



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

**ACIDO VALPROICO:  
VIE DI SINTESI E MECCANISMI D'AZIONE DEL FARMACO**

Relatore: Prof. Fernando Formaggio

Laureando: Francesco Pigaiani  
matr. 1194902

Anno Accademico 2022/23

## **INDICE**

### **1. Introduzione**

- 1.1. Il VPA
- 1.2. Epilessia e disturbo bipolare
- 1.3. Breve storia del farmaco
- 1.4. Scopo della tesi

### **2. Descrizione del farmaco**

- 2.1. Nomenclatura
- 2.2. Formule, peso molecolare e Cas
- 2.3. Caratteristiche chimico-fisiche

### **3. Sintesi**

- 3.1. La prima sintesi
- 3.2. La sintesi industriale convenzionale
- 3.3. Una sintesi alternativa

### **4. Meccanismi d'azione del farmaco (farmacodinamica)**

- 4.1. Effetto inibitorio su GABA
- 4.2. Effetto sui canali ionici
- 4.3. Proprietà antiossidanti neuroprotettive
- 4.4. Effetto sui percorsi metabolici delle chinasi
- 4.5. Effetto sull'espressione genica

### **5. Metabolismo (farmacocinetica)**

### **6. VPA e ricerca**

- 6.1. Malattie neurodegenerative
- 6.2. Terapie antitumorali

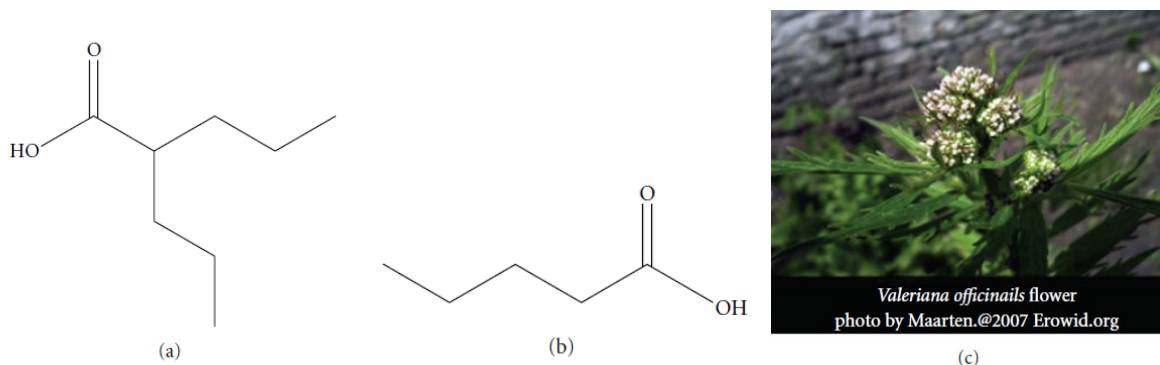
### **7. Conclusioni**

### **8. Bibliografia**

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1. Il VPA

L'acido valproico (VPA, acido 2-propilvalerico o 2-propilpentanoico) è un acido grasso a catena corta derivato dall'acido valerico (quest'ultimo è prodotto naturalmente dalla *Valeriana officinalis*) (figura 1).



**Figura 1.** (a) Struttura del VPA; (b) struttura dell'acido valerico; (c) fiore della valeriana officinalis.

Per quasi un secolo, questa molecola è stata utilizzata come solvente "fisiologicamente inerte" per composti organici. Nel 1963, a seguito di uno studio incentrato su molecole con potenziale attività anticonvulsivante, è stata dimostrata l'attività farmacologica dell'acido valproico.

Gli usi clinici principali del VPA sono come anticonvulsivante e stabilizzante dell'umore. L'acido valproico presenta inoltre effetti benefici nella depressione clinica, nelle crisi di assenza, nelle crisi tonico-cloniche, nelle crisi parziali complesse, nell'epilessia mioclonica giovanile, nelle crisi associate alla sindrome di Lennox-Gastaut, nelle emicranie e nella schizofrenia (Chateauvieux, 2010).

Inoltre, ultime ricerche confermano la proprietà del farmaco di inibire l'istone deacetilasi (HDAC), risultando un potenziale strumento per terapie antitumorali (Chateauvieux, 2010).

### 1.2. Epilessia e disturbo bipolare

Il VPA viene usato principalmente per curare disturbi neurologici, in particolare nel trattamento dell'epilessia e del disturbo bipolare.

Un attacco epilettico viene definito come "comparsa transitoria di segni o sintomi legati a un'anormale attività neuronale del cervello" (International League Against Epilepsy, ILAE). L'epilessia viene diagnosticata quando si ha una convulsione e si dimostra che il cervello ha la tendenza patologica di avere attacchi epilettici ricorrenti.

Nello specifico, l'epilessia viene rilevata in un individuo in tre casi specifici: 1) quando si hanno due crisi distanziate da meno di 24 ore; 2) quando si ha una convulsione e la

probabilità maggiore del 60% di averne un'altra nei successivi 10 anni; 3) quando si ha una sindrome epilettica (Fisher, 2014).

Il disturbo bipolare è un disturbo cronico ricorrente caratterizzato da fluttuazioni dell'umore tra stati depressivi e stati euforici. Colpisce più dell'1% della popolazione mondiale, indipendentemente dalla nazionalità, origine etnica o stato socioeconomico.

Il disturbo bipolare è una delle principali cause di disabilità tra i giovani perché può compromettere le capacità cognitive e funzionali e aumenta la mortalità, intesa come morte per suicidio.

La malattia maniaco-depressiva è spesso difficile da diagnosticare alle prime manifestazioni perché viene spesso confusa come una depressione unipolare. Attualmente non esistono ancora biomarcatori che accertano la presenza del disturbo. Le strategie di cura farmacologiche e psicologiche della malattia sono ancora al giorno d'oggi in evoluzione e oggetto di studio (Grande, 2015).

Il VPA è tra i farmaci antiepilettici più comunemente prescritti. Globalmente, circa un milione di persone assume il VPA quotidianamente. Attualmente il farmaco è approvato in oltre cento paesi. Oltre al suo uso clinico come farmaco anticonvulsivante e stabilizzante dell'umore, il VPA presenta effetti benefici nella depressione clinica, nelle crisi di assenza, nelle crisi tonico-cloniche, nelle crisi parziali complesse, nell'epilessia mioclonica giovanile, nelle crisi associate alla sindrome di Lennox-Gastaut, nelle emicranie e nella schizofrenia (Chateauvieux, 2010).

### **1.3. Breve storia del farmaco**

La sintesi dell'acido valproico venne descritta per la prima volta da Beverly S. Burton nel 1882 (Burton, 1882). Tuttavia, come sopra ricordato, per quasi un secolo il VPA fu utilizzato solamente come solvente "fisiologicamente inerte" per composti organici, dato che a temperatura ambiente è liquido.

Fu solo nel 1963 che le sue proprietà anticonvulsivanti furono scoperte per caso. Durante uno studio incentrato su molecole con potenziale attività anticonvulsivante, in cui il VPA era utilizzato come veicolo molecolare, fu dimostrata la sua attività farmacologica: proprio il VPA aveva impedito convulsioni indotte da pentilene-tetrazolo nei roditori (Chateauvieux, 2010).

Già pochi anni dopo, nel 1967, il VPA fu approvato per la prima volta per il trattamento dell'epilessia in Francia; tuttavia, il primo studio controllato che ne documentava l'efficacia fu pubblicato solamente nel 1975 (Richens, 1975). Studi successivi ne riportarono l'efficacia anche in indicazioni diverse dall'epilessia, tra cui gli episodi maniacali nel disturbo bipolare. La recente scoperta della sua capacità di inibire l'istone deacetilasi ha riacceso l'interesse per nuove potenziali indicazioni, come ad esempio il cancro (Tomson, 2016).

#### 1.4. Scopo della tesi

L'obiettivo della tesi è di descrivere e analizzare le vie di sintesi, le proprietà chimiche, i meccanismi d'azione e il metabolismo dell'acido valproico per comprendere le sue molteplici applicazioni in ambito farmacologico.

## 2. DESCRIZIONE DEL FARMACO

### 2.1. Nomenclatura

Il VPA è l'acido 2-propilpenanoico. È noto anche come acido 2-dipropilacetico, acido 2-propilvalerico, DPA, e in molte altre varianti date da altre nomenclature particolari (Chang, 1979).

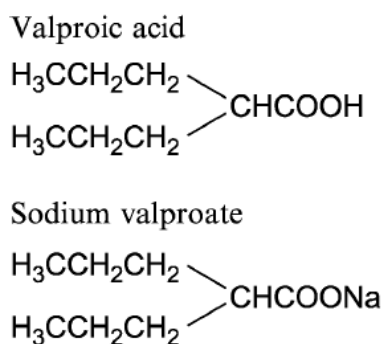
Come farmaco, il VPA è disponibile commercialmente con diversi nomi come Depakote, Depakote ER, Depakene, Depacon, Stavzor, Mylproin, Ergenyl, acido dipropilacetico, acido miproico, dipropilacetato e Convulex (Chateauvieux, 2010).

### 2.2. Formule, peso molecolare e Cas

In tabella 1 vengono riportati i dati riguardanti le formule, il peso molecolare e il numero Cas dell'acido valproico e del suo sale. In figura 2 vengono rappresentate le loro formule di struttura.

Tabella 1. Formula empirica, MW, Cas di VPA e sodio valproato.

	Formula Empirica	Peso Molecolare	Cas
Acido valproico	$C_8H_{16}O_2$	144.2	99-66-1
Sodio valproato	$C_8H_{15}NaO_2$	166.5	1069-66-5



**Figura 2.** Formule di struttura di VPA e del suo sale spesso utilizzato come farmaco.

### 2.3. Caratteristiche chimico-fisiche

Il VPA si presenta a temperatura ambiente come un liquido viscoso e incolore. Possiede un suo odore caratteristico.

Il suo sale sodico (sodio valproato) si presenta come una polvere cristallina bianca, igroscopica e deliquescente (Chang, 1979).

Il VPA è leggermente solubile in acqua. La sua solubilità è alta in acetone, alcol, cloroformio, etere, benzene, n-eptano, metanolo e idrossido di sodio 0,1 N; è leggermente solubile in acido cloridrico 0,1 N. Il sodio valproato è invece molto solubile in acqua e leggermente solubile in alcol (Alsarra, 2005).

Il VPA entra in ebollizione a 120-121 °C, mentre il sodio valproato si decompone o cambia composizione sopra i 300 °C (Alsarra, 2005).

Numerosi dati spettroscopici del VPA sono pure disponibili in letteratura (Alsarra, 2005; Chang, 1979).

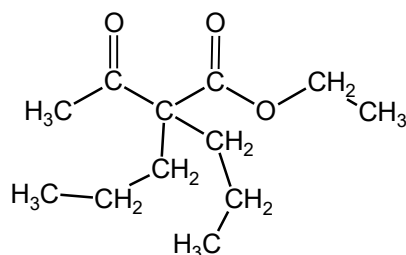
Il VPA risulta stabile a temperatura ambiente. La refrigerazione o il congelamento del soprannatante ottenuto da campioni di sangue contenenti il farmaco, non altera la concentrazione totale di acido valproico per 7 giorni.

VPA e sodio valproato dovrebbero essere conservati in contenitori ermetici di vetro, acciaio inossidabile o polietilene, a una temperatura inferiore a 40 °C, preferibilmente tra 15 e 30 °C (Alsarra, 2005).

## 3. SINTESI

### 3.1. La prima sintesi

Nella prima sintesi del VPA (Burton, 1882) Burton partì da osservazioni di suoi esperimenti precedenti, nei quali concludeva che, tramite la decomposizione del dipropil-etil acetoacetato (figura 3) con basi, si ottengono principalmente acidi organici.

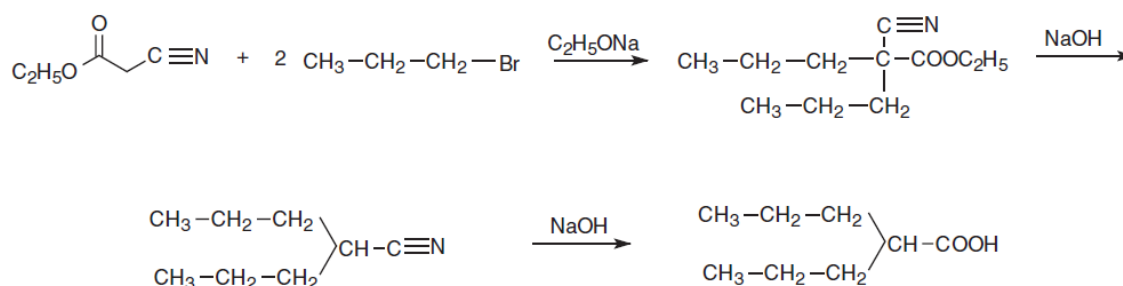


**Figura 3.** Struttura molecolare del dipropil-etil acetoacetato.

In particolare, il dipropil-etil acetoacetato fu trattato con una soluzione acquosa di potassa alcolica. In queste condizioni si innesca la reazione inversa alla condensazione di Claisen (quella che porta alla formazione dell'acetoacetato) e la contemporanea idrolisi dei due esteri formati. Dopo acidificazione e purificazione si ottenne il VPA (Burton, 1882).

### 3.2. La sintesi industriale convenzionale

Il processo industriale tradizionale ancora utilizzato per la preparazione dell'acido valproico (descritto nei brevetti di Labaz GB 15224.50, GB 1529786 e U.S. Pat. No. 4,155,929) consiste principalmente nella dialchilazione dell'etilcianoacetato con bromuro di propile in presenza di etossido di sodio, ottenendo così l'etil dipropilcianoacetato che viene convertito, in ambiente basico, in dipropil acetoneitrile che, mediante idrolisi alcalina, produce VPA (Santaniello, 1999). Il processo è illustrato in figura 4.



**Figura 4.** Sintesi convenzionale del VPA.  
(Vardanyan, 2006)

### 3.3. Una sintesi alternativa

Il processo convenzionale di sintesi industriale del VPA presenta una serie di problematiche:

- l'uso di sodio etossido comporta l'utilizzo, su scala industriale, di un ambiente di reazione sostanzialmente anidro e in aggiunta provoca problemi di smaltimento e di inquinamento complessi.
- La fase di decarbossilazione dell'etil dipropilcianoacetato richiede condizioni operative drastiche, alte temperature e prolungati tempi di reazione.
- Anche la conversione del derivato di nitrile in acido valproico richiede condizioni di idrolisi drastiche, alte temperature (circa 200°C) e tempi di reazione prolungati (oltre sei ore).

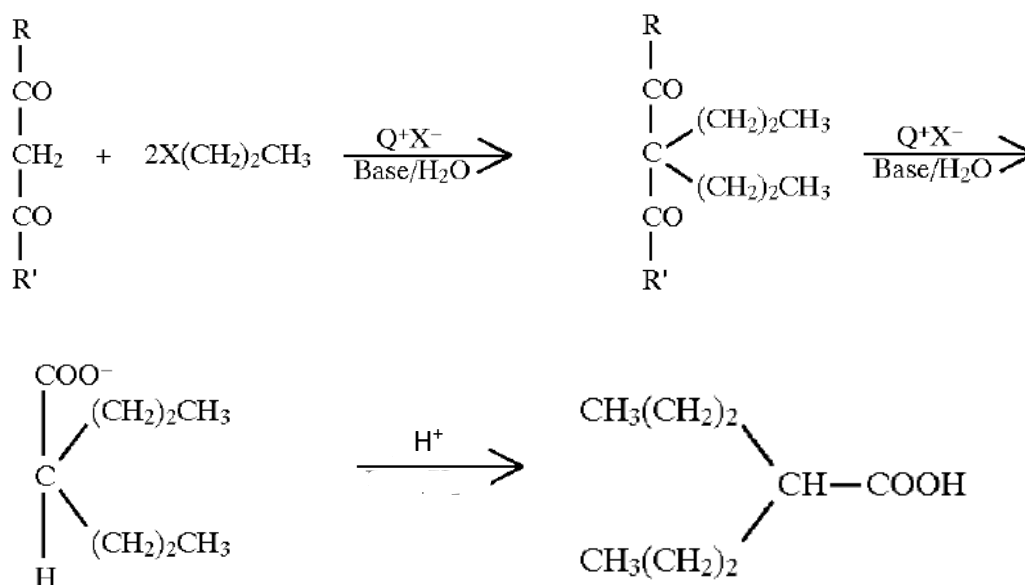
I suddetti svantaggi portano il processo convenzionale a risultare notevolmente costoso a causa della natura dei reagenti, del consumo di energia e della necessità di utilizzare dispositivi e tecnologie commisurate ai problemi di sicurezza e inquinamento intrinsecamente causati dal processo stesso.

Nel 1999 Santaniello brevetta un processo di sintesi migliorato del VPA con l'obiettivo di risolvere le problematiche elencate, nel quale l'uso di alcossidi, e in particolare dell'etosside di sodio, sia completamente evitato.

Il nuovo processo (figura 5) consiste nella dialchilazione di un beta-chetoestere con un alogenuro di propile in sistema bifasico costituito da una fase acquosa alcalina e una fase organica contenente il chetoestere e l'alogenuro alchilico. La novità del processo, che per il resto ricalca la sintesi di Burton, sta nella presenza nella fase acquosa di un catalizzatore di trasferimento di fase, ovvero un sale d'ammonio o fosfonio quaternario.

I prodotti della dialchilazione vengono poi fatti reagire in presenza di idrossido di sodio, ottenendo una fase acquosa contenente il sodio valproato.

In seguito ad acidificazione della fase acquosa che contiene il sale si ottiene l'acido valproico. Le temperature di esercizio di questo processo sono comprese tra i 70-80 °C. I tempi di reazione rimangono lunghi (oltre le sei ore).



**Figura 5.** Il processo di sintesi del VPA brevettato da Santaniello.

(Santaniello, 1999)

Anche la conversione del dialchil-beta-chetoestere nel sale (che avviene tramite una reazione inversa di Claisen) non viene effettuata secondo il metodo convenzionale, ovvero in presenza di metossido o etossido di sodio e metanolo o etanolo, ma in presenza di una base (ad esempio, NaOH) e un catalizzatore di trasferimento di fase.

Un esempio di catalizzatore di trasferimento di fase particolarmente preferito è il tetrabutilammonio bromuro (TBABr). Al termine della seconda fase del processo, nel quale la miscela di reazione viene fatta reagire con base, si può anche recuperare il catalizzatore (tramite estrazione con fase organica e successiva precipitazione e filtrazione) e riutilizzato.



L'eliminazione dell'etossido di sodio dal processo, la riduzione della temperatura di esercizio e il recupero del catalizzatore comportano una parziale o totale risoluzione dei problemi economici, energetici, tecnologici e ambientali del precedente processo convenzionale (Santaniello, 1999).

#### **4. MECCANISMI D'AZIONE DEL FARMACO (FARMACODINAMICA)**

È stato dimostrato come il VPA possa ridurre l'incidenza di crisi epilettiche parziali o complesse e di emicranie. Inoltre, migliora il controllo dei sintomi nella mania bipolare. Sebbene i meccanismi esatti responsabili non siano stati ancora del tutto chiariti, si ritiene che l'acido valproico produca un aumento dell'inibizione corticale per contribuire al controllo della sincronia neurale. Si ritiene che il valproato eserciti un effetto neuroprotettivo, prevenendo danni e degenerazione neurale nell'epilessia, nelle emicranie e nel disturbo bipolare (Rosenberg, 2007).

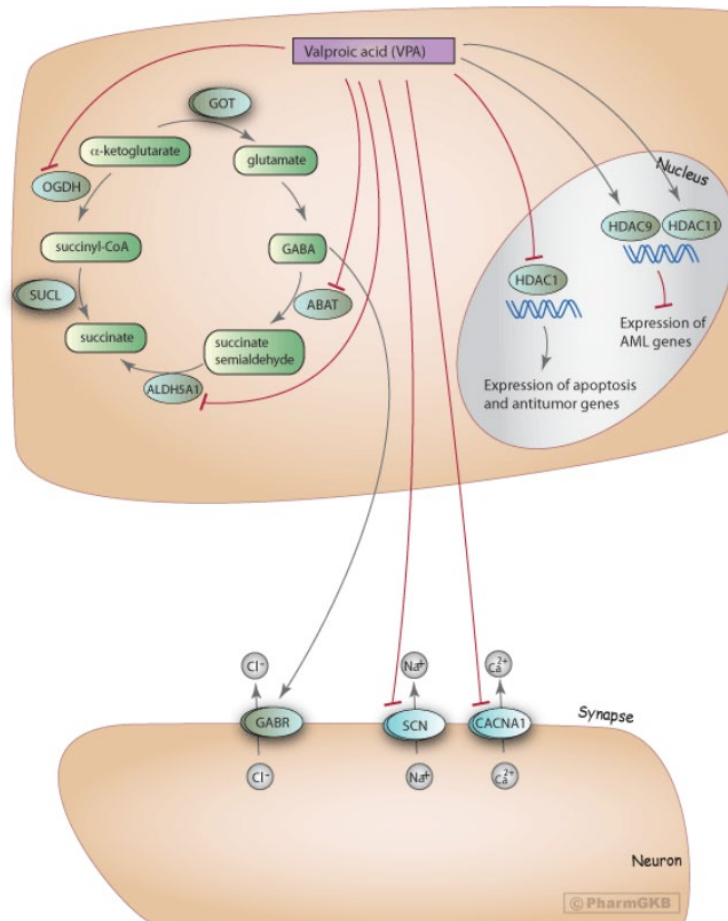
Il VPA esplica i suoi effetti farmacodinamici in modi diversi:

- agendo sui livelli di acido gamma-amminobutirrico (GABA) nel cervello;
- bloccando i canali ionici voltaggio-dipendenti;
- agendo anche come inibitore delle istoni deacetilasi (HDACi) (figura 6).

Sul GABA, un neurotrasmettitore inibitorio, il VPA agisce prevenendone la degradazione mediante soppressione della sua transaminazione e la conseguente promozione della sua sintesi.

Recentemente è stata scoperta l'azione inibitoria su varie istone deacetilasi da parte del VPA, il che potenzialmente aumenta l'espressione di geni coinvolti nell'apoptosi e nell'azione antitumorale. Questa sua proprietà viene ora studiata per essere sfruttata in terapie contro la leucemia e alcuni tumori solidi. È stato anche dimostrato come il VPA mostri una selettività cellulare attenuando l'attività di HDAC6 e HDAC8 in un modello di ipertrofia cardiaca.

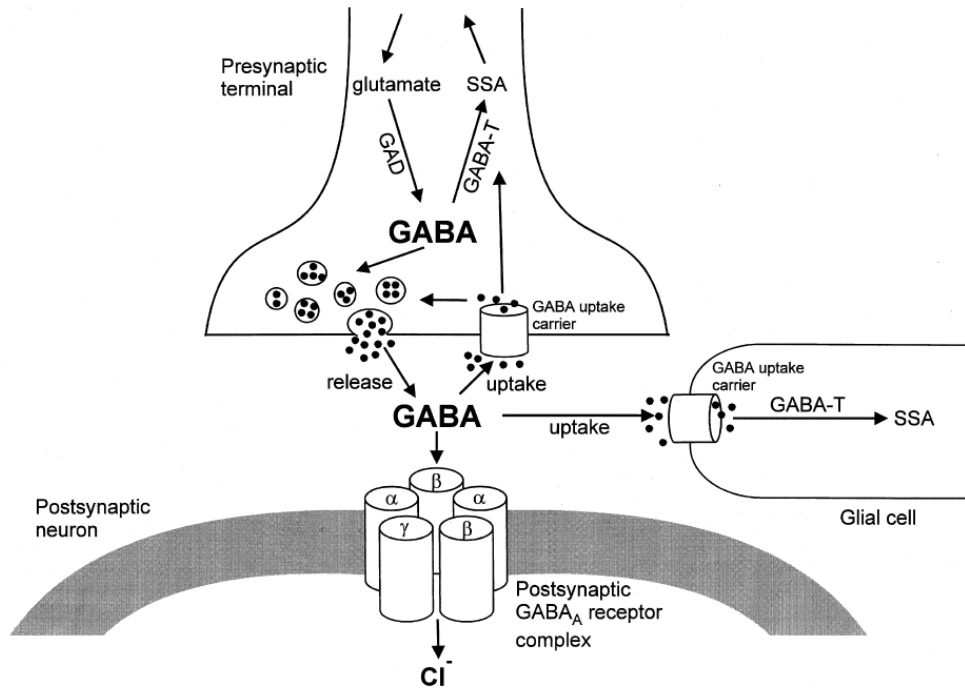
Complessivamente, è chiaro come il VPA eserciti diverse azioni farmacologiche attraverso meccanismi diversi e come possa essere considerato un farmaco innovativo e poliedrico (Singh, 2021).



**Figura 6.** Rappresentazione schematica della farmacodinamica del VPA.  
(Ghodke-Puranik, 2013)

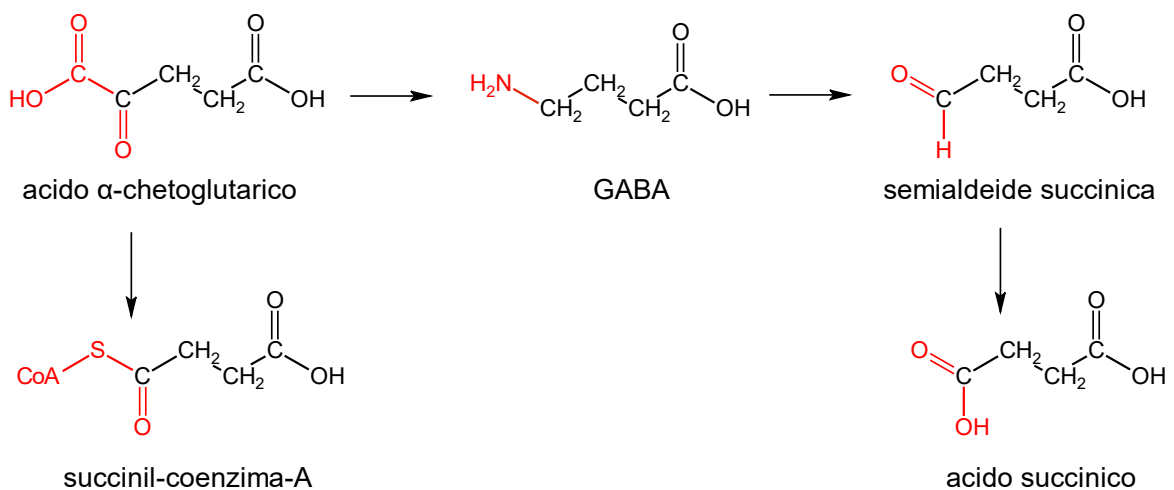
#### 4.1. Effetto inibitorio su GABA

Sembra generalmente accettato che il deterioramento della neurotrasmissione inibitoria GABAergica possa portare a convulsioni, mentre un suo potenziamento produca effetti anticonvulsivanti. Non sorprende quindi che i primi rapporti sull'aumento del GABA nel cervello da parte del valproato abbiano portato a concludere che l'aumento della neurotrasmissione GABAergica sia il meccanismo d'azione anticonvulsivante del farmaco. L'effetto del VPA sul sistema GABAergico è stato ipotizzato per la prima volta negli anni '70 (1968); questo meccanismo d'azione è tuttora oggetto di dibattito nella letteratura scientifica. La compromissione dell'attività inibitoria GABAergica può portare quindi a convulsioni, rendendo il controllo di questa via un obiettivo per gli anticonvulsivanti e gli antiepilettici. L'attività inibitoria GABAergica avviene nel cervello in sinapsi specifiche tramite processi pre- e postsinaptici (figura 7).



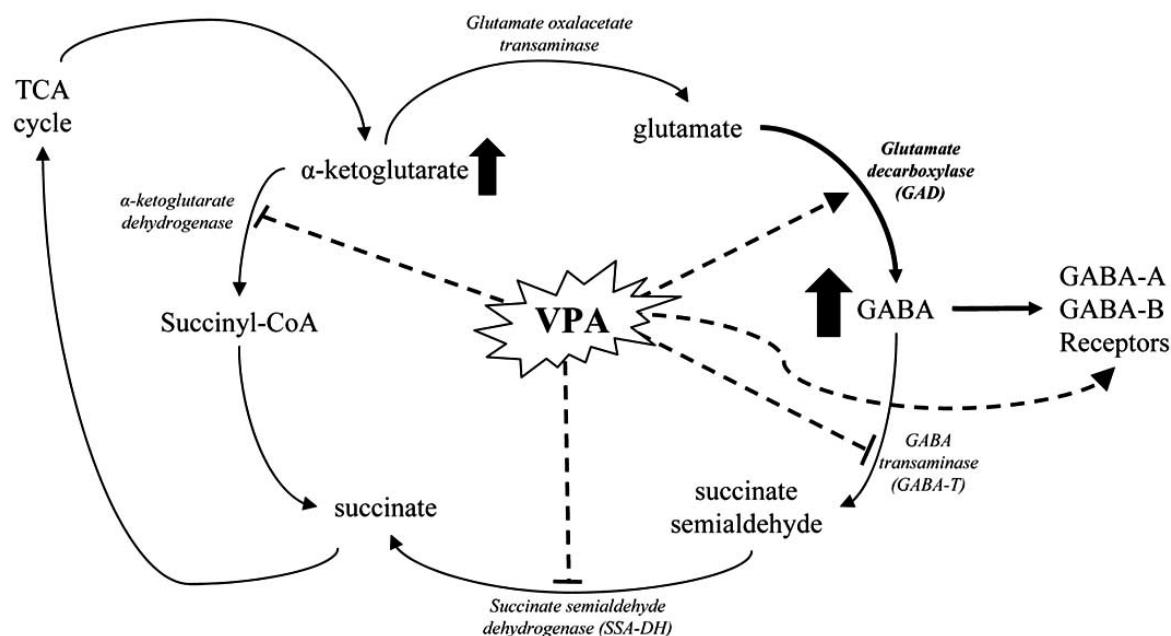
**Figura 7.** Illustrazione schematica di una sinapsi inibitoria GABAergica nel cervello con i processi pre- e postsinaptici coinvolti nella trasmissione GABAergica. (Löscher, 1999)

Il GABA si forma dall' $\alpha$ -chetoglutarato, un intermedio del ciclo dell'acido citrico (ciclo di Krebs). Viene metabolizzato in semialdeide succinica (SSA) dalla GABA transaminasi (ABAT) e successivamente in succinato dalla succinato semialdeide deidrogenasi (ALDH5A1). L' $\alpha$ -chetoglutarato può anche essere convertito in succinil-CoA mediante l'azione dell' $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi (OGDH), deviandolo dalla formazione di GABA (figura 8).



**Figura 8.** Biosintesi e biodegradazione del GABA. La formazione di succinil-CoA limita la formazione di GABA.

Studi ex vivo e in vitro hanno dimostrato che il VPA inibisce ABAT e ALDH5A1, entrambi coinvolti nella via di degradazione del GABA. Uno studio in vitro ha anche mostrato che l'OGDH è inibito dal VPA ad alta concentrazione (Ghodke-Puranik, 2013). In figura 9 viene mostrato schematicamente il meccanismo d'azione del VPA sul metabolismo del GABA.



**Figura 9.** Meccanismo d'azione del VPA sul metabolismo del GABA. Le linee tratteggiate indicano l'azione inibitoria (⊥) o attivante (→) del VPA verso i diversi enzimi coinvolti. Le frecce nere verso l'alto indicano un aumento dell'effetto della specie mostrata.

(Monti, 2006)

#### 4.2. Effetto sui canali ionici

Oltre all'aumento dei livelli di GABA, il VPA può anche avere attività antiepilettica riducendo l'eccitabilità neuronale ad alta frequenza bloccando i canali voltaggio-dipendenti di sodio, potassio e calcio (Ghodke-Puranik, 2013).

In particolare, è stato dimostrato che il VPA agisce sui canali del sodio voltaggio-dipendenti, sia inibendo la loro attività che la loro espressione. Il VPA sopprime l'eccitabilità neuronale mediata dalle correnti di sodio e allo stesso tempo, aumenta l'espressione sulla superficie cellulare dei canali del sodio tramite meccanismi di trascrizione/traduzione dipendenti; questo meccanismo porta al potenziamento della regolazione dei canali del calcio. L'effetto del VPA sui canali del potassio è ancora poco chiaro.

Nel complesso, il ruolo della regolazione da parte del VPA delle correnti ioniche nella neuroprotezione è ancora poco compreso, poiché anche in questo caso l'eccitabilità può essere sia ridotta che aumentata. Dai dati disponibili è sicuro concludere che gli effetti diretti del VPA sui canali ionici voltaggio-dipendenti sono probabilmente meno importanti nella

neuroprotezione, e conseguentemente nelle proprietà antiepilettiche, rispetto ad altri meccanismi coinvolti nella regolazione delle vie cellulari (Monti, 2006).

#### **4.3. Proprietà antiossidanti neuroprotettive**

Il VPA contribuisce alla neuroprotezione anche per la sua proprietà di difesa contro lo stress ossidativo. Testato su cellule di neuroblastoma umano (SH-SY5Y) sottoposte a stress ossidativo e stress dell'apparato del reticolo endoplasmatico, ne ha ridotto la vulnerabilità.

Il glutatione, il principale antiossidante endogeno nel cervello, svolge un ruolo chiave nella difesa contro i danni ossidativi. Il trattamento cronico con VPA aumenta i livelli di glutatione. Il VPA inibisce la morte cellulare indotta dall'acqua ossigenata nelle cellule corticali primarie coltivate attraverso la regolazione dei livelli di glutatione. Inoltre, il trattamento cronico con VPA inibisce significativamente l'aumento del calcio libero intracellulare, la perossidazione lipidica, l'ossidazione proteica, la frammentazione del DNA e la morte cellulare indotta dal glutammato nelle cellule corticali primarie coltivate, suggerendo una precisa correlazione tra neuroprotezione e riduzione del carico ossidativo. In termini più generali, la promozione della difesa antiossidante potrebbe essere uno dei meccanismi primari alla base della neuroprotezione del VPA (Monti, 2006).

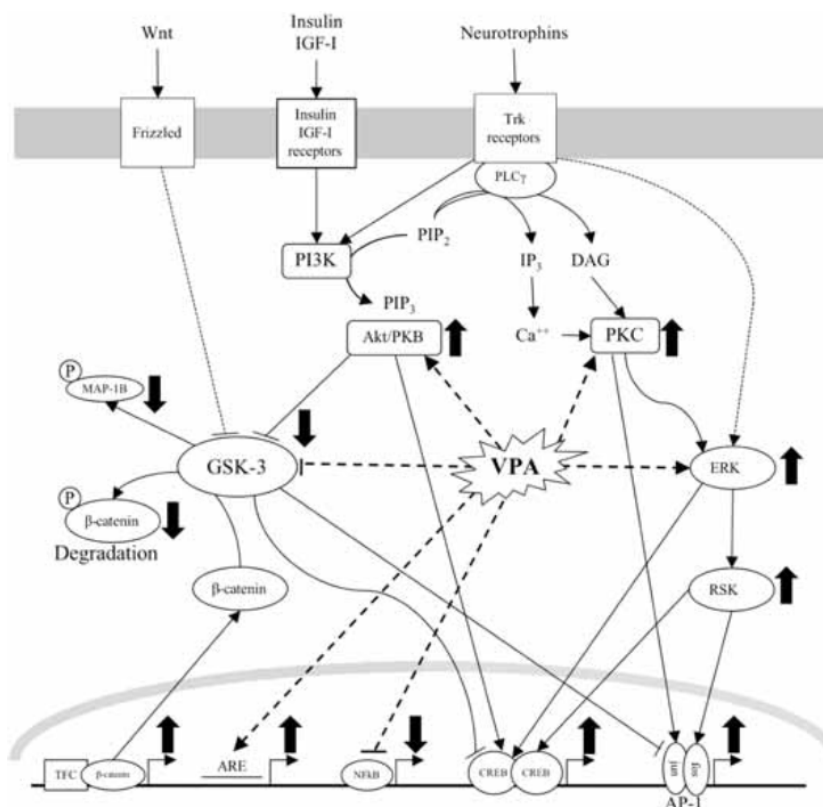
#### **4.4. Effetto sui percorsi metabolici delle chinasi**

Il ruolo dell'acido valproico nelle vie delle chinasi è ben stabilito. In particolare, il VPA attiva varie chinasi della via di segnalazione PI3K/Akt, come la Proteina Chinasi B (PKB) e la chinasi lipidica Fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI3K); su altre chinasi ha effetto di inibizione, come per la Glicogeno Sintasi Chinasi 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ).

La via di segnalazione PI3K/Akt svolge un ruolo critico nella trasmissione di segnali di sopravvivenza nei neuroni; il VPA influenza questa via, secondo l'ipotesi che il farmaco partecipi al ciclo del fosfoinositolo, in modo da portare alla deplezione dell'inositolo cellulare (inositolo 1,4,5-trifosfato) e di conseguenza all'attenuazione della segnalazione dei fosfoinositidi. Il ciclo del fosfoinositolo è particolarmente importante per spiegare l'effetto del VPA sulla neuroprotezione, essendo strettamente legato alla via di PI3K/PKB o Akt, che svolge un ruolo fondamentale nella sopravvivenza neuronale.

Un effetto opposto è stato dimostrato per il VPA nei confronti della Glicogeno Sintasi Chinasi 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ). Si tratta di una serina/treonina proteina chinasi coinvolta in molteplici processi cellulari, tra cui la sopravvivenza neuronale, e la cui disfunzione è correlata alla patogenesi di diverse malattie cerebrali. La GSK-3 $\beta$  svolge un ruolo critico nel sistema nervoso centrale, regolando diverse proteine del citoscheletro, nonché eventi nucleari a lungo termine, ed è un bersaglio comune per il VPA. Il farmaco agisce aumentando la fosforilazione inibitoria della GSK-3 $\beta$ .

Il coinvolgimento del VPA in così tanti e così importanti meccanismi regolati dalle chinasi cellulari sottolinea l'enorme potenziale di questo farmaco nella partecipazione ai meccanismi fondamentali della funzione o disfunzione cellulare (Monti, 2006). Le principali vie cellulari influenzate dal VPA e discusse in precedenza sono riassunte nella figura 10.



**Figura 10.** Schema dell'azione del VPA sui percorsi intracellulari delle chinasi. Le linee tratteggiate indicano l'azione inibitoria ( $\perp$ ) o attivante ( $\rightarrow$ ) del VPA. Le frecce nere rivolte verso l'alto e verso il basso indicano, rispettivamente, una diminuzione e un aumento dell'effetto del VPA sull'attività enzimatica o di trascrizione.

(Monti, 2006)

#### 4.5. Effetto sull'espressione genica

L'acido valproico è stato dimostrato esercitare i suoi effetti sulla regolazione dell'espressione genica attraverso due meccanismi principali:

- agendo sui fattori di trascrizione, attraverso la regolazione della fosforilazione,
- influenzando la modulazione epigenetica dell'espressione genica, attraverso l'inibizione delle istoni deacetilasi (HDACs).

Il VPA influenza il fattore di trascrizione Activator Protein-1 (AP-1), il quale agisce su diverse funzioni cerebrali, come lo sviluppo, la plasticità e la neurodegenerazione. Il trattamento con VPA di cellule di glioma di ratto aumenta in modo dipendente dalla concentrazione e dal tempo l'attività di legame del DNA di AP-1. Nelle cellule neuroblastoma umane, a

concentrazioni terapeuticamente rilevanti, il VPA potenzia in modo significativo l'espressione genica mediata da AP-1.

Il VPA può regolare l'espressione genica anche attraverso un meccanismo distinto dalla regolazione epigenetica della trascrizione. Infatti, il VPA inibisce efficacemente le HDACs, regolatori dell'espressione genica in molteplici contesti, a livelli terapeuticamente rilevanti attraverso il controllo del ciclo cellulare, la differenziazione, la riparazione del DNA e l'apoptosi. Il VPA inibisce l'attività delle HDACs, molto probabilmente legandosi al centro catalitico dell'enzima (Monti, 2006).

Il VPA, così come altri inibitori delle HDACs, può alterare l'espressione di molti geni. Le proteine corrispondenti di questi geni svolgono importanti ruoli nell'attività cellulare e potrebbero influenzare diversi meccanismi fondamentali come la regolazione del ciclo cellulare, la differenziazione, l'apoptosi e la riparazione del DNA. Pertanto, sono stati riportati in letteratura diversi studi di ricerca. Ad esempio, è stato dimostrato come il valproato possa ridurre l'attività di HDAC6 e HDAC8 in un modello che simula l'ipertrofia cardiaca. Nella fibrosi renale, il VPA ha inibito l'effetto di HDAC4/5. Ha inoltre soppresso l'attività di HDAC1/2 nella fibrosi epatica. La soppressione delle HDACs è correlata ad effetti benefici per diverse malattie neuronali in quanto le HDACs di classe I e II influenzano l'attività neuronale (Singh, 2021) (figura 6).

## **5. METABOLISMO (FARMACOCINETICA)**

Il VPA è altamente legato alle proteine (87-95%), il che comporta una bassa clearance (6-20 ml/h/kg).

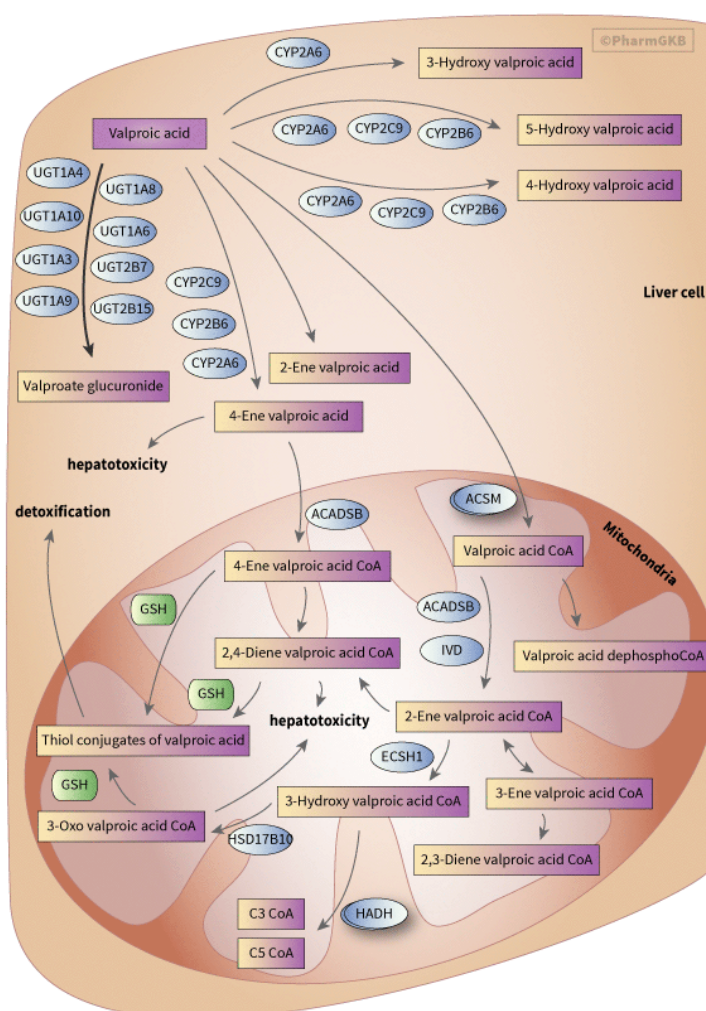
Esistono almeno tre vie di metabolismo del VPA negli esseri umani: la glucuronidazione, l'ossidazione beta nei mitocondri (entrambe considerate le principali vie responsabili rispettivamente del 50% e del 40% della dose) e l'ossidazione mediata dal citocromo P450 (CYP) (considerata una via minore, circa il 10%) (figura 11).

Il glucuronide di valproato è il principale metabolita urinario del VPA (circa il 30-50%).

Il VPA è un acido grasso e può essere metabolizzato attraverso le vie endogene nei mitocondri. È stato osservato che alcuni dei metaboliti mitocondriali del VPA generati da questa via sono epatotossici. La comprensione attuale della bioattivazione del VPA coinvolge l'ingresso del 4-ene-VPA nei mitocondri, la formazione di un estere 4-ene-VPA-CoA con l'aiuto di ACADSB (il gene associato all'acil-CoA deidrogenasi coinvolto nel metabolismo di acidi grassi a catena corta ramificata) e successiva  $\beta$ -ossidazione per formare il reattivo estere 2,4-diene-VPA-CoA. Questo presunto metabolita citotossico viene successivamente coniugato con glutazione per formare coniugati tiolici. Questi metaboliti chimicamente reattivi

generati da 4-ene-VPA hanno il potenziale per esaurire le riserve mitocondriali di glutatione e formare coniugati con CoA, inibendo a loro volta gli enzimi della via di  $\beta$ -ossidazione. L'identificazione dei coniugati di N-acetilcisteina di (E)-2,4-diene-VPA nelle urine umane ha dimostrato che i coniugati tiolici reattivi del VPA derivano principalmente dalla biotrasformazione di (E)-2,4-diene-VPA negli esseri umani.

Il ramo chiave mediato dal CYP della via del VPA è la generazione del metabolita 4-ene-VPA da parte del CYP2C9, CYP2A6 e, in misura minore, dal CYP2B6. Inoltre, questi enzimi metabolizzanti mediano anche il metabolismo del VPA ai metaboliti inattivi 4-OH-VPA e 5-OH-VPA. Il CYP2A6 contribuisce anche parzialmente alla formazione di 3-OH-VPA (Ghodke-Puranik, 2013).



**Figura 11.** Illustrazione schematica della farmacocinetica del VPA.  
(Ghodke-Puranik, 2013)



## 6. VPA E RICERCA

Tra i tanti farmaci chiamati "terapie molecolari", i farmaci epigenetici sono tra i più promettenti, perché, a differenza di altri farmaci che mirano all'espressione di una singola molecola o di una famiglia di molecole, essi agiscono sulla cromatina attraverso le proteine ad essa associate (e.g. HDACs, DNMT, HP1 e SMCs). Pertanto, i farmaci epigenetici influenzano l'espressione di molte proteine e possono quindi essere applicati a un'ampia gamma di patologie, in particolare al cancro, dove numerosi geni anti oncogeni sono repressi durante la carcinogenesi. I farmaci epigenetici potrebbero particolarmente mirare a questi geni soppressori tumorali repressi (Chateauvieux, 2010).

Il VPA, essendo in grado di modulare l'espressione genica attraverso le HDACs, può rientrare in questa classe di farmaci. Infatti, la ricerca più recente sta mostrando come il VPA possa essere una terapia molecolare per un ampio range di malattie.

### 6.1. Malattie neurodegenerative

Molte delle malattie neurodegenerative hanno cause genetiche. L'atrofia muscolare spinale (SMA) è causata dalla perdita omozigote del gene SMN1 (proteina di sopravvivenza dei motoneuroni). Gli effetti della perdita di questo gene possono essere modulati dall'espressione della proteina FI-SMN2, che determina la gravità della malattia. Il VPA è un candidato promettente per le terapie di sovraespressione di FI-SMN2, poiché è stato dimostrato che è in grado di aumentare sia i livelli di trascritto che di proteina SMN nei pazienti affetti da SMA. Tuttavia, la specificità di bersaglio di diversi membri degli inibitori di HDAC riduce la loro efficacia e potrebbe portare alla scelta di molecole meno specifiche.

La malattia di Parkinson (PD) è causata dalla degenerazione dei neuroni dopaminergici nigrostriatali. Recenti studi in vitro hanno mostrato gli effetti positivi del VPA in modelli che mimano la PD.

Studi clinici precedenti hanno mostrato una mancanza di attività del VPA nei pazienti affetti dalla malattia di Huntington (HD) (il che può sorprendere se si considera che la spiegazione molecolare di questa malattia coinvolge la ridotta trascrizione genica dovuta a livelli ridotti di acetilazione degli istoni). Tuttavia, uno studio recente ha dimostrato che l'uso di dosi elevate di VPA è in grado di prolungare l'aspettativa di vita (Chateauvieux, 2010).

## **6.2. Terapie antitumorali**

La deacetilazione dell'istone e la metilazione del DNA sono meccanismi coinvolti nella resistenza alla chemioterapia attraverso la protezione delle cellule cancerose mediante il silenziamento di geni anti-tumorali cruciali. Si suppone che gli inibitori delle istone deacetilasi agiscano attraverso la stimolazione o la derepressione di geni soppressori tumorali silenziati. Gli HDAC hanno un impatto fondamentale sulla rimodellazione della cromatina ed epigenetica, conferendo ai loro inibitori un ruolo importante nella ricerca di terapie contro il cancro (Singh, 2021).

## **7. CONCLUSIONI**

Il VPA è stato introdotto nella pratica clinica casualmente cinque decenni fa. Oggi, il valproato viene utilizzato per trattare molte malattie, tra le quali l'epilessia e il disturbo bipolare; la sua utilità e tollerabilità in diverse patologie sono ben consolidate. Le informazioni provenienti da molti studi preclinici e clinici indicano che il VPA potrebbe agire in modi differenti attraverso meccanismi molecolari ancora sconosciuti.

La capacità del VPA di agire attraverso l'espressione genica ha portato la ricerca a studiare ulteriormente le potenzialità del farmaco in trattamenti delicati come le terapie antitumorali. Le molteplici applicazioni del VPA in terapie consolidate o in fase di ricerca mostrano le potenzialità del farmaco in campo medico nel prossimo futuro.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Alsarra, I. A.; Al-Omar, M.; Belal, F. "Valproic Acid and Sodium Valproate: Comprehensive Profile" *PROFILES OF DRUG SUBSTANCES, EXCIPIENTS, AND RELATED METHODOLOGY*, vol. 32; Brittain, H. G.; Elsevier, **2005**; pp 209-240.
- Burton, B.S.; *Am. Chem. J.* **1882**, 3, 385–95.
- Chang, Z. L. "SODIUM VALPROATE AND VALPROIC ACID" in *Analytical Profiles of Drug Substances, Volume 8*; Florey, K. (Eds); Academic Press Inc.: New Jersey, 1979; pp 529-556.
- Chateauvieux, S.; Morceau, F.; Dicato, M.; Diederich, M. *J. Biomed. Biotechnol.* **2010**. Article ID 479364.
- Fisher, R. S. *Epilepsia* **2014**, 55, 475-482.
- Grande, I. *www.thelancet.com* **2015**, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00241-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00241-X); accesso in rete 03/05/2023.
- Ghodke-Puranik, Y.; Thornd, C.F.; Lamba, J.K.; Leederf, J.S.; Songa, W.; Birnbauma, A.K.; Altmand, R.B.; Klein, T.E. *Pharmacogenet. Genom.* **2013**, 23, 236-241.
- Löscher, W. *Progress in Neurobiology* **1999**, 58, 31-59.
- Monti, B.; Polazzi, E.; Contestabile, A. *Current Molecular Pharmacology* **2009**, 2, 95-109.
- Richens A.; Ahmad S. *BMJ* **1975**, 4, 255-56.
- Rosenberg, G. *Cell. Mol. Life Sci.* **2007**, 64, 2090-2103.
- Santaniello, M. et al. "Process for production of valproic acid"; European Patent EP 0 835 859 B1, 2000.
- Santaniello, M. et al. "Process for production of valproic acid"; US Patent 5,856,569, 1999.
- Singh, D; Gupta, S.; Verma, I.; Morsy, M.A.; Nair, A.B.; Ahmed, Al-S.F. *Biomed. Pharmacother.* **2021**, 142, 112021.
- Tomson T.; Battino D.; Perucca E. *Lancet Neurol.* **2016**, 15, 210-218.
- Vardanyan, R.S.; Hruby V.J. *Synthesis of Essential Drugs*; Elsevier Science, 2006; pp 125-130.