

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL - 2022

Titlul proiectului: Conceperea și sinteza unor compuși noi ai vanadiului pentru terapia diabetului; evaluarea preclinică într-un model experimental de diabet (DIAVAN)

Contract PN-III-P1-1.1-PD-2019-0247

Nr. PD 18/2020 (01.09.2020 – 31.08.2022)

Scopul proiectului **DIAVAN** este de a proiecta și sintetiza noi compuși pe bază de vanadiu ca medicamente insulino-mimetice și anti-diabetice potente.

Obiectivele proiectului **DIAVAN** sunt:

(OB 1) Proiectarea, sinteza și caracterizarea de noi compuși ai vanadiului cu bază Schiff derivată de la aminoacizi;

(OB 2) Evaluarea potențialului noilor compuși ai vanadiului de a inversa rezistența la insulină indusă în hepatocite umane în cultură;

(OB 3) Studiul efectelor anti-diabetice ale noilor compuși ai vanadiului într-un model preclinic de șoarece cu diabet de tip 2 și rezistență la insulină.

Indicatori de realizare: În cadrul proiectului DIAVAN au fost îndepliniți toți indicatorii de realizare propuși, astfel:

✚ Pentru **OB 1**, care a fost implementat în **etapa 1 (septembrie – decembrie 2020)** a proiectului, au fost sintetizate 3 noi combinații complexe ale vanadiului prin coordonarea bazei Schiff derivate de la aminoacidul valină și diferiți derivați de benzaldehidă (*o*-vanilină, salicilaldehidă) la centrul de vanadiu. Compușii au fost caracterizați fizico-chimic prin metode cristalografice și spectroscopice și li s-a determinat capacitatea de a se lega de proteinele serice și stabilitatea în medii biologice.

✚ Pentru **OB 2**, implementat în **etapa 2 (ianuarie – decembrie 2021)**, s-a evaluat toxicitatea noilor compuși ai vanadiului asupra liniei de hepatocite umane (HepG2) în cultură și efectul lor terapeutic. Doi dintre noii compuși dezvoltați prezintă activitate insulino-mimetică și de reversare a rezistenței la insulină. Aceste proprietăți au fost evidențiate prin cuantificarea moleculelor implicate în semnalizarea insulinei, glicoliză și metabolismul lipidic, folosind tehnici imunologice și colorimetrice.

✚ Pentru **OB 3**, implementat în **etapa 3 (ianuarie – august 2022)**, s-a determinat *in vivo* activitatea anti-diabetică a celui mai potent insulino-mimetic, stabilit în OB 2, prin utilizarea modelului de șoarece cu diabet de tip 2 și rezistență la insulină (IR-T2DM). Pentru aceasta s-au măsurat nivelurile de glucoză, insulină, lipide, markeri hepatici și renali din sânge și/sau urină și conținutul de lipide din ficat, folosind tehnici imunologice, colorimetrice și de microscopie.

✚ Diseminarea rezultatelor s-a făcut prin pagina web a proiectului (http://www.icbp.ro/static/en/en-networking_grants-grants-national_grants/diavan.html), prin publicarea, în calitate de prim-autor, a trei lucrări în reviste indexate ISI (factor de impact mai mare de 4.76) și prin prezentarea sub formă de postere la 4 conferințe internaționale/naționale.

Rezultatele obținute în proiectul DIAVAN și impactul estimat:

✚ În cadrul proiectului DIAVAN au fost sintetizate și caracterizate structural și spectral 3 noi combinații complexe ale oxidovanadiului(V) cu baze Schiff provenite de la aminoacidul valină (val) și derivați ai benzaldehydei (salicilaldehidă = sal și *o*-vanilină = van); [$\{V^{VO}(R\text{-salval})(H_2O)\}(\mu_2\text{-O})\{V^{VO}(R\text{-salval})\}$] (**1a**), [$\{V^{VO}(R\text{-vanval})(CH_3OH)\}_2(\mu_2\text{-O})$] (**2a**) și [$V^{VO}(\text{vanval})(CH_3O)_4$] (**3a**).

✚ Experimentele realizate *in vitro* au reliefat următoarele:

(1) cele 3 combinații complexe nou sintetizate sunt stabile în mediile biologice și au o capacitate crescută de legare la albumina serică bovină;

(2) combinațiile complexe dinucleare ale oxidovanadiului(V) (**1a**, **2a**) sunt citocompatibile cu hepatocitele din linia HepG2 la concentrații de aproximativ 100 μM , pe când compusul tetranuclear (**3a**) este citotoxic având un $IC_{50} \approx 6 \mu\text{M}$;

(3) la concentrațiile non-citotoxice, combinațiile complexe dinucleare **1a**, **2a** prezintă efecte insulino-mimetice, evidențiate prin reducerea activității totale a PTP și creșterea fosforilării INS R, AKT și ERK în celulele HepG2;

(4) insulino-mimeticul **2a** crește răspunsul celulelor HepG2 rezistente la insulină (IR) la acțiunea hormonului insulină față de compusul **1a** sau medicamentul anti-diabetic metformină, evidențiat prin: creșterea preluării glucozei, amplificarea sintezei glicogenului și reducerea nivelurilor de lipide (trigliceride și colesterol) acumulate în celule;

(5) mecanismul prin care compusul **2a** reversează IR în celulele HepG2 implică: inhibarea expresiei PTP-1B, fosforilarea/ activarea INS R și a mesagerilor secundari precum AKT, ERK, diminuarea nivelurilor proteinelor implicate în homeostazia glucozei (G-6-Pase), metabolismul glicogenului (GSK3) și sinteza lipidelor (FAS și HMGCR) și prin creșterea nivelurilor GLUT4.

✚ Studiile preclinice, care au utilizat șoarecii C57BL/6j, au arătat următoarele:

(1) insulino-mimeticul **2a** nu induce toxicitate șoarecilor la dozele testate (3.75, 7.5 și 15 mg/Kg corp șoarece);

(2) **2a** este rapid preluat de către țesuturi și organe, cu precădere de rinichi și ficat;

(3) **2a** are efecte anti-diabetice și de reversare a rezistenței la insulină, evidențiate pe modelul de șoarece cu diabet de tip 2 și rezistență la insulină, prin: reducerea nivelurilor de glucoză circulantă și excretată, normalizarea indicelui HOMA-IR, îmbunătățirea nivelurilor markerilor hepatici și renali, scăderea nivelurilor de lipide circulante și acumulate la nivel hepatic, depozitarea glucozei sub forma de glicogen și reducerea fibrozei hepatice induse de diabet.

Acest proiect inovator combină sinteza de noi compuși ai vanadiului și investigarea preclinică a potențialului lor anti-diabetic, pentru a dezvolta o nouă strategie terapeutică pentru tratamentul T2DM.

Diseminare rezultate

Publicații în reviste ISI

1. **Turtoi M**, Anghelache M, Patrascu AA, Deleanu M, Voicu G, Raduca M, Safciuc F, Manduteanu I, Calin M, Popescu D-L. Antitumor Properties of a New Macrocyclic Tetranuclear Oxidovanadium(V) Complex with 3-Methoxysalicylidenvaline Ligand. *Biomedicines*. 2022; 10(6):1217. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061217>. **IF 4,757**.
2. **Turtoi M**, Anghelache M, Patrascu AA, Maxim C, Manduteanu I, Calin M, Popescu DL. Synthesis, Characterization, and In Vitro Insulin-Mimetic Activity Evaluation of Valine Schiff Base Coordination Compounds of Oxidovanadium(V). *Biomedicines* 2021; 9(5):562. doi:10.3390/biomedicines9050562. **IF 4,757**.
3. **Turtoi M**, Anghelache M, Bucatariu SM, Deleanu M, Voicu G, Safciuc F, Manduteanu I, Fundueanu G, Simionescu M, Calin M. A novel platform for drug testing: Biomimetic three-dimensional hyaluronic acid-based scaffold seeded with human hepatocarcinoma cells. *Int J Biol Macromol*. 2021; 185:604-619. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.174. **IF 8,025**.

Participări la conferințe internaționale/ naționale - Postere

1. **Turtoi M**, Anghelache M, Deleanu M, Voicu G, Safciuc F, Patrascu A-A, Popescu D-L, Calin M. Designing and antitumor activity of a new vanadium-based compound. A 19-a Conferință Internațională de Nanoștiințe și Nanotehnologii (NN22), 5-8 iulie 2022, Salonic, Grecia (participare online).
2. **Turtoi M**, Anghelache M, Patrascu A-A, Maxim C, Popescu D-L, Manduteanu I, Calin M. Designing of New Biocompatible Coordinating Compounds of Oxidovanadium(V) As Insulin Mimetics. A 18-a Conferință Internațională de Nanoștiințe și Nanotehnologii (NN21), 6-9 iulie 2021, Salonic, Grecia.
3. **Turtoi M**, Anghelache M, Popescu D-L, Manduteanu I, Calin M. Design of new oxidovanadium(V) compounds as insulin-mimetics. Al 42-lea Simpozion Aniversar al Institutului de Biologie și Patologie Celulară „Nicolae Simionescu” și a 37-a Sesiune Științifică Anuală a Societății Române de Biologie Celulară, 4-6 noiembrie 2021 (sesiune online).
4. Petcuța O, Bordeiașu M, Madalan A.M, **Cărnută (Turtoi) M**, Popescu D-L. Synthesis and characterization of new dinuclear oxovanadium(V) compounds. A 3-a Conferință Internațională privind Tehnologiile Emergente în Ingineria Materialelor (EMERGEMAT), 29-30 octombrie 2020, București, România.