. Devel. 2005, 8, 684-700.
- 4.- M. Zatz; A. Starling, New Engl. J. Med. 2005, 352, 2413-2423.
- 5.- R. Chicharro, M. Alonso, M. T. Mazo, V. J. Arán, B. Herradón, ChemMedChem. 2006, 1, 710-714.
- 6.- A. Montero, F. Albericio, M. Royo, B. Herradón, Org. Lett. 2004, 6, 4089-4092.
- 7.- http://www.iqog.csic.es/iqog/html/es/lineas/lineainvestigacion.jsp?li_id=4