



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Dipeptidil peptidasa IV: inhibidores y sus potenciales aplicaciones biomédicas

Dipeptidil peptidase IV: inhibitors and potentials biomedical applications

Yarini Manuel Arrebola Sánchez^a Lisset Díaz Guevara^b, Gabriela García Rodríguez^b
e Ise Pascual Alonso^{b*}

^a Instituto Nacional de Gastroenterología.
La Habana, Cuba.

^b Centro de Estudios de Proteínas.
Facultad de Biología, Universidad de la
Habana

* Autor para correspondencia:
isel@fbio.uh.cu

INTRODUCCIÓN

La proteólisis es un proceso esencial en los organismos que está íntimamente relacionado con el recambio proteico. Las proteasas están además involucradas directa o indirectamente en procesos fisiológicos claves como el crecimiento, la diferenciación celular, la apoptosis, la nutrición y la migración celular entre otros (Leung, *et al.* 2000; Abbenante y Fairlie, 2005). Dada su versatilidad y ubicuidad, también se encuentran directamente relacionadas con eventos fisiopatológicos por ejemplo el desarrollo del cáncer, desórdenes neurodegenerativos, respiratorios y cardiovasculares, así como en infecciones parasitarias, virales y fúngicas (Leung, *et al.* 2000; Abbenante y Fairlie, 2005; Turk 2006; Kaman, *et al.* 2014; de Veer, *et al.* 2014).

Un sistema involucrado en funciones de tal importancia, requiere de contrapartes reguladoras sumamente efectivas: los inhibidores de proteasas. La función fisiológica de dichas moléculas radica en su capacidad de impedir la proteólisis en sitios donde no es requerida o su regulación en caso que la proteólisis parcial constituya en sí misma un evento fisiológico (Leung, *et al.* 2000; Abbenante y Fairlie, 2005; Turk, 2006).

Uno de los mayores incentivos en el descubrimiento de las redes reguladoras de las proteasas radica en el hecho de que el control de su actividad enzimática constituye un principio válido desde el punto de vista farmacológico. Por lo general, cuando se logra esclarecer los mecanismos bioquímicos subyacentes en las enfermedades, es posible identificar al menos una proteasa como posible blanco terapéutico. De esta forma, los inhibidores de proteasas han emergido con utilidades prácticas indiscutibles (Hugli, 1996; Leung, *et al.* 2000; Abbenante y Fairlie, 2005; Turk, 2006). Basta citar algunos ejemplos notorios como el tratamiento del SIDA, el cáncer, la inflamación, las enfermedades cardiovasculares, respiratorias, y desórdenes neurodegenerativos co-

Recibido: 2014-03-20

Aceptado: 2014-07-11

mo la enfermedad de Alzheimer o metabólicos como la Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Leung, *et al.* 2000; Turk, 2006).

Existen seis clases catalíticas de peptidasas reconocidas hasta el presente: serino, cisteíno, metalo, aspártico, treonino y glutámico (Tyndall, *et al.* 2005; Rawlings, *et al.* 2006). Dicha clasificación se basa en un criterio funcional: la naturaleza del residuo catalítico más prominente del centro activo. Cada clase catalítica de las proteasas tiene su arreglo característico de aminoácidos funcionales que le da una configuración particular al sitio catalítico. Las proteasas de tipo serino (PS) constituyen el grupo de peptidasas mejor conocida como resultado de su examen exhaustivo en los últimos 50 años a partir de técnicas cinéticas, químicas, físicas y genéticas.

La enzima Dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV, EC 3.4.14.5), conocida también como CD26, es una PS que se expresa en la superficie celular y pertenece a la familia de las prolil-oligopeptidasas. Esta familia está conformada por 8 proteínas de la familia genética DP (dipeptidilpeptidasas): DPP-IV, FAP (proteína de activación de fibroblastos), DPP-2, DPP-8, DPP-9 y prolil oligopeptidasa (Abbott y Gorrell, 2002; Patel y Gbate, 2014) para las cuales se ha demostrado actividad enzimática y dos proteínas no enzimas, denominadas DPP-6 y DPP-10 (Yu, *et al.* 2010; Patel y Gbate, 2014). En particular, DPP-IV ha sido el miembro de esta familia mejor estudiado y caracterizado, destacándose por su ubicuidad (hígado, intestino, bazo, glándula adrenal, linfocitos, células, endoteliales) siendo el riñón el órgano donde se encuentra su mayor actividad específica (Augustynus, *et al.* 1999). Además, existe una isoforma soluble de esta enzima que se localiza en diferentes fluidos del organismo (Gorrell, 2006; Yu, *et al.* 2009; Yu, *et al.* 2010).

La enzima DPP-IV remueve selectivamente el dipéptido del extremo amino de péptidos que poseen prolina o alanina en la segunda posición. Existen varias citoquinas, factores de crecimiento y algunos neuropéptidos que presentan esta característica estructural, la que contribuye a su actividad biológica así como a su estabilidad frente a la degradación proteolítica inespecífica (Augustynus, *et al.* 1999; Gorrell, 2005; Yu, *et al.* 2010). Entre los sustratos naturales de la DPP-IV se encuentran hormonas de naturaleza peptídica que controlan el metabolismo en mamíferos como por ejemplo el péptido similar a glucagón 1 (GLP-1) y el péptido insulínótropo dependiente de glucosa

(GIP). Otros sustratos biológicos de DPP-IV son el polipéptido activador de la adenilato ciclasa (PACAP), el factor de crecimiento tipo insulina 1, el péptido YY, sustancia P, neuropéptido P, polipéptido liberador de gastrina y varias quimionas (Patel y Gbate, 2014). Todo esto indica que DPP-IV está involucrada en la regulación de otros mecanismos homeostáticos como la inflamación neurogénica, la presión arterial y el sistema inmunológico (Patel y Gbate, 2014). DPP-IV, además, es capaz de interactuar con numerosas proteínas, entre las que se encuentran la adenosil deaminasa (ADA), la proteína gp120 del VIH, la fibronectina, el colágeno, el receptor de quimoquinas CXCR4 y la tirosina-fosfatasa CD45 (Lambeir, *et al.* 1997), modulando funciones que son independientes de su actividad enzimática. En consecuencia, DPP-IV ha suscitado un gran interés por parte de la comunidad científica y cada año, un número creciente de publicaciones describe sus diversas propiedades y múltiples funciones, en campos que incluyen desde la endocrinología y neuroendocrinología hasta la inmunología y la oncología (Yu, *et al.* 2010; Duez, *et al.* 2012; Teramachi, *et al.* 2013; Janardhan y Sastry, 2014; Mikhail, 2014; Patel y Gbate, 2014; Zhao, *et al.* 2014).

Estructura de DPP-IV

La enzima DPP-IV humana es una glicoproteína de membrana de 110 kDa, 766 residuos de aminoácidos, que consiste de tres partes fundamentales: una región citoplasmática (residuos 1 al 6), una región de transmembrana (residuos del 7 al 28) y una extensa región extracelular que comprende los residuos 29 al 766. Esta región se caracteriza por la presencia de dos dominios muy bien definidos: a) un dominio catalítico que contiene a la triada Ser630-Asp708-His740 típica de las PS, que se caracteriza por un plegamiento del tipo α/β -hidrolasa (residuos 56 al 497) y que permite clasificarla como una ecto-enzima (enzimas con el centro activo hacia el exterior celular) y b) un dominio de tipo β -propela, formado por ocho hojas- β . DPP-IV se caracteriza por dos sitios o bolsillos de unión al sustrato (S1 y S2). El sitio S1 está formado por la triada catalítica, y está construido además por residuos altamente hidrofóbicos como la Tyr631, Val656, Trp659, Tyr662, Tyr666 y Val711, con cadenas laterales voluminosas en muchos casos, lo que determina que solo grupos del sustrato con cadena lateral pequeña como Pro, Ala o Gly, puedan acomodarse en el mismo. El sitio S2 involucra interacciones muy importantes con los residuos Glu205 y Glu206 y también la

Arg125. Además, existe una cavidad grande rodeada por los residuos Val 207, Ser209, Arg358 y Phe357 que extienden al subsitio S2. Solo algunos inhibidores descritos hasta el presente hacen contacto con este subsitio S2, el cual no es accesible a los sustratos conocidos para esta enzima. Para otros miembros de la familia, esta extensión del subsitio S2 no ha sido identificada por lo que el mismo constituye hoy en día blanco para el diseño de inhibidores más selectivos frente a DPP-IV respecto a otros miembros de la familia (Revisado en Patel y Ghate, 2014).

Funciones de la enzima DPP-IV y las potenciales aplicaciones biomédicas de su inhibición.

La DPP-IV es una enzima multifuncional ya que puede actuar como peptidasa de tipo serino lo cual ha sido extensamente estudiado, también puede actuar como receptor, como proteína coestimuladora, como molécula de adhesión a colágeno y fibronectina, e incluso estar involucrada en el fenómeno de apoptosis (Yu, *et al.* 2010; Patel y Ghate, 2014; Zhao, *et al.* 2014). Cada función en particular depende del tipo celular donde se expresa y las condiciones intra y extracelulares.

La función ancestral y primaria de DPP-IV a lo largo de toda la escala evolutiva, está relacionada con los procesos de nutrición celular y degradación de péptidos que contienen prolina en su estructura. Este es probablemente el papel que desempeña la enzima localizada en enterocitos, saliva y bilis (Gorrell, 2005).

Un gran número de proteínas y péptidos son sintetizados con prolina en la penúltima posición de su extremo amino lo cual confiere protección frente a degradación inespecífica y existe una evidencia creciente de que las dipeptidasas prolino-específicas desempeñan un papel importante en la regulación de las funciones de estas moléculas (Gorrell, 2005).

Se ha sugerido que DPP-IV es también capaz de degradar el colágeno, facilitando así el tráfico celular a través de la matriz extracelular. Por ejemplo, se ha informado que la DPP-IV es uno de los mediadores de la migración linfocitaria en el timo durante el proceso de maduración de estas células (Savino, *et al.* 1993). Además, se conoce que la DPP-IV posee actividad gelatinasa, lo cual es sólo posible cuando la enzima exhibe actividad endopeptidasa en adición a su actividad exopeptidasa. Esta actividad gelatinasa ha sido descrita en la proteasa homóloga de rata,

que es capaz de escindir el colágeno desnaturalizado pero no el nativo (Bermopohl, *et al.* 1998).

La enzima DPP-IV desempeña un papel importante en la diferenciación celular, probablemente impidiendo la conversión de las células en un fenotipo maligno. Estudios realizados con mutagénesis dirigida demuestran que esta función de la DPP-IV depende de su actividad catalítica (Wesley, *et al.* 1999; Yu, *et al.* 2010).

Entre los sustratos naturales de DPP-IV se encuentran el GLP-1 y el GIP, dos incretinas que se secretan en el duodeno, y el PACAP sintetizado en el hipotálamo (Drucker, 2007). El GLP-1 y el GIP tienen un papel importante en la homeostasia de la glucosa.

La hormona peptídica GLP-1 se produce en las células-L intestinales tanto a nivel del duodeno como del intestino distal, y es secretada en el período postprandial. Luego de la ingestión de carbohidratos, su concentración sérica puede elevarse hasta 6 veces su nivel basal (5-10 pmol/L), en dependencia del volumen de la ingesta. La secreción de esta incretina es bifásica: la fase inicial comienza a los pocos minutos y se extiende 60 minutos, mientras que la segunda fase se prolonga hasta los 120 minutos posteriores a la ingestión de alimentos (Elliott, *et al.* 1993).

Los ácidos grasos libres y las peptonas también pueden estimular la secreción de GLP-1, sin embargo, sólo el mecanismo de acción mediado por la glucosa y la fructosa ha sido dilucidado. Este proceso es similar al de secreción de insulina inducida por glucosa en las células- β pancreáticas. Inicialmente, la glucosa y la fructosa son transportados al interior de la célula-L a través del cotransportador Na^+ /Glucosa luminal y el transportador 5 de glucosa (GLUT-5), respectivamente (Larsen y Holst, 2005). El metabolismo de la glucosa conduce al cierre de canales de potasio, despolarización de la membrana y entrada de calcio, que finalmente conduce a la secreción de GLP-1 (Gribble, *et al.* 2003).

El GLP-1 tiene una vida media corta en plasma debido a su rápida degradación proteolítica por DPP-IV. Sólo un 15 % de la hormona secretada accede a la circulación sistémica (Combettes, 2006). Desde que se determinó que la enzima DPP-IV era responsable de más del 95 % de la degradación proteolítica del GLP-1, se despertó el interés en la inhibición específica de esta enzima como estrategia para combatir la DMT2 (Thoma, *et al.* 2003).

Los ratones transgénicos carentes de DPP-IV se encuentran protegidos de presentar hígado graso, así como de la obesidad inducida por dietas con alto contenido en grasa y la resistencia asociada a la insulina. Esta protección involucra la activación del receptor α activado- proliferador de peroxisomas (PPAR α), involucrado en la oxidación de ácidos grasos, y en la regulación negativa de la PUERE-1c (proteína de unión al elemento regulador de estero 1c), que está involucrada en la síntesis de lípidos (Conarello, *et al.* 2003). Este fenómeno pudiera estar determinado por la extensión de las vidas medias del GIP y el péptido vaso intestinal (VIP) en ausencia de la DPP-IV.

Adicionalmente, DPP-IV inclina el balance Th1/Th2 en células T hacia Th1 a través de la escisión de neuropéptidos y quimiosinas. Dos de los neuropéptidos que son inactivados por la DPP-IV, el VIP y el PACAP, incrementan la producción por células T CD4⁺ de las citoquinas Th2 IL4 e IL5 y del isotipo IgG1 de Th2. Además, estos neuropéptidos disminuyen la producción de citoquinas del patrón Th1 como IFN γ (interferón γ) e IL2 así como del isotipo IgG2a de Th1 (Delgado, *et al.* 1999). El efecto neto de la escisión de las quimiosinas, mediada por DPP-IV, parece favorecer la quimioatracción entre las células Th1 (Gorrell, *et al.* 2001). Los inhibidores de la DPP-IV reducen la proliferación de células T, la producción de citoquinas y la señalización *in vitro*. Una línea celular Jurkat que expresa el CD26 enzimáticamente inactivo en la superficie celular produce más IL2 que las células no transfectadas (Tanaka, *et al.* 1993). Más importante aún, la actividad co-estimuladora de CD26 se conserva en mutantes que carecen de la mayor parte del dominio hidrolasa (Huhn, *et al.* 2000). Estos datos indican que la actividad proteolítica no es un pre-requisito para las propiedades de activación de células T o de co-estimulación del CD26 *in vitro* (Yu, *et al.* 2010). Adicionalmente, la inhibición de DPP-IV influye sobre el sistema inmune por dos vías fundamentalmente: a) la inhibición de DPP-IV regula quimiosinas tales como el factor 1 derivado de células estromales y la interleucina 10 (IL-10), lo que resulta en efectos antiinflamatorios, b) la inhibición de DPP-IV promueve la secreción del factor de crecimiento transformante (TGF)- β , el cual es una citoquina anti-inflamatoria. Sobre la base de estos resultados se plantea hoy en día que DPP-IV es un nuevo blanco para el tratamiento de enfermedades autoinmunes (Zhao, *et al.* 2014).

La acumulación de pérdida o alteración de procesos regulatorios durante la carcinogénesis provoca varias

alteraciones celulares esenciales que determinan de manera conjunta la malignización: crecimiento celular autosuficiente; insensibilidad a señales inhibitorias del crecimiento; evasión de la muerte celular; potencial replicativo ilimitado; angiogénesis sostenida; invasión tisular y metástasis (Hanahan y Weinberg, 2000). La mayoría de estas alteraciones está asociada a trastornos en los circuitos de señalización celular, en muchos de los cuales están implicados oncogenes sobreexpresados o expresados constitutivamente, así como genes supresores de tumor expresados disminuida o nualmente. Sin embargo, la iniciación de la mayoría de estos circuitos se debe a señales derivadas de moléculas que pueden ser secretadas por el tumor o su microentorno. De esta manera, la regulación autocrina, paracrina y yuxtacrina, determinada por factores de crecimiento, citoquinas, hormonas y señales peptídicas, desempeña un papel rector durante la proliferación, la inhibición de la apoptosis, la angiogénesis, la invasión y la migración. La abundancia de estos ligandos, que depende directamente de la tasa de proteólisis extracelular, será un factor crucial durante la evolución del tumor (Carl-McGrath, *et al.* 2006). Se ha establecido que DPP-IV participa en la regulación del crecimiento y diferenciación mediados por péptidos, así como en la regulación de interacciones con la matriz extracelular (Wesley, *et al.* 2004).

La regulación de la proteólisis mediada por DPP-IV puede tener profundos efectos sobre la disponibilidad de factores de crecimiento o factores inhibidores del crecimiento en un microentorno dado (Iwata y Morimoto, 1999). Por estas razones, la pérdida o no de su expresión en diferentes tipos de cáncer y la expresión de ella o sus ligandos en células colindantes, resultan cruciales en los eventos de progresión y metástasis. La expresión de DPP-IV está disminuida en algunos melanomas, en algunos cánceres de pulmón, próstata y colon (Morrison, *et al.* 1993; Bogenrieder, *et al.* 1997), así como en el suero de pacientes con cáncer oral, gástrico, pancreático y de colon (Urade, *et al.* 1989; Cordero, *et al.* 2000; Haba-Rodríguez, *et al.* 2002). Una disminución progresiva se ha observado en adenocarcinoma de endometrio (Khin, *et al.* 2003). Por otro lado, la expresión de DPP-IV aumenta en ciertos cánceres de pulmón, próstata y ovario (Wilson, *et al.* 2000), carcinoma de tiroides (Kehlen, *et al.* 2003), carcinoma de células basales dérmicas (Pro y Dang, 2004), adenocarcinoma esofágico (Gosinsky, *et al.* 2008), leucemia crónica de células B (Bauvois, *et*

al. 1999; Cro, *et al.* 2009) y en ciertas patologías particularmente agresivas de células T (linfoma T-linfoblástico, leucemias T-linfoblásticas agudas y linfoma de células largas T-anaplásticas) (Yu, *et al.* 2010). Por lo tanto, en los últimos años, el desarrollo de inhibidores de DPP-IV ha sido una de las estrategias más importantes para su empleo como herramienta de estudios básicos de los mecanismos moleculares implicados en diferentes tipos de cáncer que sobreexpresan esta enzima (Yu, *et al.* 2010).

Inhibidores de la enzima DPP-IV: clasificación y principales aplicaciones biomédicas.

Debido a la participación directa de DPP-IV en diferentes patologías entre las que destacan la DMT2, cardiopatías, desórdenes del sistema inmune y diferentes tipos de cáncer, y la demostración de que la inhibición de esta enzima es una estrategia terapéutica promisorio, muchos han sido los esfuerzos de la comunidad científica enfocados al desarrollo de moléculas potentes y selectivas frente a esta enzima (Janardhan y Sastry, 2014). Dentro de las estrategias para el desarrollo de inhibidores de DPP-IV han estado incluidas la búsqueda de actividad inhibidora en diferentes fuentes naturales entre las que se encuentran extractos de plantas (Guasch, *et al.* 2012; Adolpho, *et al.* 2013), organismos marinos (Pascual *et al.* 2007), así como estrategias de preparación de hidrolizados enzimáticos de diferentes alimentos que se caracterización por presentar actividad hipoglicemian-

te para la detección de actividad inhibidora de DPP-IV en los mismos (Lacroix y Li-Chan, 2013; Velarde-Salcedo, *et al.* 2013; Gallego, *et al.* 2014; Power, *et al.* 2014). Recientemente, nuestro grupo ha informado la susceptibilidad de las enzimas porcina y de rata, frente a iones divalentes, entre ellos el zinc y el calcio con relevancia en la regulación fisiológica de esta enzima (Pascual, *et al.* 2011; Gómez, *et al.* 2013). La predicción de los sitios responsables de unión de estos iones, y la presencia de varios residuos del centro activo de la enzima involucrados en los mecanismos de inhibición, sugieren la potencialidad de diseñar nuevos inhibidores que combinen la especificidad de DPP-IV con su inhibición por zinc y calcio, como un nuevo grupo de potentes moléculas reguladoras de esta enzima.

Sin embargo, la estrategia más promisorio hasta el presente ha sido el diseño racional de inhibidores, basados en estudios de la relación estructura-función, algunos de los cuales han podido avanzar a ensayos clínicos, incluso ya cinco de ellos se encuentran actualmente en el mercado (Fig. 1, Tabla 1) (Duez, *et al.* 2012). Saxagliptin, Sitagliptin y Linagliptin tienen licencia para su comercialización en casi todos los países del mundo mientras que Vildagliptin tiene licencia en Europa y Latinoamérica y Alogliptin tiene licencia sólo en Japón y Estados Unidos (Patel y Ghate, 2014). Estos compuestos son todos más o menos similares en cuanto a su eficacia de inhibición de DPP-IV *in vitro*, según un estudio realizado con todos en condicio-

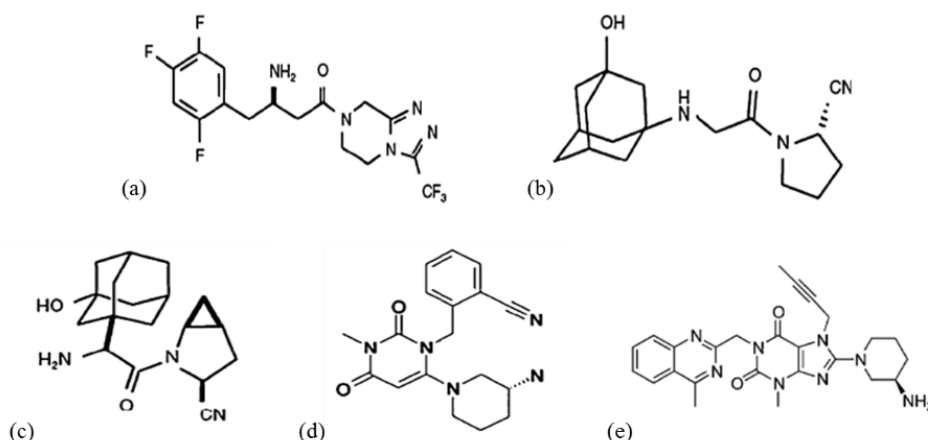


Figura 1. Inhibidores de DPP-IV disponibles en el mercado para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo II. (a) Sitagliptin. (b) Vildagliptin. (c) Saxagliptin. (d) Alogliptin. (e) Linagliptin (Adaptado de Duez *et al.*, 2012).

Figure 1. DPP-IV inhibitors available in the market for treatment of Diabetes Mellitus tipe II. (a) Sitagliptin. (b) Vildagliptin. (c) Saxagliptin. (d) Alogliptin. (e) Linagliptin (Adapted from Duez *et al.*, 2012).

Tabla 1. Resumen de algunas de las propiedades de los inhibidores de DPP-IV que se encuentran actualmente en el mercado para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2.

Table 1. Summary of some of the properties of DPP-IV inhibitors currently in the market for the treatment of diabetes mellitus type 2.

Inhibidor	Clasificación Química	$t_{1/2}$ (h) <i>in vivo</i>	Dosis	Vía de eliminación	Inhibición de DPP-IV <i>in vivo</i>	Selectividad respecto a la familia DPP-IV
Sitagliptin	triazolpiperazina	8-24	100 mg	renal	Máx 97 %, 80 % 24h postdosis	Alta
Vildagliptin	cianopirrolidina	1.5-4.5	50 mg	-	Máx 95 %, 80 % 12h postdosis	Moderada
Saxagliptin	cianopirrolidina	2-4	5 mg	renal	Máx 80 %, 70 % 24h postdosis	Moderada
Alogliptin	pirimidinediona modificada	12-21	25 mg	renal	Máx 90 %, 75 % 24h postdosis	Alta
Linagliptin	xantina	10-40	5 mg	biliar	Máx 80 %, 70 % 24h postdosis	Moderada

(Adaptado de Patel y Ghate, 2014)

nes idénticas de ensayo (Thomas, *et al.* 2008). Todos ellos han probado su eficacia a través de la prolongación del efecto incretina, reforzado por el aumento del $t_{1/2}$ del GIP y del GLP-1, lo cual estimula una mayor producción de insulina e induce mayor tolerancia a la glucosa. Todos son administrables por vía oral, son bien absorbidos y producen una significativa inhibición de DPP-IV aproximadamente al cabo de los 15 min de administración. Además, inhiben a la isoforma plasmática pero con diferentes valores de IC_{50} (1 nmol/L para el Linagliptin, 19 nmol/L para el Sitagliptin, 24 nmol/L para el Alogliptin, 50 nmol/L para el Saxagliptin, 62 nmol/L para el Vildagliptin) (Duez, *et al.* 2012).

Para todos estos inhibidores, las ventajas terapéuticas de su uso han sido avaladas por varios ensayos clínicos de fase III, donde se han empleado tanto en monoterapia como combinados a otros fármacos de uso comercial (Duez *et al.* 2012). Varias de sus propiedades se resumen en la Tabla 1.

Sitagliptin

Sitagliptin (Fig. 1a) es ampliamente selectivo frente a DPP-IV en relación con otros miembros de la familia como DP-8, DP-9 y FAP (Burkey, *et al.* 2008). Posee un 87% de absorción y entre 8 y 14h de $t_{1/2}$ en voluntarios sanos (Herman *et al.* 2005). Una única dosis de 50 mg provoca la inhibición del 80% de la DPP-IV durante 24h (Bergman, 2006). En pacientes aquejados de DM2, las concentraciones séricas de GLP-1 fueron aumentadas dos veces durante el tratamiento con Sitagliptin. Por otro lado, en individuos obesos no diabéticos, dosis de 200 mg fueron bien toleradas y

condujeron a la inhibición del 90% de la DPP-IV plasmática, con un incremento del nivel GLP-1 de 2.7 veces respecto al nivel basal y un 35% de aclaramiento de la glucosa en comparación al placebo durante el test de post-tolerancia a la glucosa oral (Herman *et al.* 2006).

Sitagliptin es eliminado fundamentalmente por vía urinaria (74 %), en una manera dosis-dependiente y sin modificaciones (Bergman *et al.* 2007; Vincent *et al.* 2007), por lo que pacientes con insuficiencia renal requieren modulación de las dosis (Chan, *et al.* 2008). En hígado, por acción del citocromo p450 (Cyp450), es convertido a 6 metabolitos, de los cuales 3 son biológicamente activos (Vincent, *et al.* 2007).

Vildagliptin

Entre los inhibidores de DPP-IV disponibles en el mercado farmacéutico, Vildagliptin (Fig 1b) muestra la menor selectividad frente a la enzima respecto a otros miembros de la familia; pese a ello, la administración de dosis crónicas en ratones y ratas, incluso cuando implicó la inhibición de DP-8/9, no produjo toxicidad en órgano alguno (Ahren, 2009). Posee una rápida absorción (1-2 h) que llega al 85 % (Herman, *et al.* 2006). Desafortunadamente, es rápidamente aclorado del plasma ($t_{1/2}$ =1.5-4.5h), por lo cual demanda de dos dosis al día. Se ha demostrado que, en pacientes con DM T2, dosis de 10 y de 25 a 100 mg, administradas dos veces al día durante 28 días, conducen a más de un 90 % de inhibición, así como más de un 80 % durante las 12 h posteriores a la administración de la dosis (He, *et al.* 2007).

Más del 50 % del Vildagliptin es hidrolizado por el Cyp450 a un compuesto farmacológicamente inactivo que luego es secretado por la orina. A consecuencia, las dosis deben ser moduladas en pacientes con daño renal o hepático (Ahren, 2009).

Saxagliptin

Saxagliptin (Fig 1c) alcanza un 67 % de biodisponibilidad cuando se le administra en una única dosis de 50mg una vez al día. A pesar de poseer un corto $t_{1/2}$ (2,5h aproximadamente), la unión covalente reversible con la enzima, aumenta su tiempo de actividad efectiva (Covington, *et al.* 2008). Además, posee la significativa ventaja de que, al ser metabolizado en hígado por el Cyp450, se convierte en un compuesto que también resulta un inhibidor reversible de DPP-IV; tanto el derivado como el saxagliptin parental son aclarados por el riñón (Ahren, 2009).

Alogliptin

El Alogliptin (Fig. 1d) resulta ampliamente selectivo frente a DPP-IV (Burkey, *et al.* 2008). Usualmente es administrado en una única dosis de 25mg al día; se ha demostrado que, durante las 24 h posteriores a la última dosis, después de 14 días de tratamiento, persiste un 82-97% de inhibición de la DPP-IV plasmática en pacientes de DM T2. Alogliptin es excretado fundamentalmente en la orina (Covington, *et al.* 2008).

Linagliptin

El linagliptin (Fig. 1e) es ampliamente selectivo frente a DPP-IV (Burkey *et al.* 2008) y posee potente valor de IC_{50} (menor de 1nmol/L). Como tratamiento, se administra en una única dosis de 25 mg al día. Es bien tolerado, con pobre excreción renal y posee un elevado $t_{1/2}$ de 180h (Huttner, *et al.* 2008). Posee la ventaja adicional de que, al ser mayoritariamente excretado a través de la bilis, las deficiencias renales tienen muy poco o nulo impacto en su farmacocinética, de ahí que no haya necesidad de modular la dosis en pacientes aquejados de insuficiencia renal (Graefe-Mody, *et al.* 2011).

De acuerdo a la naturaleza química de los compuestos, los diferentes inhibidores de DPP-IV desarrollados hasta el presente se clasifican en:

Peptidomiméticos: son aquellos compuestos que de alguna manera reproducen las características estructurales del dipéptido amino terminal de los

sustratos. Estos peptidomiméticos son a su vez subclasificados en inhibidores basados en glicina (serie- α) y los inhibidores basados en alanina (serie- β). En la serie- α , pirrolidinas o thiazolidinas sustituidas, son unidas a un α -aminoácido mientras que en la serie- β , grupos β -amido o amino son unidos al nitrógeno de prolina, en lugar de α -amino amida. Los derivados de pirrolidinas han sido extensamente explorados y dependiendo de la naturaleza del sustituyente pueden ser irreversibles (como los ésteres de difenil fosfonato o los ácidos o-acil-hidroxicarboxílicos) o reversibles (derivados de ácido borónico/nitrilos)

No-peptidomiméticos: son aquellos cuya estructura no está relacionada con los sustratos naturales de esta enzima.

Vildagliptin y saxagliptin, los cuales son derivados de cianopirrolidinas pertenecen a la clase de los peptidomiméticos de la serie- α , mientras que el sitagliptin, alogliptin y linagliptin son miembros de la clase de los no-peptidomiméticos, aunque fueron todos desarrollados a partir de cribados masivos de compuestos. En la Tabla 2 se resumen los principales grupos de inhibidores peptidomiméticos y no peptidomiméticos de DPP-IV desarrollados hasta el presente y la base química del compuesto parental que da lugar a la serie. En muchos casos se ha avanzado en el conocimiento de su relación estructura-función con DPP-IV humana y su selectividad respecto a todos los miembros de la familia, pero diversas razones han motivado que no hayan avanzado a ensayos clínicos. Entre ellas encontramos la baja estabilidad estructural en soluciones fisiológicas, por lo que sigue constituyendo un reto importante el desarrollo de inhibidores de DPP-IV potentes, selectivos y estables, con potenciales aplicaciones biomédicas.

Inhibidores de DPP-IV en el tratamiento de otras patologías distintas a la Diabetes Mellitus tipo II: posibles aplicaciones futuras.

La investigación de las posibles bondades terapéuticas asociadas a la inhibición de DPP-IV marcha considerablemente retrasada en otras patologías diferentes a la diabetes mellitus tipo 2, tales como el cáncer y la isquemia cerebral. Ello no es de extrañar: se trata de dos fenómenos particularmente complejos debido a la gama multifactorial de señales involucradas. Además, el seguimiento de la evolución molecular resulta particularmente engorroso y sesgado, tanto por las

Tabla 2. Resumen de diferentes plataformas heterocíclicas informadas como inhibidores de DPP-IV

Table 2. Summary of the different heterocyclic platforms reported as DPP-IV inhibitors.

Inhibidores peptidomiméticos:	Inhibidores no-peptidomiméticos:
Inhibidores basados en Glicina (serie- α):	Inhibidores b-fenetilaminas
a Derivados de 2-cianopirrolidina	Derivados de xantina
b Derivados de Fluor-olefinas	Inhibidores basados en benzimidazol
c Derivados de ácido borónico/fosfonatos	Derivados de aminometilpirimidina/piridina
d Inhibidores basados en pirrolidinas que carecen del grupo nitrilo electrofílico	Pirazol, triazol e imidazolpirimidina
e Amidas de pirrolidinas fluorinadas	Derivados de pirollopirimidina y pirollopiridina
f Derivados de cetopirrolidinas y cetoazetidinas	Derivados de cicloexilamina/aminopiperidina
	quinazolinonas
	Derivados de isoquinolona y quinolina
	Derivados de imidazoquinoline
	Derivados de fenetilfenilftalimida

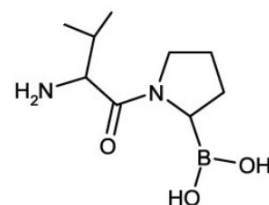
(Adaptado de Patel y Gbate, 2014)

limitaciones observacionales como por la incertidumbre que surge a la hora de extrapolar a humanos alguna conclusión obtenida en modelos animales. Adicionalmente, la mayoría de las investigaciones sobre cáncer, al ser llevadas a cabo en líneas celulares exentas del contexto de un organismo, forzosamente ignoran el efecto que pudieran tener ciertos sustratos fisiológicos de DPP-IV, con lo que solo se observarían las funciones extra-enzimáticas de DPP-IV, y a consecuencia, las implicaciones de la inhibición enzimática quedarían, por tanto, parcial o completamente subvaloradas.

No obstante, recientemente han aparecido evidencias preliminares que apoyan la idea de posibles beneficios derivados del tratamiento con inhibidores de DPP-IV. La administración de sirtagliptin brinda neuroprotección en ratas con isquemia cerebral inducida (Röhnert, *et al.* 2012). Por otro lado, se ha visto que la inhibición de DPP-IV retarda el crecimiento en líneas de hepatoma humano (Röcken, *et al.* 2004). En igual sentido, la administración de sitagliptin a ratas con tumor de queratinocitos reduce el crecimiento tumoral en individuos afectados y, en conjunción a IL-2 α , disminuye la incidencia o retarda la aparición del tumor en individuos sanos (Arwert, *et al.* 2012). El inhibidor PT100 (Val-boro-Pro) (Fig. 2), no selectivo para los miembros de la familia de DPP-IV, reduce el crecimiento de líneas tumorales humanas derivadas de fibrosarcoma, linfoma, melanoma, mastocitoma (Adams, *et al.* 2004) y mieloma (Pennisi, *et al.* 2009). En estudios más recientes, PT-100 y ARI-4175 se ha

demostrado que estos compuestos sobrerregulan la expresión de citoquinas y/o quimiocinas, modulan el tráfico de células dendríticas y células inmunorregulatorias y activan o aceleran respuestas inmunitarias dependientes de células T contra tumores sólidos (Walsh, *et al.* 2013; Duncan, *et al.* 2013). De hecho, Donahue *et al.* (2014) encontraron que ARI-4175 tiene actividad antitumoral porque participa en la sensibilización directa de la célula tumoral para la muerte mediada por células T, debido a que incrementa los niveles de diferentes moléculas relevantes en las interacciones célula-célula que utilizan los linfocitos T-citotóxicos para matar las células tumorales (Ej: Fas, ICAM-1; MHC clase 1 y TAAs-MUC1 y CEA expresadas en la superficie celular del tumor).

El GIP tiene un efecto lipolítico en los adipocitos. Incluso en una dieta regular, los ratones y ratas deficientes en DPP-IV son más ligeros que los tipos salvajes en las primeras 20 semanas de edad (Conarello, *et al.*, 2003). La reducción del peso en los roedores tratados

Figura 2. Val-boro-Pro (PT100) (Adams *et al.*, 2004)Figure 2. Val-boro-Pro (PT100) (Adams *et al.*, 2004)

con inhibidores de la DPP-IV y en los que carecen de esta enzima pudiera ser causada por niveles incrementados del GLP-1 y el péptido YY, que influyen en el apetito y/o el PACAP, que regula el metabolismo de lípidos y carbohidratos. Todos estos resultados indican que los inhibidores de DPP-IV pueden tener además, un efecto protector de la función cardíaca, lo cual ha sido demostrado en modelos animales (Wang, *et al.* 2013) (Tabla 3) y para varios pacientes con DMT2, en los cuales, se han empleado los inhibidores Vildagliptin y Sitagliptin bien establecidos hoy en el mercado como terapias para esta enfermedad. Estos inhibidores han demostrado incrementos en la movilización y oxidación postprandial de los lípidos, efectos beneficiosos sobre el colesterol, así como en la reducción de los triglicéridos (Zhao, *et al.* 2014). Adicionalmente, varios de los inhibidores de DPP-IV desarrollados para el tratamiento de la DMT2, han demostrado potentes efectos antihipertensivos, los cuales parecen estar mediados por la acción del GLP-1, que tiene efecto vasodilatador. Este resultado es de gran beneficio terapéutico, dada la alta incidencia de cardiopatías e hipertensión en los pacientes diabéticos (Zhao, *et al.* 2014).

Efectos adversos asociados al uso clínico de inhibidores de DPP-IV.

Pese a que los inhibidores de DPP-IV son generalmente bien tolerados, se caracterizan por un mínimo riesgo de hipoglicemia, tienen un efecto prolongado

en el control de la glicemia, muchos son disponibles por vía oral, han demostrado además efectos cardiovasculares beneficiosos y no se han observado eventos adversos superiores al placebo, entre ellos pueden existir ligeras diferencias (Patel y Gate, 2014). Si bien la actividad peptidasa no es necesaria para la función de DPP-IV en el sistema inmune, se han observado repercusiones luego del tratamiento con estos. En pacientes aquejados de diabetes mellitus tipo 2, Sitagliptin disminuyó el efecto de procesos autoinmunes a través de la disminución en la migración de células T (Kim, *et al.* 2009). Alogliptin suprime la respuesta LPS inducida por la señalización TLR-4 (Ta *et al.* 2010). Saxagliptin induce una ligera disminución en el conteo linfocitario dentro del intervalo normal (Rosenstock, *et al.* 2008). Por otro lado, se ha sugerido que la inhibición de DPP-IV podría afectar la migración de las células madres, del sistema hematopoyético (Christopherson *et al.* 2004). Un ligero aumento de ciertas infecciones urinarias y del tracto superior respiratorio fue asociado al uso de Sitagliptin y Vildagliptin, pero no ha sido confirmado en estudios posteriores (Duez, *et al.* 2012).

CONCLUSIONES

La enzima dipeptidil peptidasa IV constituye hoy en día foco de atención de la comunidad científica internacional por la relevancia de sus funciones fisiológicas y por la implicación de su actividad enzimática en diversas patologías humanas entre las que se destacan

Tabla 3. Ejemplos de algunos de los efectos protectores cardiovasculares de los inhibidores de DPP-IV en modelos animales (Adaptado de Wang, *et al.* 2013).

Table 3. Examples of some of the cardiovascular protection effects of DPP-IV inhibitors in animal models (Adapted from Wang *et al.* 2013).

Inhibidor	Modelo Animal	Efecto cardiovascular
Vildagliptin	Cerdos	Disminución del tamaño del infarto. Estabilización de la electrofisiología cardíaca
Vildagliptin	Ratas Wistar con una dieta elevada en grasas	Disminución del desbalance cardíaco simpato-vagal. Disminución de la disfunción cardíaca
Sitagliptin	Ratones Db/db	Disminución de la oxidación de ácidos grasos en el miocardio
Sitagliptin	Ratones ApoE (-/-)	Mejoramiento de la función endotelial. Disminución de la formación de lesiones ateroscleróticas
Sitagliptin	Ratones obesos	Disminuye la inflamación local en el tejido adiposo y en los islotes pancreáticos
Saxagliptin	Ratas Obesas Zucker	Mejora la liberación de óxido nítrico y disminuye la inflamación
Alogliptin	Ratones LDLR(-/-) alimentados con una dieta elevada en grasas	Disminuye la aterosclerosis y la inflamación

la DMT2, cardiopatías y el cáncer. El desarrollo de inhibidores frente a esta enzima ha constituido una estrategia importante en el aporte de conocimiento de la relación estructura-función de DPP-IV y el esclarecimiento de los requerimientos para una inhibición potente y selectiva. Adicionalmente, algunas de estas moléculas ya se encuentran en el mercado y otras en fases de ensayos clínicos; sin embargo debido a la inestabilidad en soluciones fisiológicas de muchos de los compuestos desarrollados, y el protagonismo de esta enzima en muchas otras enfermedades, se impone continuar el desarrollo de nuevas moléculas cada vez más eficientes en términos de inhibición y selectividad frente a DPP-IV, respecto al resto de los miembros de la familia y caracterizados por buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, que garanticen el éxito de los ensayos clínicos.

Agradecimientos: Proyecto de la Fundación Internacional para la Ciencia (IFS) en coordinación con la Organización para la Prohibición de las Armas Químicas (OPCW) a Dra. Isel Pascual Alonso (IFS 3276/3).

LITERATURA CITADA

- Abbenante, G. y D.P. Fairlie (2005) Protease Inhibitors in the Clinic. *Med. Chem.* 1: 71-104.
- Abbott, C.A. y M.D. Gorrell (2002) The family of CD26/DPP-IV and related ectopeptidases. In *Ectopeptidases: CD13/Aminopeptidase N and CD26/Dipeptidylpeptidase IV*. En: Langner, J. y S. Ansorge (Eds.) *Medicine and Biology*. Kluwer/Plenum, New York. Pp: 171-195.
- Adams, S., G.T. Miller, M.I. Jesson, T. Watanabe, *et al.* (2004) PT-100, a small molecule dipeptidyl peptidase inhibitor, has potent antitumor effects and augments antibody-mediated cytotoxicity via a novel immune mechanism. *Cancer Res.* 64: 5471-5480.
- Adolpho, L.O., D. Marin, A. Puigpinos, L. Mendieta, *et al.* (2013) In vitro evaluation of caffeoyl and cinnamoyl derivatives as potential prolyl oligopeptidase inhibitors. *Planta Med.* 79 (16):1531-1535.
- Ahren, B. (2009) Clinical results of treating type 2 diabetic patients with sitagliptin, vildagliptin or saxagliptin – diabetes control and potential adverse events. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 23:487-498.
- Arwert, E.N., R.A. Mentink, R.R. Driskell, E. Hoste *et al.* (2012) Up regulation of CD26 expression in epithelial cells and stromal cells during wound-induced skin tumour formation. *Oncogene* 31: 992-1000.
- Augustynus, K., G. Bal, G. Thonus, A. Belyaev, *et al.* (1999) The unique properties of dipeptidyl-peptidase IV (DPP IV/CD 26) and the therapeutic potential of DPP-IV inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 6: 311-327.
- Bauvois, B., I. De Meester, J. Dumont, D. Rouillard *et al.* (1999) Constitutive expression of CD26 / dipeptidylpeptidase IV on peripheral blood B lymphocytes of patients with B chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Cancer.* 79: 1042-1048.
- Bergman, A.J., C. Stevens y Y. Zhou (2006) Pharmacokinetic and pharmacodynamics properties of multiple oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study in healthy male volunteers. *Clin. Ther.* 28:55-72.
- Bergman, A.J., J. Cote y B. Yi (2007) Effect of renal insufficiency on the pharmacokinetics of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *Diabetes Care.* 30:1862-4.
- Berpohl, F., K. Loster, W. Reutter y O. Baum (1998) Rat dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) exhibits endopeptidase activity with specificity for denatured fibrillar collagens. *FEBS Lett.* 428: 152-156.
- Bogenrieder, T., C.L. Finstad, R.H. Freeman, C. N. Papandreou, *et al.* (1997) Expression and localization of aminopeptidase A, aminopeptidase N, and dipeptidyl peptidase IV in benign and malignant human prostate tissue. *Prostate.* 33(4): 225-232.
- Burkey, B.F., P.K. Hoffmann, U. Hassiepen, J. Trappe, *et al.* (2008) Adverse effects of dipeptidyl peptidases 8 and 9 inhibition in rodents revisited. *Diabetes Obes. Metab.* 10:1057-1061.
- Carl-McGrath, S., U. Lendeckel, M. Ebert y C. Röcken (2006) Ectopeptidases in tumour biology. *Histology and Histopathology* 21: 1339-1353.
- Chan, J.C., R. Scott y J.C. Arjona Ferreira (2008) Safety and efficacy of sitagliptin in patients with type 2 diabetes and chronic renal insufficiency. *Diabetes Obes. Metab.* 10:545-555.
- Christopherson, K.W., G. Hangoc, C.R. Mantel, H.E. Broxmeyer (2004) Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26. *Science* 305:1000-1003.
- Combettes, M. (2006) GLP-1 and type 2 diabetes: physiology and new clinical advances. *Curr. Op. Pharmacol.* 6: 598-605.
- Conarello, S., Z. Li y J. Ronan (2003) Mice lacking dipeptidyl peptidase IV are protected against obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 6825-6830.
- Cordero, O., M. Imbernon, L. De Chiara, V.S. Martinez-Zorzano, *et al.* (2011) Potential of soluble CD26 as a serum marker for colorectal cancer detection. *World J. Clin. Oncol.* 2(6): 245-261.

- Covington, P., R. Christopher y M. Davenport (2008) Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and tolerability profiles of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study in adult patients with type 2 diabetes. *Clin. Ther.* 30:499–512.
- Cro, L., F. Morabito, N. Zucal, S. Fabris, *et al.* (2009) CD26 expression in mature B-cell neoplasia: its possible role as a new prognostic marker in B-CLL. *Hematol. Oncol.* 27: 140–147
- de Veer, S.J., L. Furio, J.M. Harris y A. Hovnanian (2014) Proteases: common culprits in human skin disorders. *Trends. Mol. Med.* 20(3):166-178.
- Delgado, M., J. Leceta, R.P. Gomariz y D. Ganea (1999) Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide stimulate the induction of Th2 responses by up-regulating B7.2 expression. *J. Immunol.* 163: 3629-3635.
- Donahue, R. N. (2014) A pan inhibitor of DASH family enzymes induces immunogenic modulation and sensitizes murine and human carcinoma cells to antigen-specific cytotoxic T lymphocyte killing: implications for combination therapy with cancer vaccines. *Vaccine* <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.008>
- Drucker, D.J. (2007) The role of gut hormones in glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.* 117: 24-32.
- Duez, H., C. Bertrand y B. Staels (2012) DPP-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Biochem. Pharmacol.* 83: 823–832.
- Duncan, B.B. (2013) A pan-inhibitor of DASH family enzymes induces immune-mediated regression of murine sarcoma and is a potent adjuvant to dendritic cell vaccination and adoptive T-cell therapy. *J Immunother.* 36(8):400–411.
- Elliott, R.M., L.M. Morgan, J.A. Tredger, S. Deacon, *et al.* (1993) Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide and glucose dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post prandial and 24h secretion patterns. *J. Endocrinol.* 138: 159-166.
- Gallego, M., M.C. Aristoy y F. Toldrá (2014) Dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.*:757-61. doi: 10.1016/j.meatsci.
- Gómez, H., M. Chappé, P.A. Valiente, T. Pons, *et al.* (2013) Effect of zinc and calcium ions on the rat kidney membrane-bound form of dipeptidyl peptidase IV. *J. Biosci.* 38.3: 461-469.
- Gorrell, M.D., V. Gysbers y G.W. McCaughan (2001) CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand. J. Immunol.* 54: 249-264.
- Gorrell, M.D. (2005) Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clinic. Sci.* 108: 1-16.
- Gorrell, M.D., X.M. Wang, J. Park, K. Ajami, *et al.* (2006) Structure and function in dipeptidase peptidase IV and related proteins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 575: 45-54.
- Goscinski, M.A., Z.H. Suo, J.M. Nesland, V.A. Florenes, *et al.* (2008) Dipeptidyl peptidase IV expression in cancer and stromal cells of human esophageal squamous cell carcinomas, adenocarcinomas and squamous cell carcinoma cell lines. *APMIS.* 116: 823–831.
- Graefe-Mody, U., C. Friedrich y A. Port (2011) Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin. *Diabetes Obes. Metab.* 13: 939–946.
- Gribble, F.M., L. Williams, A.K. Simpson y F. Reimann (2003) A novel glucose sensing mechanism contributing to glucagon-like peptide-1 secretion from the GLUTag cell line. *Diabetes* 52: 1147-1154.
- Guasch, L., E. Sala, M.J. Ojeda, C. Valls, *et al.* (2012) Identification of novel human dipeptidyl peptidase-IV inhibitors of natural origin (Part II): *in silico* prediction in antidiabetic extracts. *PLoS One.* 7(9):e44972.
- Haba-Rodriguez, J., A. Macho, M.A. Calzado, M.V. Blaquez, *et al.* (2002) Soluble dipeptidyl peptidase-IV in serum of patients with colorectal carcinoma. *Neoplasma* 49: 307-311.
- Hanahan, D. y R.A. Weinberg (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100: 57-70.
- He, Y.L., D. Serra y Y. Wang (2007) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vildagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin. Pharmacokinet.* 46:577–588.
- Herman, G.A., C. Stevens y K. Van Dyck (2005) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, in healthy subjects: results from two randomized, double-blind, placebo-controlled studies with single oral doses. *Clin. Pharmacol. Ther.* 78:675–688.
- Herman, G.A., A. Bergman y F. Liu (2006) Pharmacokinetics and pharmacodynamics effects of the oral DPP-4 inhibitor sitagliptin in middle-aged obese subjects. *J. Clin. Pharmacol.* 46:876–886.
- Hugli, L. (1996) Proteases inhibitors: novel therapeutic applications and development. *Trends in Biotechnology.* 14: 409-412.
- Huhn, J., S. Ehrlich, B. Fleischer y A. von Bonin (2000) Molecular analysis of CD26-mediated signal transduction in T cells. *Immunol. Lett.* 72: 127-132.
- Huttner, S., E.U. Graefe-Mody, B. Withopf, A. Ring, *et al.* (2008) Safety, tolerability, pharmacokinetics, and

- pharmacodynamics of single oral doses of BI 1356, an inhibitor of dipeptidyl peptidase 4, in healthy male volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 48:1171–1178.
- Iwata, S. y C. Morimoto (1999) CD26/dipeptidyl peptidase IV in context. The different roles of a multifunctional ectoenzyme in malignant transformation. *J. Exp. Med.* 190: 301–306.
- Janardhan, S. y G.N. Sastry (2014) Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitors: A New Paradigm in Type 2 Diabetes Treatment. *Drug Targets*. PMID: 24611684
- Kaman, W.E., J.P. Hays, H.P. Endtz y F.J. Bikker (2014) Bacterial proteases: targets for diagnostics and therapy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* PMID: 24535571
- Kehlen, A., U. Lendeckel, H. Dralle, J. Langner, *et al.* (2003) Biological significance of aminopeptidase N/ CD13 in thyroid carcinomas. *Cancer Res.* 63: 8500–8506.
- Khin, E.E., F. Kikkawa, K. Ino, H. Kajiyama (2003) Dipeptidyl peptidase IV expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma and its inverse correlation with tumor grade. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 188: 670–676.
- Kim, S.J., C. Nian, D.J. Doudet y C.H. McIntosh (2009) Dipeptidyl peptidase IV inhibition with MK0431 improves islet graft survival in diabetic NOD mice partially via T-cell modulation. *Diabetes* 58:641–651.
- Lacroix, I.M. y E.C. Li-Chan (2013) Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and α -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins. *J. Agric. Food Chem.* 61 (31):7500–7506.
- Lambeir, A.M., J.F. Pereira, P. Chacon, G. Vermeulen, *et al.* (1997) A prediction of DPP IV/CD26 domain structure from a physico-chemical investigation of dipeptidyl peptidase IV (CD26) from human seminal plasma. *Biochim. Biophys. Acta* 1340: 215–226.
- Larsen, P.J. y J.J. Holst (2005) Glucagon-related peptide 1 (GLP-1): hormone and neurotransmitter. *Regul. Pept.* 28: 97–107.
- Leung, D., G. Abbenante y D.P. Fairlie (2000) Protease inhibitors: Current status and future prospects. *J. Med. Chem.* 43: 305–341.
- Mikhail, N. (2014) Effects of incretin-based therapy in patients with heart failure and myocardial infarction. *Endocrine*. PMID:24493030
- Morrison, M.E., S. Vijayasaradhi, D. Engelstein, A.P. Albino, *et al.* (1993) A marker for neoplastic progression of human melanocytes is a cell surface ectopeptidase. *J. Exp. Med.* 177: 1135–1143.
- Pascual, I., H. Gómez, A. López, M. Chappé, A. Saroyán, *et al.* (2007) Screening of inhibitors of dipeptidyl peptidase IV activity in aqueous extracts from marine organisms. *Enzyme and Microbial Technology.* 40(3):414–419
- Pascual, I., H. Gómez, T. Pons, M. Chappé, *et al.* (2011) Effect of divalent cations on the porcine kidney cortex membrane-bound form of dipeptidyl peptidase IV. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 43: 363–371.
- Patel, D. y M.D. Ghatge (2014) Recent approaches to medicinal chemistry and therapeutic potential of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 74:574–605.
- Pennisi, A., X. Li, W. Ling, S. Khan, *et al.* (2009) Inhibitor of DASH proteases affects expression of adhesion molecules in osteoclasts and reduces myeloma growth and bone disease. *Br. J. Haematol.* 145: 775–787.
- Power, O., A.B. Nongonierma, P. Jakeman y R.J. Fitzgerald (2014) Food protein hydrolysates as a source of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides for the management of type 2 diabetes. *Proc. Nutr. Soc.* 73(1):34–46.
- Pro, B. y N.H. Dang (2004) CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. *Histol.Histopathol.* 19: 1345–1351.
- Raschi, E., V. Vasina, E. Poluzzi y F. De Ponti (2008) The hERGKp channel: target and antitarget strategies in drug development. *Pharmacol. Res.* 57: 181–195.
- Rawlings, N.D., F.R. Morton y A.J. Barrett (2006) MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acids Res.* 34: 270–272.
- Röcken, C., S. Carl-McGrath, I. Gräntzdörffer, R. Mantke, *et al.* (2004) Ectopeptidases are differentially expressed in hepatocellular carcinomas. *Int. J. Oncol.* 24. 487–495.
- Röhnert, P., W. Schmidt, P. Emmerlich, A. Goihl, *et al.* (2012) Dipeptidyl peptidase IV, aminopeptidase N and DPPIV/APN-like proteases in cerebral ischemia. *Journal of Neuroinflammation.* 9:44.
- Rosenstock, J., S. Sankoh y J.F. List (2008) Glucose - lowering activity of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor saxagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 10:376–386.
- Savino, W., D.M. Villa-Verde y J. Lannes-Vieira (1993) Extracellular matrix proteins in intrathymic T-cell migration and differentiation? *Immunol. Today* 14: 158–161.
- Ta, N.N., Y. Li, C.A. Schuyler, M.F. Lopes-Virella, *et al.* (2010) DPPIV (CD26) inhibitor alogliptin inhibits TLR4-mediated ERK activation and ERK-dependent MMP-1 expression by U937 histiocytes. *Atherosclerosis* 213:429–435.
- Tanaka, T., J. Kameoka, A. Yaron, S.F. Schlossman, *et al.* (1993) The costimulatory activity of the CD26 antigen requires dipeptidyl peptidase IV enzymatic activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 4586–4590.

- Teramachi, H., H. Ohta, T. Tachi, M. Toyoshima, *et al.* (2013) Pharmacoeconomic analysis of DPP-4 inhibitors. *Pharmazie* 68(11):909-915.
- Thoma, R., B. Löffler, M. Stihle, W. Huber, *et al.* (2003) Structural basis of proline-specific exopeptidase activity as observed in human dipeptidyl peptidase-IV. *Structure* 11: 947-959.
- Thomas, L., M. Eckhardt, E. Langkopf, M. Tadayyon, *et al.* (2008) (R)- 8-(3-amino-piperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methylquinazolin-2-ylmethyl)-3,7-dihydro-purine-2,6-dione (BI 1356), a novel xanthine-based dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, has a superior potency and longer duration of action compared with other dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 325:175e182.
- Turk, B. (2006) Targeting proteases: successes, failures and future prospects. *Nature reviews. Drug discovery* 5:785-799.
- Tyndall, J.D.A., T. Nall y D.P. Fairlie (2005) Proteases universally recognize beta strands in their active sites. *Chem. Rev.* 105: 973-999.
- Urade, M., M. Komatsu, M. Yamaoka, K. Fukusawa, *et al.* (1989) Serum dipeptidyl peptidase activities as a possible marker of oral cancer. *Cancer* 64: 1274-80.
- Velarde-Salcedo, A. J., A. Barrera-Pacheco, S. Lara-González, G. M. Montero-Morán, *et al.* (2013) In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. *Food Chem.* 136: 758-764.
- Vincent, S.H., J.R. Reed y A.J. Bergman (2007) Metabolism and excretion of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor [14C] sitagliptin in humans. *Drug Metab. Dispos.* 35: 533-538.
- Walsh, M.P. (2013) Val-boroPro accelerates T cell priming via modulation of dendritic cell trafficking resulting in complete regression of established murine tumors. *PLoS One* 8(3):e58860.
- Wang, X., Y. Yang y Y. Wu (2013) The Emerging Role of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in Cardiovascular Protection: Current Position and Perspectives. *Cardio-vasc. Drugs Ther.* 27:297-307.
- Wesley, U.V., A.P. Albino, S. Tiwari y A.N. Houghton (1999) A role for dipeptidyl peptidase IV in suppressing the malignant phenotype of melanocytic cells. *J. Exp. Med.* 190: 311-322.
- Wesley, U.V., S. Tiwari y A.N. Houghton (2004) Role for dipeptidyl peptidase IV in tumor suppression of human non small cell lung carcinoma cells. *Int. J. Cancer.* 109: 855-866.
- Wilson, M.J., A.R. Ruhland, B.J. Quast, P.K. Reddy, *et al.* (2000) Dipeptidylpeptidase IV activities are elevated in prostate cancers and adjacent benign hyperplastic glands. *J. Androl.* 21: 220-226.
- Yu, D., K. Ajami, M. Gall, J. Park, *et al.* (2009) The in vivo expression of dipeptidyl peptidases 8 and 9. *J. Histochem Cytochem.* 57: 1025-1040.
- Yu, M. T., T.W. Yao, S. Chowdhury, N.A. Nadvi, *et al.* (2010) The dipeptidyl peptidase IV family in cancer and cell biology. *FEBS Journal* 277: 1126-1144.
- Zhao, Y., L. Yang y Z. Zhou (2014) Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Multitarget drugs, not only antidiabetes drugs. *J. Diabetes* 6: 21-29.

• • •

Editor para correspondencia: Dra. Maday Alonso