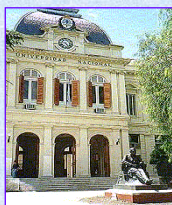
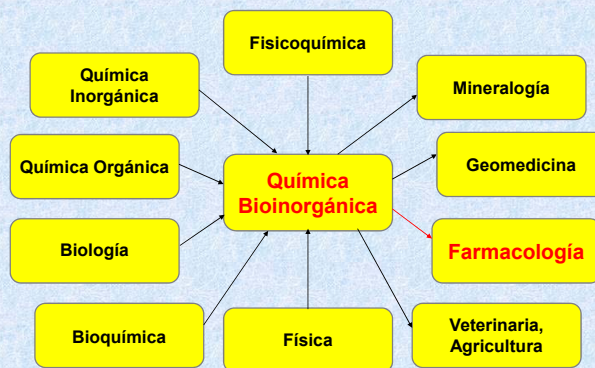


**Efectos farmacológicos de compuestos de vanadio:  
Efectos insulino-miméticos *in vitro* e *in vivo*. Estudios clínicos del BEOV**



Facultad de Ciencias Exactas  
Universidad Nacional de La Plata  
UNLP

**Química Bioinorgánica: área interdisciplinaria**



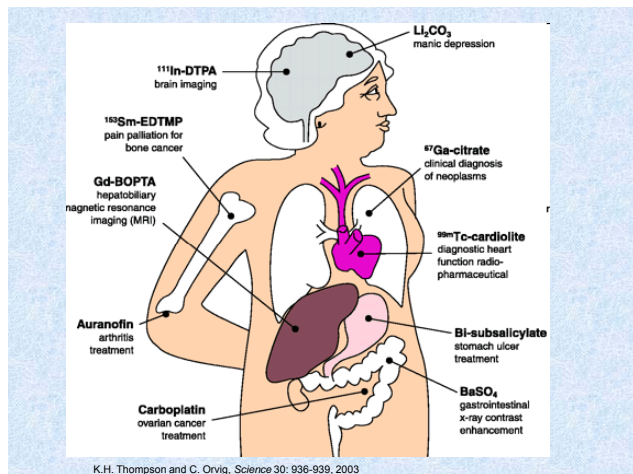
**Formación de complejos metálicos**

- Activar enzimas o lograr efectos enzimo-miméticos
- Mejorar la biodisponibilidad de drogas
- Aumentar la estabilidad de la droga activa
- Lograr menores efectos secundarios
- Lograr compuestos con menor resistencia
- Cambiar los efectos farmacológicos
- Lograr fármacos activos por vía oral

**Aplicaciones de la Química Inorgánica en Medicina**

1. Drogas utilizadas para la homeostasis de iones metálicos
2. Drogas basadas en metales en las que el ión central es la "llave" del mecanismo de acción:

aplicaciones farmacocinéticas  
aplicaciones quimioterapéuticas  
aplicaciones en estudios por imágenes



## Diabetes mellitus

- Síndrome clínico producido por un grupo de desórdenes metabólicos que se caracteriza por la presencia de hiperglucemia.
- Defecto en la secreción y/o en la acción de la insulina.

## Panorama actual y futuro

- **Incidencia y prevalencia: proporciones epidémicas.**
- **Estimación a nivel mundial para el año 2030: 366 millones de diabéticos.**
- **Prevalencia a nivel mundial: 4,4 %**  
(Wild y col., 2004)
- **Prevalencia en Argentina: 6,5 - 7,7 %**  
(Sereday y col., 2004)

## Clasificación de Diabetes mellitus\*

- **I. Diabetes tipo 1 #** (la destrucción de las células  $\beta$  pancreáticas conduce habitualmente a una deficiencia absoluta de insulina).
    - Inmunomediada
    - Idiopática
  - **II. Diabetes tipo 2 #** (se combinan la resistencia a la acción de la insulina con una inadecuada respuesta secretoria compensatoria de la hormona).
  - **III. Otros tipos específicos**
    - Defectos genéticos de las células  $\beta$  del páncreas
    - Defectos genéticos en la acción de la insulina
    - Enfermedades del páncreas exócrino
    - Endocrinopatías
    - Inducida por drogas
    - Asociada a infecciones
    - Formas poco frecuentes de diabetes inmunomediadas
    - Otros síndromes genéticos asociados con diabetes
  - **IV. Diabetes mellitus gestacional** (cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se identifica por primera vez durante el embarazo).
- \* Propuesta por la Asociación Americana de Diabetes (ADA). # Los pacientes con cualquier tipo de diabetes pueden requerir tratamiento insulínico en algún estadio de la enfermedad. El uso de insulina no constituye un criterio de clasificación.

**INSULINA:** principal hormona que regula la homeostasis de la glucosa

Incrementa la captación de glucosa por el músculo y por el tejido adiposo

Promueve la síntesis de glucógeno, lípidos y proteínas e inhibe su degradación

Disminuye la producción hepática de glucosa

#### RESISTENCIA INSULÍNICA

La **resistencia a la insulina (RI)** es una característica asociada a ambos tipos de diabetes mellitus: tipo 1 y tipo 2.

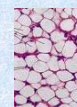
En la **diabetes tipo 2**, la RI a nivel hepático resulta en un incremento en la producción hepática de glucosa



A nivel del músculo esquelético causa una disminución en la captación de glucosa, el paso limitante de la velocidad para la utilización de la glucosa



En tejido adiposo, promueve la liberación del FNT $\alpha$  que a su vez determina un aumento en la secreción de ácidos grasos libres. Además el FNT $\alpha$  reprime la expresión de varios genes relacionados con la utilización y almacenamiento de la glucosa.



#### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

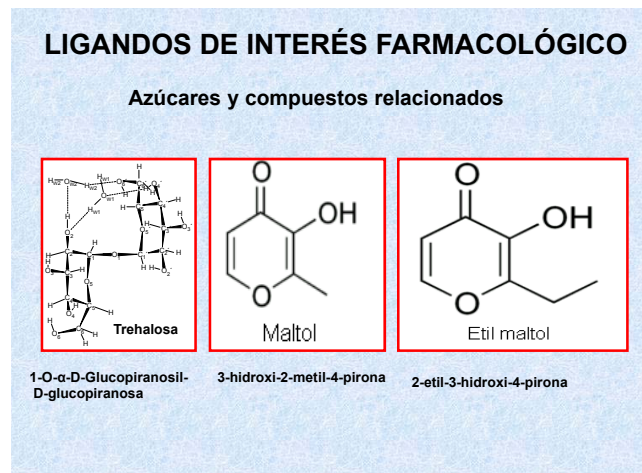
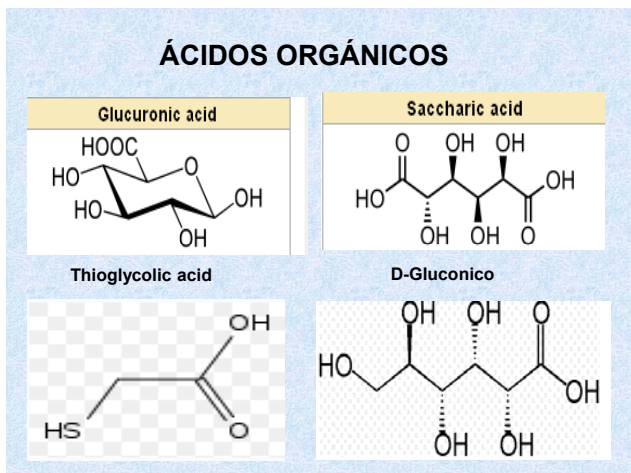
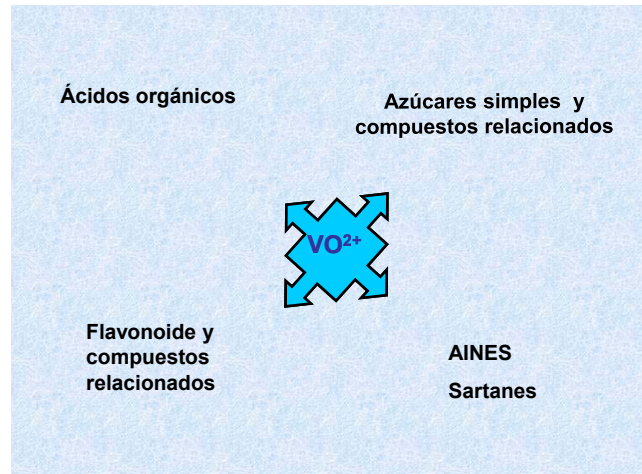
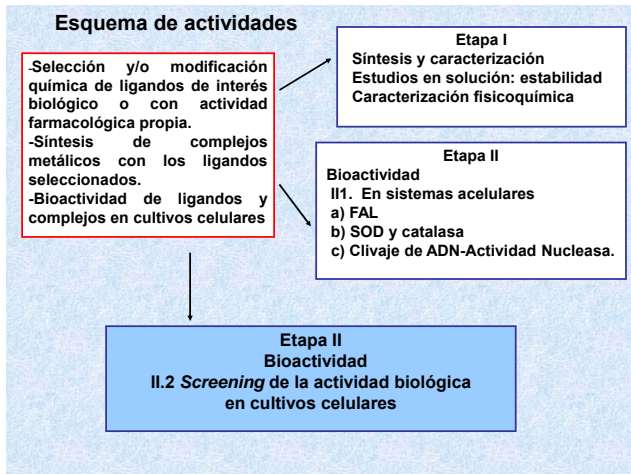
Síntesis, caracterización fisicoquímica y bioactividad *in vitro* de nuevos compuestos de vanadio  
Potenciales aplicaciones farmacológicas

#### ACCIONES FARMACOLÓGICAS DEL VANADIO

**Insulinomiméticos**

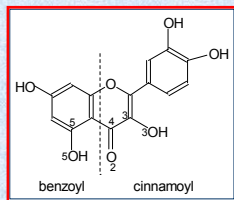
**Osteogénicos**

**Antitumorales**

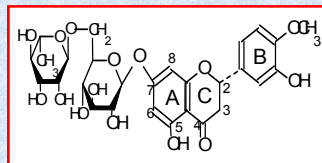


## LIGANDOS DE INTERÉS FARMACOLÓGICO

Flavonas, flavonoides y compuestos relacionados



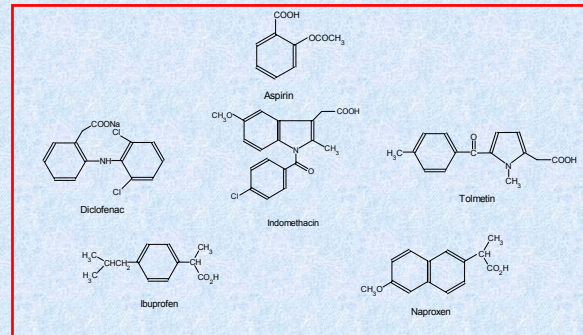
Quercetina



Hesperidina

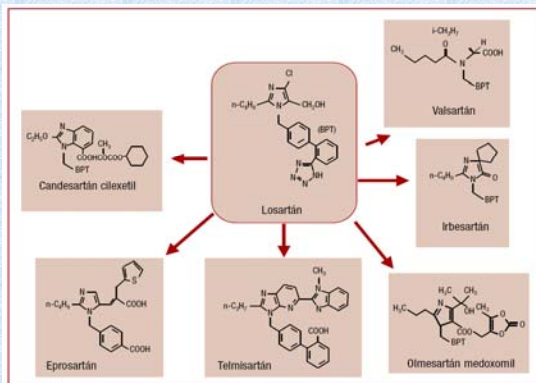
## LIGANDOS DE INTERÉS FARMACOLÓGICO

AINES

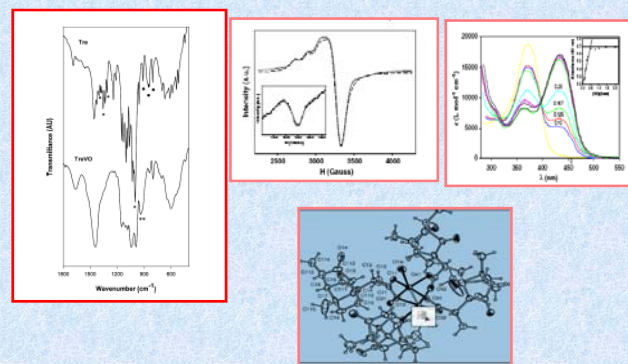


## LIGANDOS DE INTERÉS FARMACOLÓGICO

Sartanes

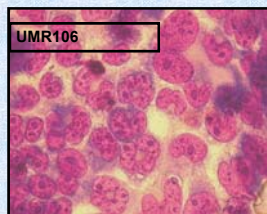
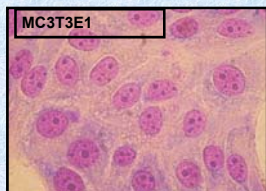


## CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

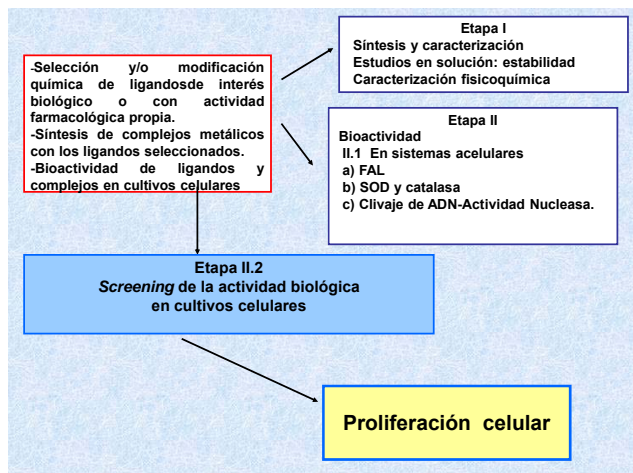




## LÍNEAS OSTEABLÁSTICAS

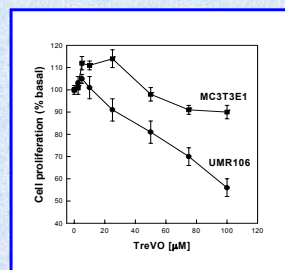


## ESTUDIOS *IN VITRO* CULTIVOS CELULARES

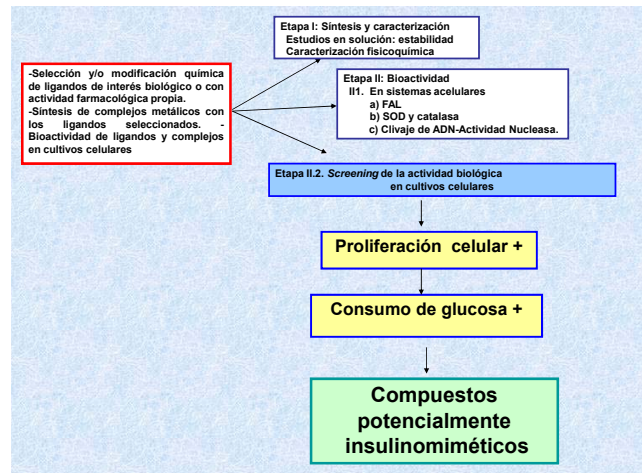
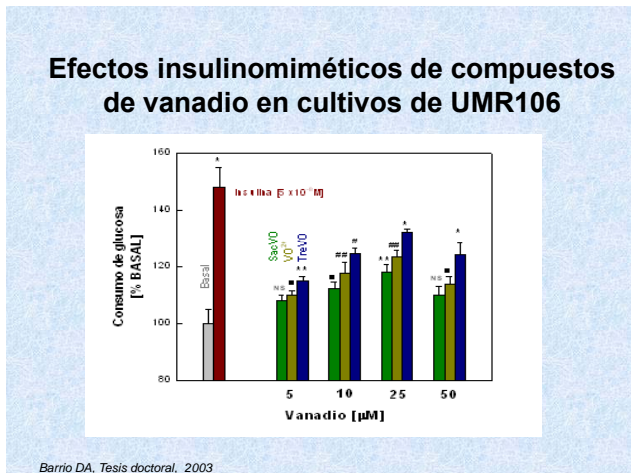
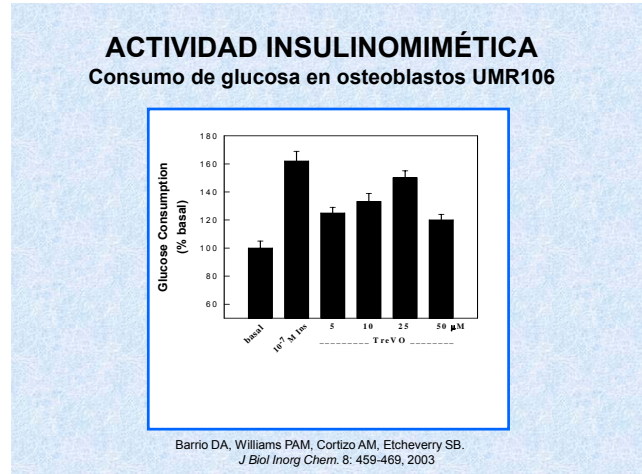
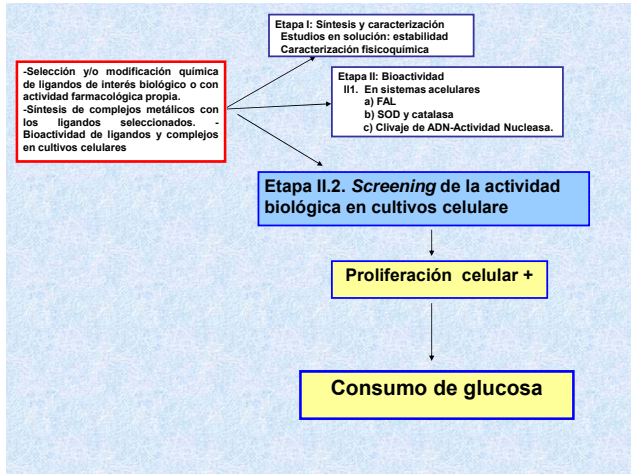


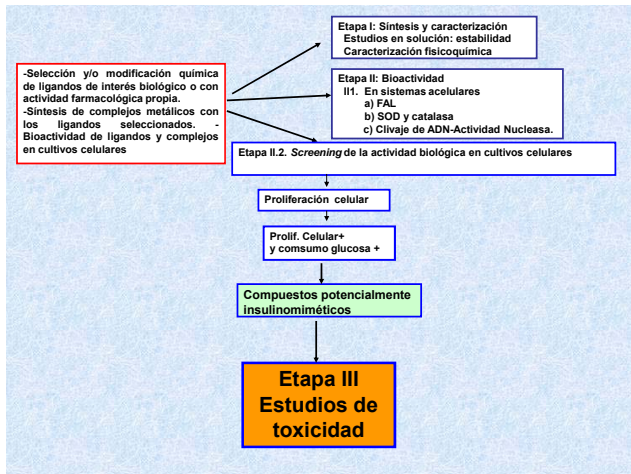
## PROLIFERACIÓN CELULAR

### Osteoblastos



Barrio DA, Williams PAM, Cortizo AM, Etcheverry SB. *J Biol Inorg Chem.* 8: 459-469, 2003.



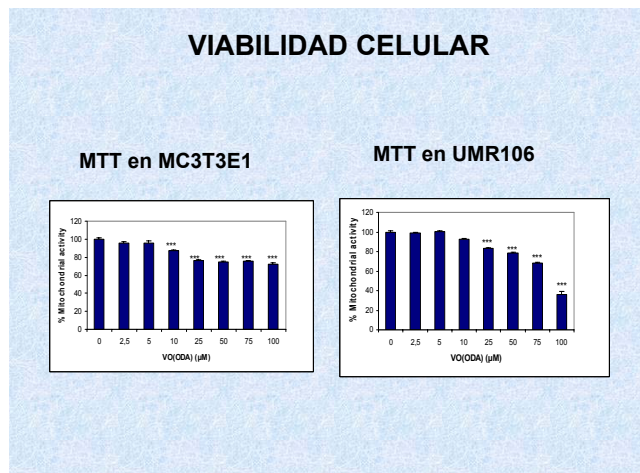


## ESTUDIOS DE TOXICIDAD

- Viabilidad celular
- Alteraciones de la morfología celular
- Alteraciones del citoesqueleto

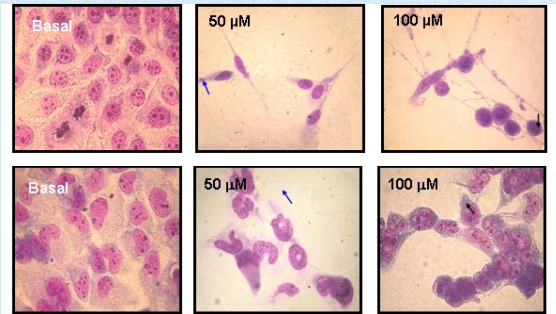
## Viabilidad celular

- Ensayo del cristal violeta
- Ensayo del Rojo Neutro
- Ensayo del MTT



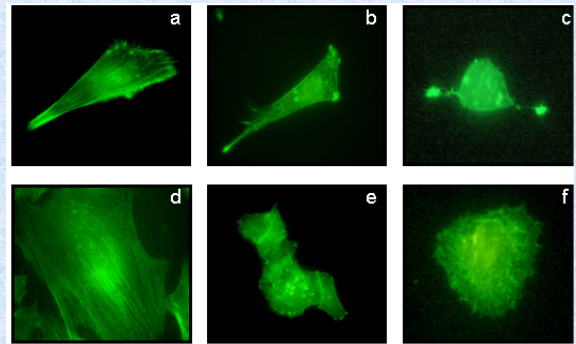


**Efectos de compuestos de vanadio sobre la morfología celular**

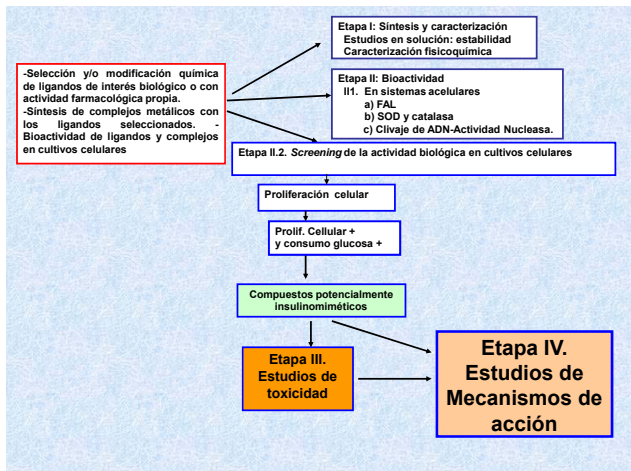


Rivadeneira J, Di Virgilio AL, Barrio DA, Muglia CI, Bruzzone L, Etcheverry SB. *Med Chem* (En prensa, 2009).

**Efectos de compuestos de vanadio sobre el citoesqueleto**

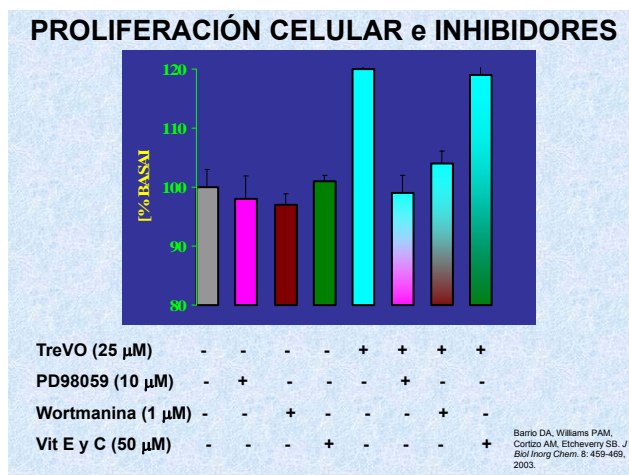
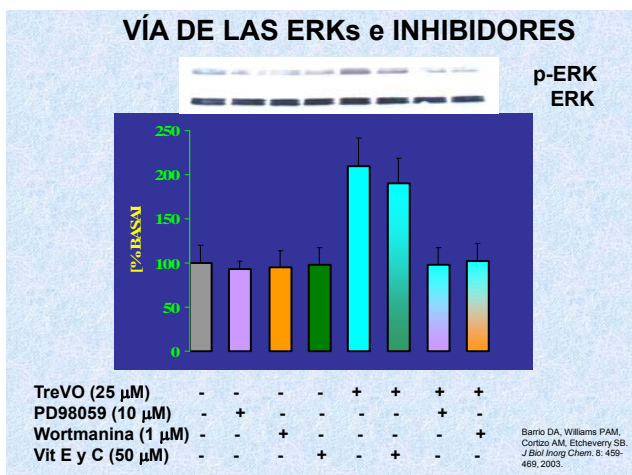
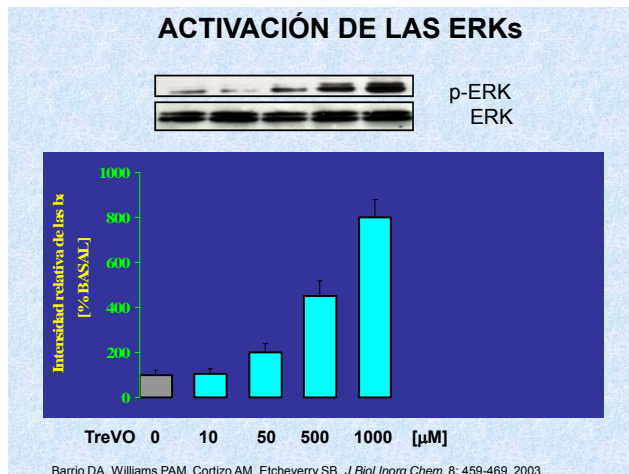
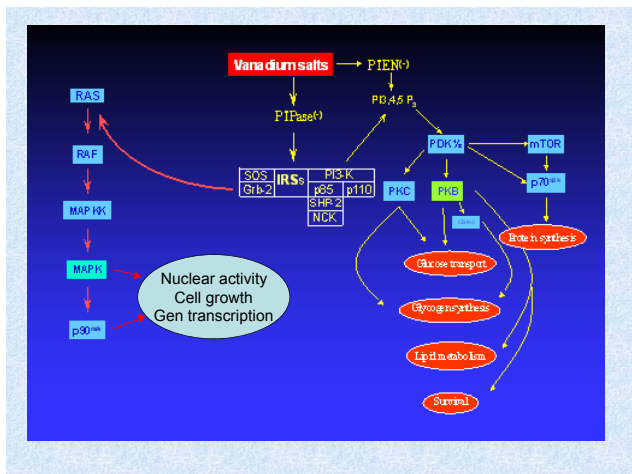


Rivadeneira J, Di Virgilio AL, Barrio DA, Muglia CI, Bruzzone L, Etcheverry SB. *Med Chem* (En prensa, 2009).

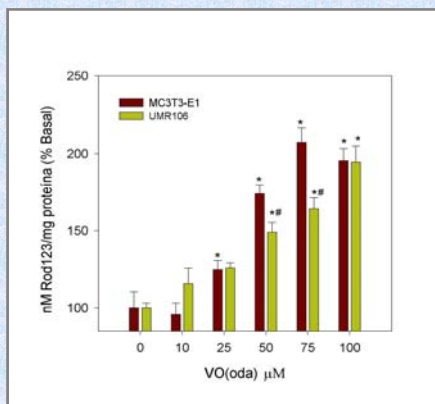


**MECANISMOS DE ACCIÓN**

- Activación de la vía de las ERKs
- Estrés oxidativo y status redox celular
- Apoptosis



## ESTRÉS OXIDATIVO



Rivadeneira J, Di Virgilio AL, Barrio DA, Maglia CI, Bruzzone L, Etcheverry SB. *Med Chem (En prensa, 2009)*.

## APOPTOSIS y NECROSIS CELULAR



Molinuelo MS, Barrio DA, Cortizo AM, Etcheverry SB. *Cancer Chemother Pharmacol* 53: 163-172, 2004.

## Conclusiones de los estudios en cultivos celulares

Mediante un modelo sencillo de células en cultivo es posible determinar para una serie de compuestos químicamente relacionados aquellos que presentan potencialmente mejores propiedades insulino-miméticas y menor toxicidad

Los modelos de células en cultivo son muy útiles para evaluar los posibles mecanismos de acción utilizando inhibidores específicos de las vías de transducción de señales

Principales mecanismos de acción para los efectos insulino-miméticos de los compuestos de vanadio *in vitro*

- ❖ Semejanza química y estructural entre los aniones fosfato y vanadato
- ❖ Flexibilidad de las estructuras tridimensionales de vanadio unido a proteínas

*Permite adoptar el estado de bipirámide trigonal del sitio activo de los complejos enzima-sustrato y favorecer o inhibir ciertas reacciones enzimáticas*

### Principales mecanismos de acción para los efectos insulino-miméticos de los compuestos de vanadio *in vitro*

Algunos compuestos de vanadio promueven la estimulación directa del receptor de Insulina promoviendo la fosforilación del sustrato de ese receptor y disparando la cascada de transducción de señales de la hormona

Otros compuestos de vanadio producen la estimulación de las vías de la insulina en puntos alejados del receptor, promoviendo la fosforilación de kinasas citosólicas

Otro mecanismo de acción bien comprobado es la inhibición de las tirosina-fosfatasas lo que permite tener un alto nivel de fosforilación de las kinasas de las vías de transducción de señales y desencadenar los procesos biológicos de la insulina.

### ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE COMPUESTOS DE VANADIO *IN VIVO*

❖ En animales de laboratorio

❖ En pacientes diabéticos

### ESTUDIOS EN MODELOS ANIMALES DE DIABETES MELLITUS

#### Modelo para Diabetes mellitus tipo 2



Ratas obesas Zucker



**Ratas Wistar**



**Mus musculus o ratón doméstico**

House Mouse



**Ratones ob/ob y db/db**



**Modelo para Diabetes mellitus tipo 1**

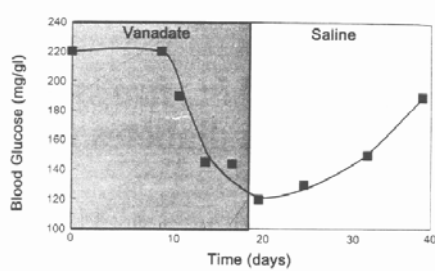


**Ratas tratadas con STZ**



**EFFECTOS DEL VANADATO EN MODELOS DE DIABETES TIPO 2 (ratas ob/ob, db/db y fa/fa)**

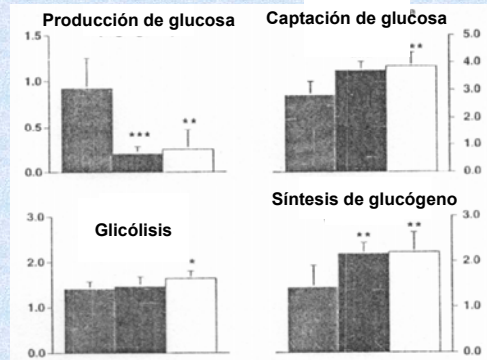
Dosis; 0,25 mg/ml en el agua de bebida



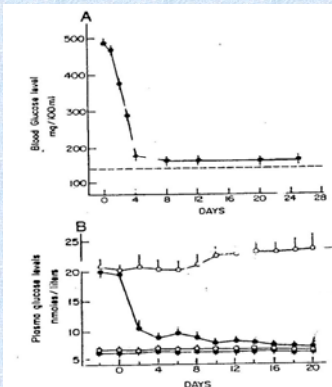
Se restauró la euglucemia en el estado de alimentación, mejoró el TTOG y la fase temprana de la secreción de Insulina

Goldfine et al 1995 Mol cell Biochem 153: 217 - 231

**EFFECTOS DEL VANADATO SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA EN RATAS DIABÉTICAS**



**Regulación de la glucemia por vanadato en ratas diabéticas**



Ratas STZ

Ratas ob/ob

**VANADATO Y ACTIVIDAD PTPasa ASOCIADA A MEMBRANAS EN RATAS TRATADAS CON STZ**

Dosis: 0,6 mg/ml en agua de bebida

Ins: 14 U/día

Tratamiento: 5 días

Resultado: mejoró la glucemia entre el 3 y 4 día

Se revirtió el estado catabólico causado por la diabetes

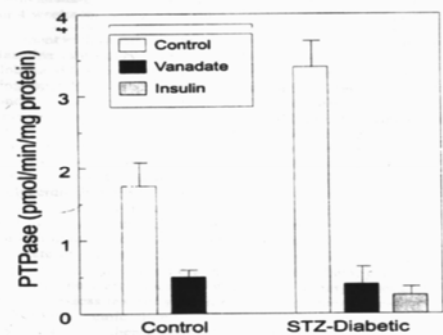
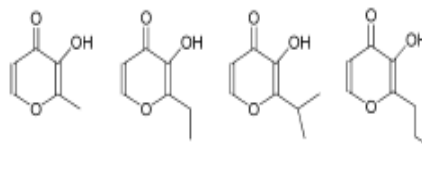


Fig. 5. Effect of vanadate on particulate PTPase activity in STZ-diabetic rats.

Goldfine et al 1995 Mol cell Biochem 153: 217 - 231

## VANADIO vs VANADATO

### FAMILIA DE LIGANDOS 2-ALQUIL-3-HIDROXI-4-PIRONAS



Maltol Etilmaltol Isopropilmaltol Butilmaltol

### FAMILIA 2-ALQUIL- 3-HIDROXI-4-PIRONA

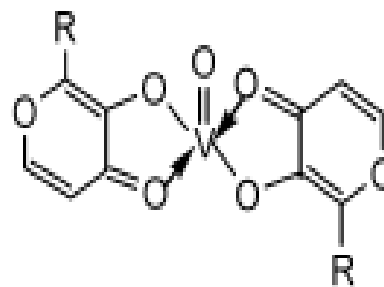
Son compuestos versátiles y efectivos como ligandos

Aumentan la absorción y biodisponibilidad de iones metálicos

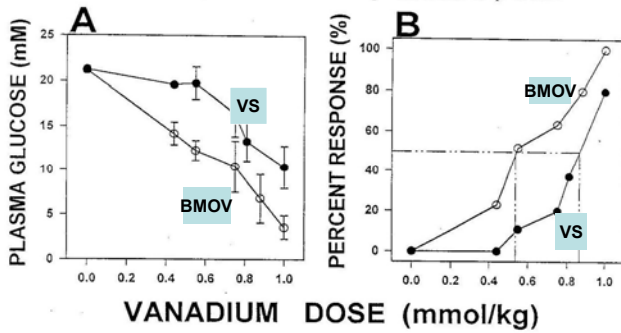
Las 3-hidroxi-4-pironas se desprotonan fácilmente a pH fisiológico y forman complejos neutros termodinámicamente estables

Son compuestos no tóxicos

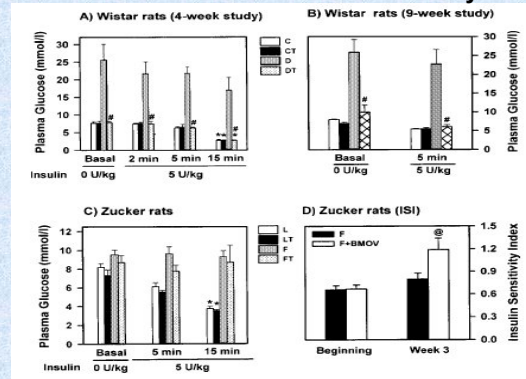
### COMPLEJOS CON VANADIO(IV)



**BMOV y VS por vía oral en STZ ratas**



**Efectos de BMOV sobre la glucemia y la sensibilidad a la insulina en ratas diabéticas STZ y Zucker**

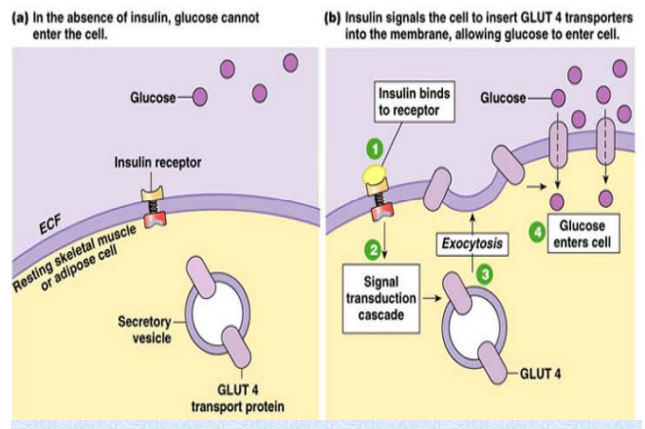


Marzban L et al Mol Cell Biochem 223: 147-157, 2001

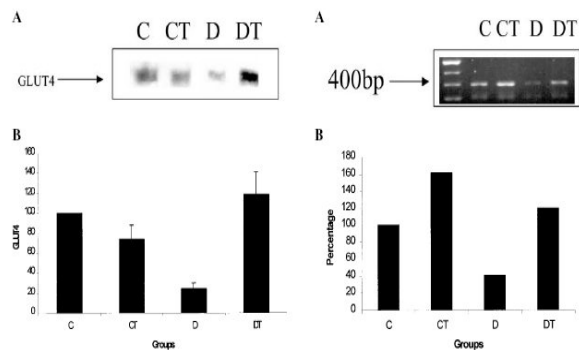
**TRANSPORTADOR DE GLUCOSA tipo 4**

GLUT4 es una proteína transportadora de **glucosa** regulada por la **insulina**, que se localiza en los **adipocitos**, el **músculo esquelético** y el **cardíaco**.

En condición basal, el 90-95% de GLUT4 se encuentra en el citoplasma, compactado en pequeñas vesículas. Tras el estímulo con insulina, GLUT4 se transloca a la membrana plasmática favoreciendo el movimiento de glucosa desde la sangre al interior de los tejidos



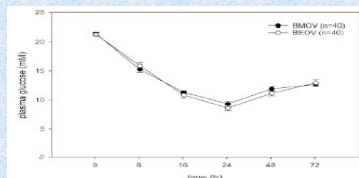
### BMOV aumenta la expresión de GLUT 4 en membrana de músculo esquelético de ratas Wistar tratadas con STZ



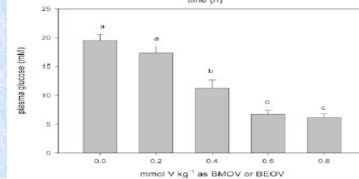
Mohammad A et al, Mol cel Biochem 233: 139-243, 2002

### BMOV y de BEOV regulan la glucemia en ratas tratadas con STZ

En función del tiempo

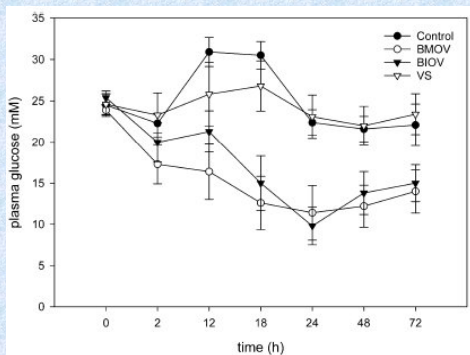


Efecto de la dosis



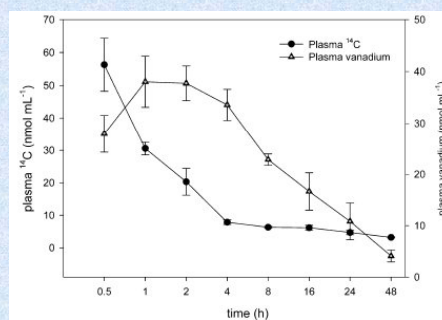
Thompson KH et al, J Biol Inorg Chem8: 66-74, 2003

### Efectos de VS, BMOV y BION sobre la glucemia Administración intraperitoneal en ratas- STZ



Thompson KH et al, J Biol Inorg Chem8: 66-74, 2003

### Niveles de vanadio y clearance plasmático de BEOV en ratas tratadas con STZ

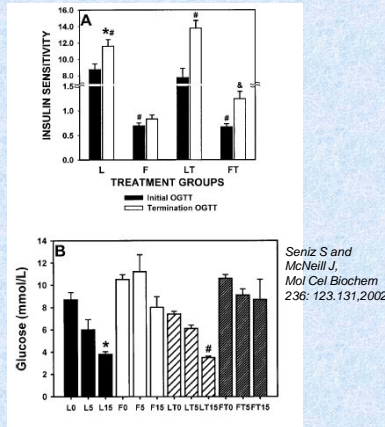


Thompson KH et al, J Biol Inorg Chem8: 66-74, 2003

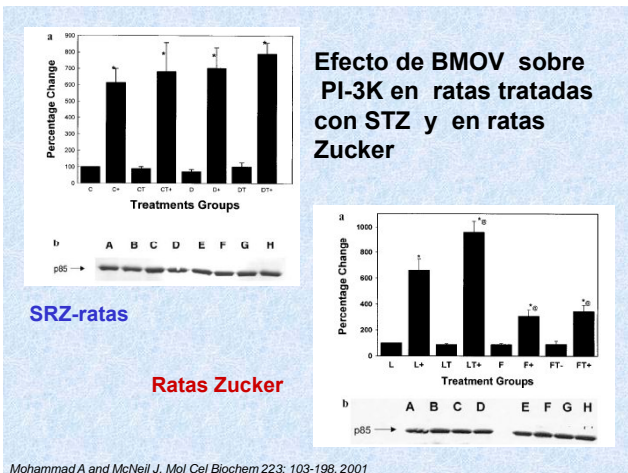
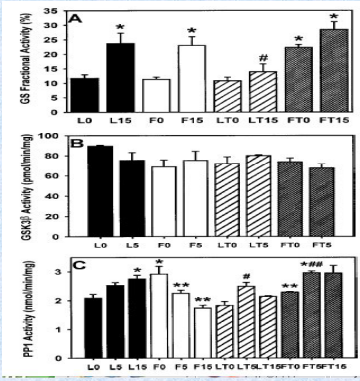
**BMOV mejora la glucemia en ratas Zucker por vía oral**

L: delgadas  
 LT: tratadas con V  
 F: obesas  
 FT: tratadas con V

L: Delgadas  
 LT: delgadas tratadas con V  
 o: antes de inyectar Ins  
 5: 5 min después de Ins  
 15: 15 min después de Ins  
 F: obesas  
 FT: tratadas con V



**BMOV estimula la síntesis de glucógeno en músculo esquelético de ratas Zucker**

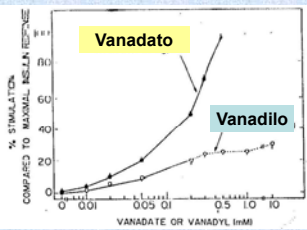


**EFFECTOS DEL VANADATO EN EL METABOLISMO LIPÍDICO**

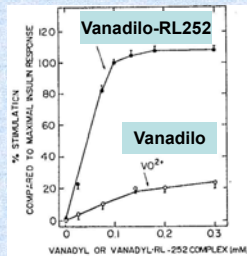
Estimula la lipogénesis  
 Disminuye los niveles de colesterol



### EFFECTOS DEL VANADATO Y DEL VANADILO SOBRE LA LIPOGÉNESIS



**% de la estimulación máxima producida por la insulina en adipocitos de rata**



Shechter Y et al, Biochemistry 31; 2063-2058, 1992

### EFFECTO HIPOCOLESTEROLÉMICO DEL VANADATO EN PACIENTES DIABÉTICOS

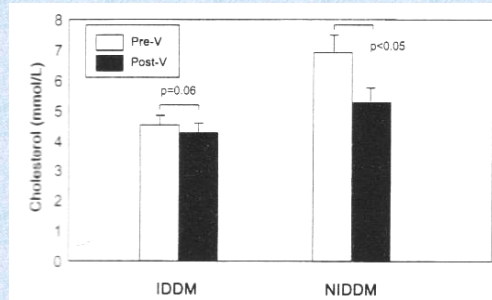
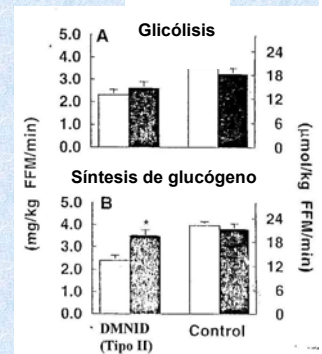
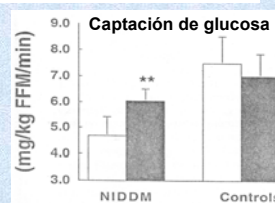
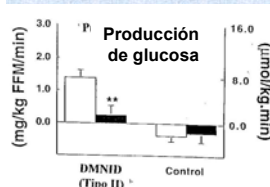


Fig 12. Serum cholesterol levels before and after treatment with sodium metavanadate

Goldfine et al 1995 Mol cell Biochem 153: 217 - 231

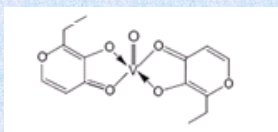
### EFFECTOS DE COMPUESTOS DE VANADIO EN PACIENTES DIABÉTICOS

### EFFECTOS DEL VANADATO EN DIABÉTICOS tipo 2

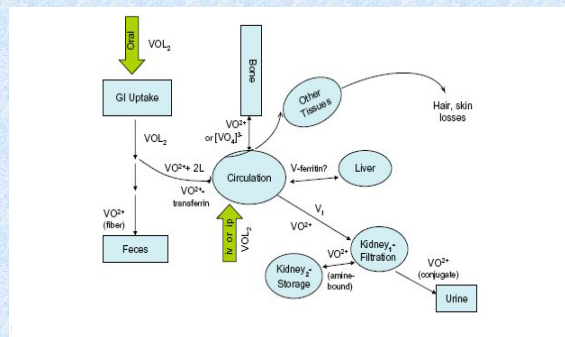


Goldfine et al 1995 Mol cell Biochem 153: 217 - 231

## ESTUDIOS CLÍNICOS CON BEOV



## Esquema de la absorción, distribución, metabolismo y excreción de compuestos VOL2



Thompson KH et al, J Inorg Biochem, 103: 554-558, 2009

### Fase I de la prueba clínica de BEOV

Medeva, Lts, (Manchester, UK)

**A**

Seguridad y tolerabilidad de dosis únicas en aumento:

10 mg, 25 mg, 35 mg, 60 mg y 90 mg de BEOV se administraron a 40 voluntarios sanos

Se incluyó comparación con VS a niveles comparables de ingesta de V (8,9 mg de V y 10 mg de V respect.).

**Mostró mayor captación y permanencia del V quelado como pro-droga**

Thompson KH et al, J Inorg Biochem, 103: 554-558, 2009

### Fase I de la prueba clínica de BEOV

**B**

Se compararon los efectos de BEOV en: individuos controles luego de una noche de ayuno individuos después de un desayuno estándar (los mismos voluntarios anteriores un día después)

**La misma dosis oral de 75 mg de BEOV (11 mg de V) produjo resultados muy diferentes!**

**Los individuos en ayunas absorbieron 13 veces más que los alimentados, con menores tiempos para la máx concentración**

**Funciones renal, hepática y gastrointestinal así como las concentraciones de hemoglobina y de bilirrubina fueron normales durante el estudio**

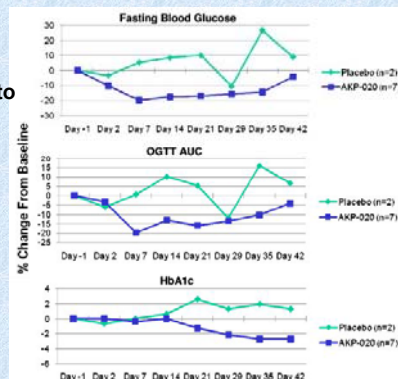
### Conclusiones de la fase I de la prueba clínica de BEOV

La biodisponibilidad total de vanadio a partir de BEOV fue tres veces superior a la de la de VOSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, evaluada por medio de un modelo farmacocinético estándar

Thompson KH et al, J Inorg Biochem, 103: 554-558, 2009

### Status glucémico por administración oral de BEOV (AKP 020) en diabéticos tipo 2

Tratamiento: 28 días  
Dosis diaria: 20 mg  
14 días de seguimiento post-tratamiento  
7 pacientes:  
2 placebo  
5: BEOV  
Estudio: single-ciego



Thompson KH et al, J Inorg Biochem, 103: 554-558, 2009

### Conclusiones de la fase 2 de BEOV

El tratamiento con una dosis diaria segura y tolerable (20 mg por vía oral) de BEOV produjo:

Disminución de la glucemia en ayunas, en el área bajo la curva del test de tolerancia oral a la glucosa y de los niveles de hemoglobina glicosilada

En los individuos con placebo esos mismos parámetros empeoraron durante el tiempo del estudio

Thompson KH et al, J Inorg Biochem, 103: 554-558, 2009

### Conclusiones de la fase 2 de la prueba clínica de BEOV

El mecanismo de acción es multifactorial  
El transportador sérico más probable de los iones de vanadio es la transferrina

BEOV fue evaluado farmacocinéticamente y ha concluído las fases I y IIa de las pruebas clínicas

*Los compuestos de vanadio están en el umbral de convertirse en otros compuestos prácticos como hipoglucemiantes orales*

