



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Secretaría de Investigación y Posgrado

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

Preparation of nanocomposites with insulin-like activity for Diabetes Mellitus in the context of Nanomedicine

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

Doctorado en Ciencias en Biotecnología

CVU VEERA CHANDRA: 720007

CVU GUILLERMO OSORIO :122865

P R E S E N T A:

→ M. en C. Veera Chandra Sekhar Reddy Chittepu

CVU Raúl René 50968

DIRECTORES:

Dr. Guillermo I. Osorio Revilla

Dr. Raúl René Robles de la Torre



México, D. F.

Diciembre 2019.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease and a significant health problem in Mexico. Insulin and glucose reducing agents such as sitagliptin and metformin are recommended therapies to control DM. Hypoglycemia, weight gain, and risk of cancer are adverse effects associated with insulin therapy. In addition to this, rapid absorption, lipodystrophy, and the presence of pepsin-like proteins in all cell of the body, are factors affecting insulin therapy. Apart from this other glucose reducing agents have side effects like pancreatitis, gall-stone, and renal failure. The development of new technologies is needed to address some of the factors associated with the adverse effects of therapy. Recently, Nanotechnology offered many advantages in improving therapeutic efficacy in treating many chronic diseases by delivering therapeutics to the right cells. Till today, the potential use of carbon nanomaterials (single wall carbon nanotubes SWCNT) for the treatment of diabetes mellitus has not been explored. Based on above, in this study, nanocomposites possessing insulin-like activity were prepared to address some of the factors associated with insulin therapy and other glucose reducing agents that are in clinical use for the treatment of diabetes mellitus, using two different approaches.

In the first approach, a nanocomposite was prepared with the objective to protect insulin from pepsin like enzymes. For this, Insulin was bound non-covalently to PEGylated SWCNTs and was proved that in addition of the protection from pepsin, the nanocomposite possesses insulin-like activity which was demonstrated in a skeletal muscle cell model.

In the second approach, Insulin receptor modulators and DPP-4 inhibitors were discovered using bioinformatic approaches. The discovered modulators were bound to PEGylated SWCNTs and was proved that this new nanocomposite possessed insulin-like activity in skeletal muscle cell model. In addition to this, calmodulin modulating proteins from traditional Mexican plant Wereke roots were proven to modulate the human insulin receptor. This proteins induce gluconeogenesis by regulating glucose metabolism in kidney cells not being toxic to the cells. Also, Calmodulin modulating proteins reduced cancer cell proliferation. This demonstrates that Calmodulin modulating proteins from Mexican plants can be an alternative source of new protein therapeutics to treat diabetes mellitus.

RESUMEN

Diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica y un problema de salud significativo en México. Los agentes reductores de insulina y glucosa como la sitagliptina y la metformina son terapias recomendadas para controlar la DM. La hipoglucemia, el aumento de peso y el riesgo de cáncer son efectos adversos asociados con la terapia con insulina. Además de esto, la absorción rápida, la lipodistrofia y la presencia de proteínas similares a la pepsina en todos los tipos de células en el cuerpo humano, son factores que afectan la terapia con insulina. En adición a esto, los otros agentes reductores de glucosa, tienen efectos secundarios como pancreatitis, cálculos biliares e incluso falla renal. El desarrollo de nuevas tecnologías es necesario para abordar algunos de los factores asociados con los efectos adversos de la terapia. Recientemente, la nanotecnología ha ofrecido muchas ventajas para mejorar la eficacia terapéutica en el tratamiento de muchas enfermedades crónicas mediante la administración de productos terapéuticos directamente a las células adecuadas. Hasta el día de hoy, no se ha explorado el uso potencial de nanomateriales de carbono (nanotubos de carbón de pared sencilla, SWCNT por sus siglas en inglés) para el tratamiento de la diabetes mellitus. En este estudio, se prepararon nanocompuestos que poseen actividad similar a la insulina para abordar algunos de los efectos adversos asociados tanto con la terapia con insulina como con otros agentes reductores de glucosa que se usan clínicamente para tratar la diabetes mellitus, utilizando dos enfoques.

En primero de ellos, un nanocompuesto se preparó con el objetivo de proteger a la insulina de las enzimas similares a la pepsina. Para esto, insulina fue ligada de manera no covalente a los SWCNT PEGilados, y se demostró, en un modelo de células del músculo esquelético, que además de la protección a la pepsina, poseen actividad similar a la insulina.

En segundo enfoque, moduladores del receptor de insulina e inhibidores de DPP-4 fueron descubiertos utilizando técnicas bioinformáticas. Los moduladores descubiertos fueron enlazados de forma no covalente a SWCNT PEGilados y se demostró, en células del músculo esquelético, que poseen actividad similar a la insulina. Adicionalmente, proteínas moduladoras de calmodulina extraídas de la raíz de una planta tradicional mexicana, Wereke, demostraron que modulan el receptor de insulina humana, además, de inducir la gluconeogénesis al regular el metabolismo de la glucosa en células renales sin ser tóxicas para ésta y poseer propiedades para reducir la proliferación de células cancerosas. Esto demuestra que las proteínas moduladoras de calmodulina extraídas de plantas tradicionales mexicanas, pueden ser una fuente alternativa de proteínas terapéuticas para tratar la diabetes mellitus.