

Recettori

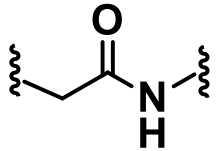
Recettore

Qualsiasi macromolecola biologica a cui un farmaco si lega per dare inizio ai propri effetti.

- 1) Un recettore è una macromolecola caratterizzata da ***aree chemiorecetttrici specifiche***.
- 2) La specificità del sito recettoriale è ***geneticamente determinata*** per una particolare molecola endogena come pure geneticamente fissata è la sua funzione.
- 3) L'interazione con agonisti, siano essi endogeni o farmaci, causa una specifica perturbazione, un ***cambio conformazionale***, che dà inizio ad una catena di eventi che producono una risposta biologica.

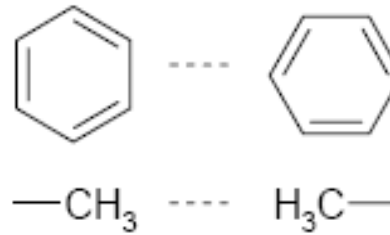
Interazioni Farmaco-Recettore

proteina ligando



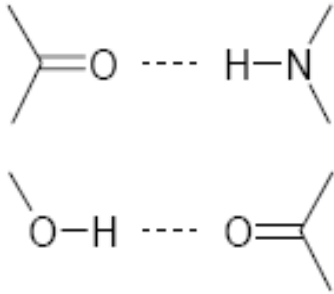
Legame covalente
irreversibile

proteina ligando



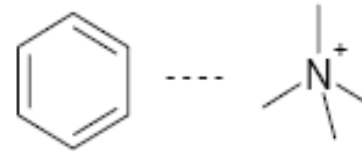
Interazioni di Van der Waals (π -stacking e idrofobiche)

proteina ligando



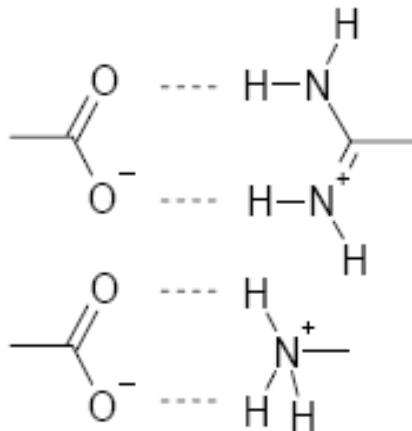
Legame a idrogeno
dipende da distanza e orientamento relativi di accettore e donatore

proteina ligando



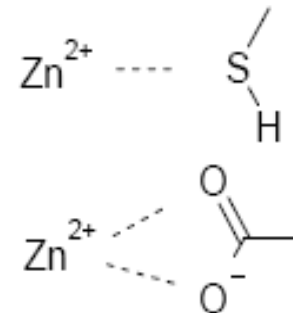
Interazioni cation- π
tra un gruppo carico positivamente e la nuvola di elettroni π di un sistema aromatico

proteina ligando



Interazioni ioniche
dipende da distanza e orientamento relativi di accettore e donatore

proteina ligando



Coordinazione di ioni metallici

Interazioni Farmaco-Recettore

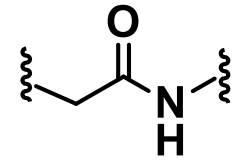
Tipo di legame

Energia (kcal/mol)

Esempio

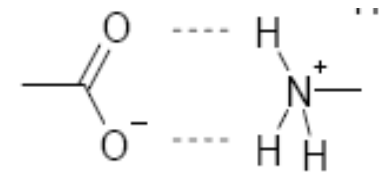
Covalente

40-140



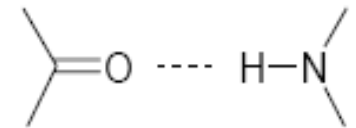
Ionico

5-10



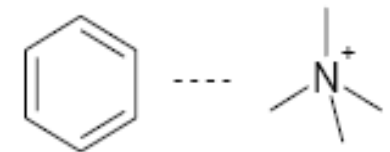
Idrogeno

1-7



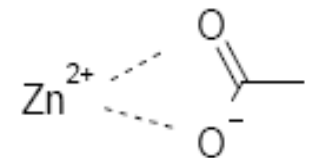
Cation- π

5-10



Chelazione

5-10



Interazioni Farmaco-Recettore

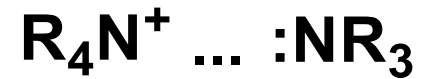
Tipo di legame

Energia (kcal/mol)

Esempio

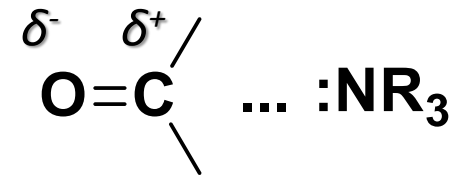
Ione-dipolo

1-7



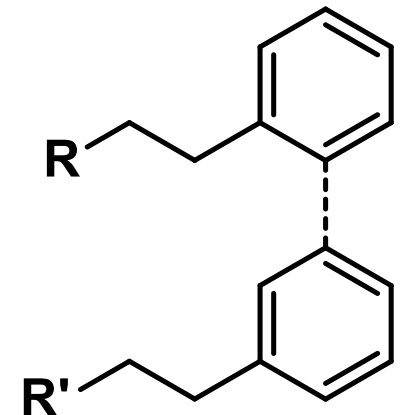
Dipolo-dipolo

1-7



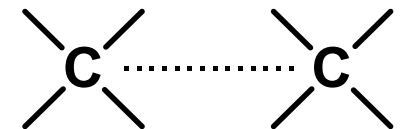
π -stacking

1



van der Waals

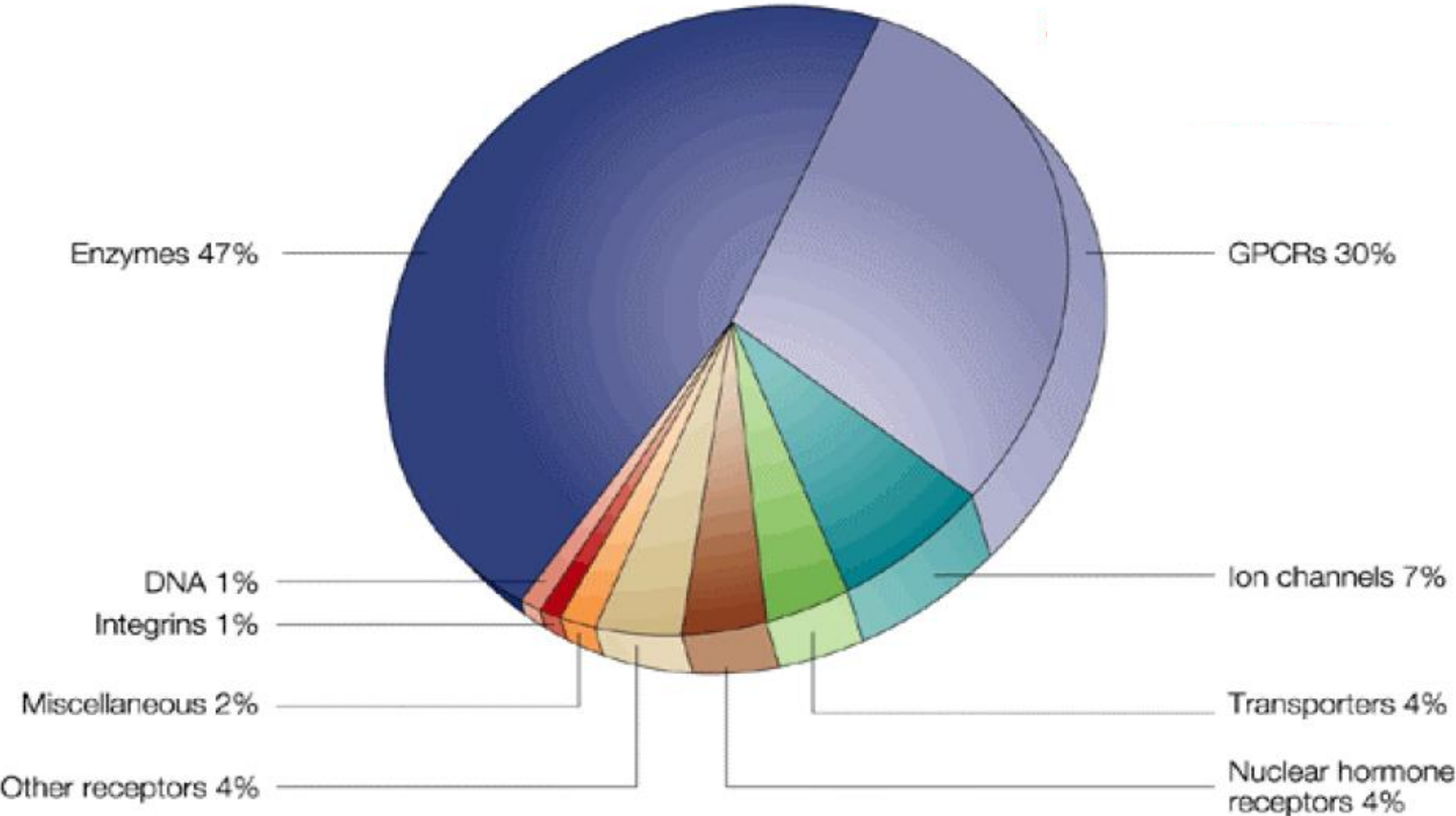
0,5-1



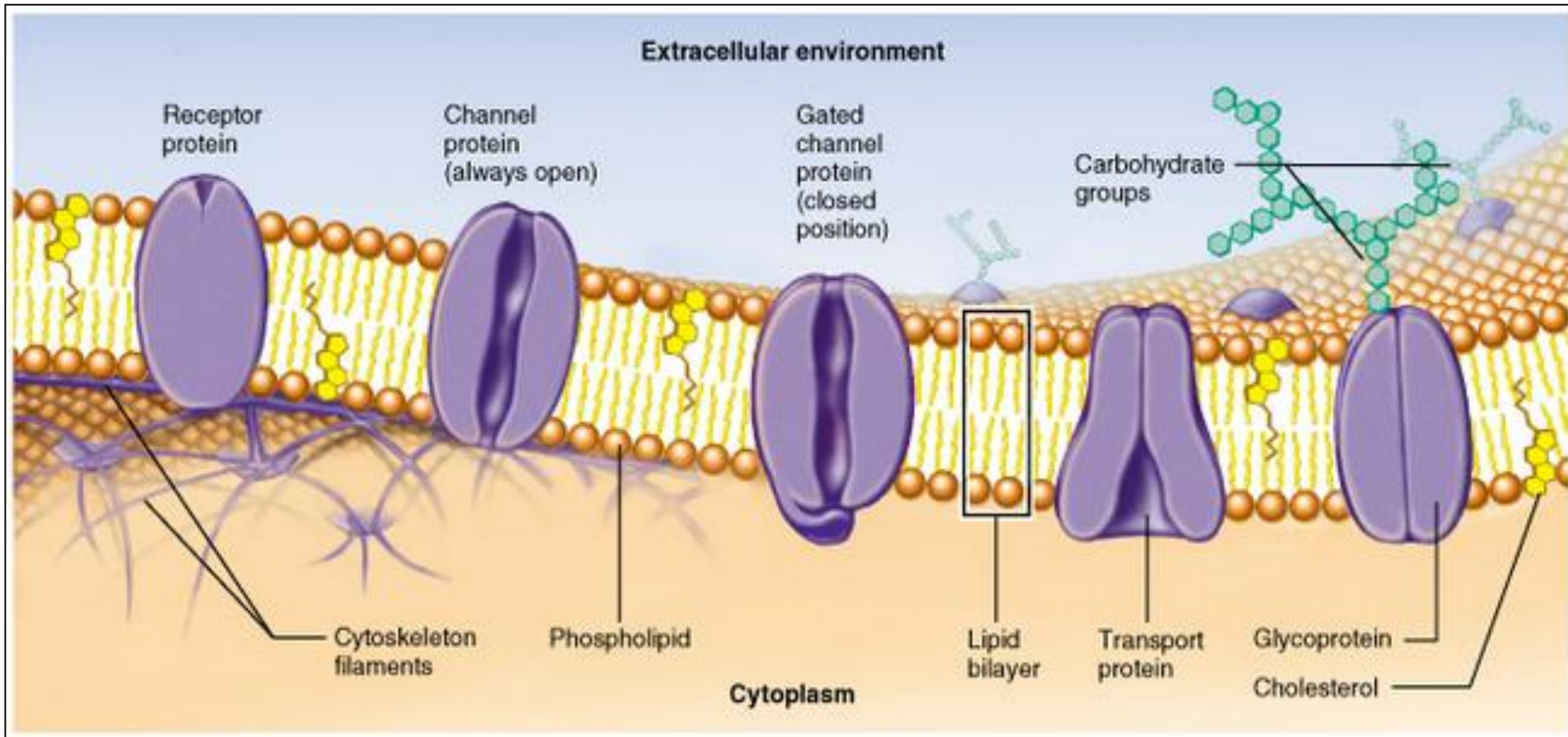
Recettori e relative classi di farmaci

RECETTORE	FARMACI
Enzimi	Inibitori reversibili e irreversibili
Recettori di Membrana	Agonisti e Antagonisti
Recettori Nucleari	Agonisti e Antagonisti
Recettori Citosolici	Agonisti e Antagonisti
Canali Ionici	Bloccanti e Openers
Trasportatori	Inibitori dell'Uptake
DNA	Agenti alchilanti, Groove binders, Intercalanti, Falsi substrati

Classi di Recettori e Farmaci in Commercio



Membrana Citoplasmatica



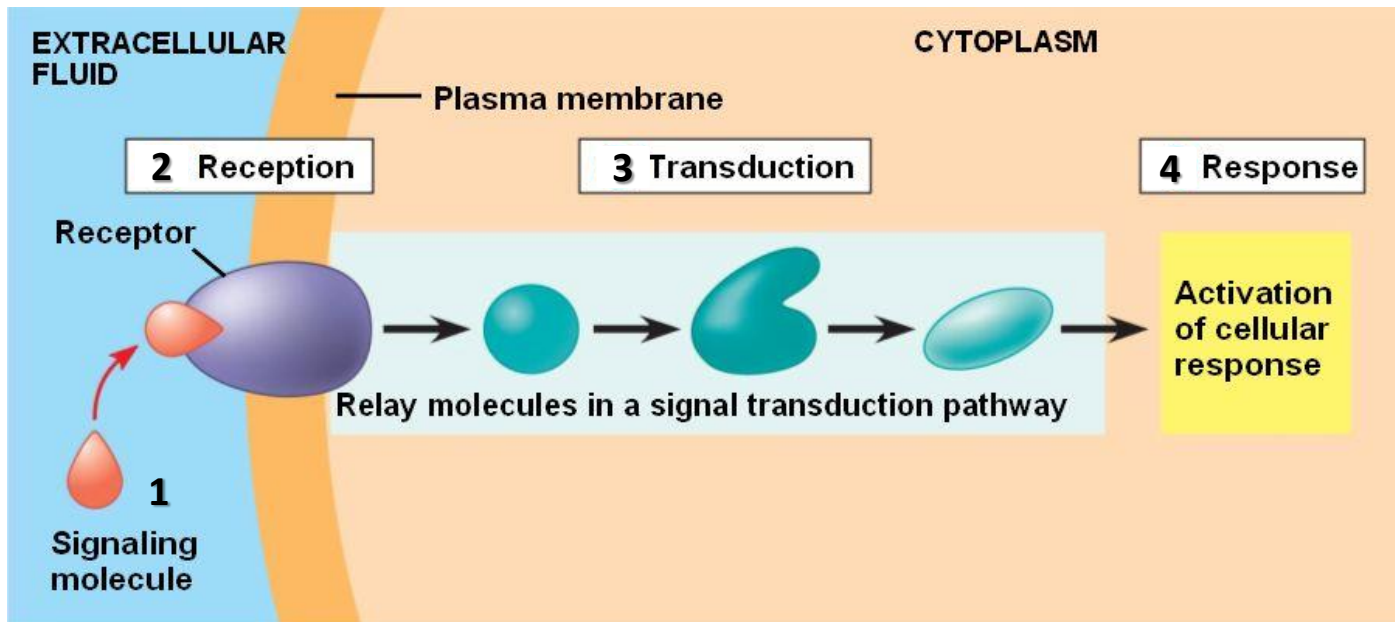
*La cellula non agisce mai, **reagisce**; e non reagisce che per restaurare l'ambiente interno: essa è un meccanismo fisico-chimico concentrato tutto su se stesso, integratore di se stesso, che lavora soltanto per preservare se stesso.*

La Segnalazione Cellulare

- Le cellule degli organismi pluricellulari più complessi sono specializzate e svolgono funzioni specifiche in modo coordinato
- Il coordinamento si realizza attraverso meccanismi di **segnalazione cellulare**
- La segnalazione cellulare riguarda i meccanismi di:
 - comunicazione intercellulare
 - controllo delle condizioni dell'ambiente
 - risposta agli stimoli extracellulari
- Di grande interesse sono i processi che regolano:
 - crescita e divisione cellulare
 - morte programmata (apoptosi)

La Segnalazione Cellulare: Fasi

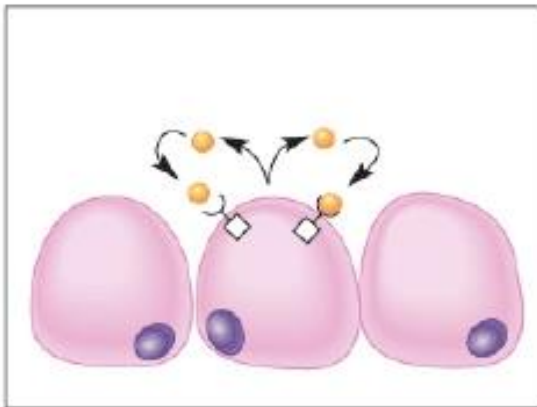
1. Rilascio di molecole segnale (**primo messaggero**): possono rispondere a tali segnali soltanto le cellule che esprimono recettori specifici
2. Le molecole segnale (ligandi) riconoscono il proprio recettore
3. L'interazione ligando-recettore innesca un segnale che si propaga dalla membrana all'interno della cellula
4. Si genera la risposta cellulare



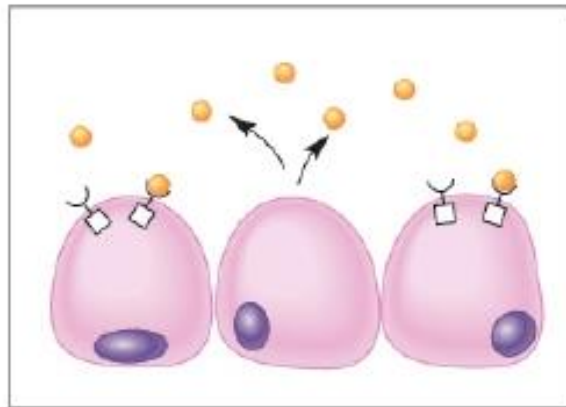
La Segnalazione Cellulare

A seconda del bersaglio cellulare su cui agiscono le molecole segnale, la segnalazione cellulare si definisce:

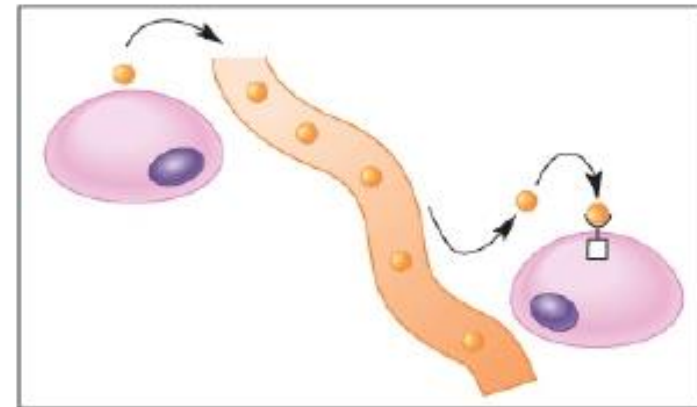
- **autocrina**, se il bersaglio è la stessa cellula che ha emesso il segnale
- **paracrina**, se il bersaglio è una cellula prossima a quella che ha emesso il segnale
- **endocrina**, se la molecola segnale viene immessa nel torrente circolatorio (es. ormone) per raggiungere i tessuti bersagli



Segnalazione autocrina



Segnalazione paracrina



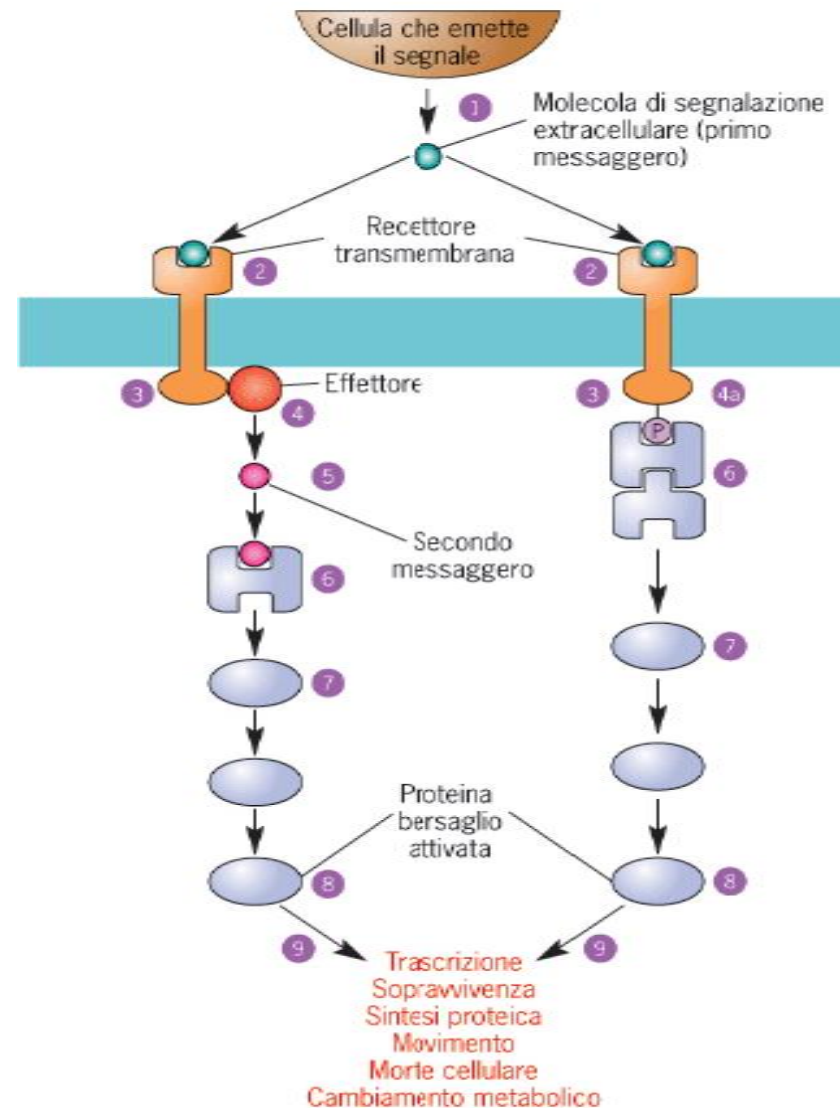
Segnalazione endocrina

La Trasmissione del Segnale

Ci sono due principali vie di trasmissione del segnale:

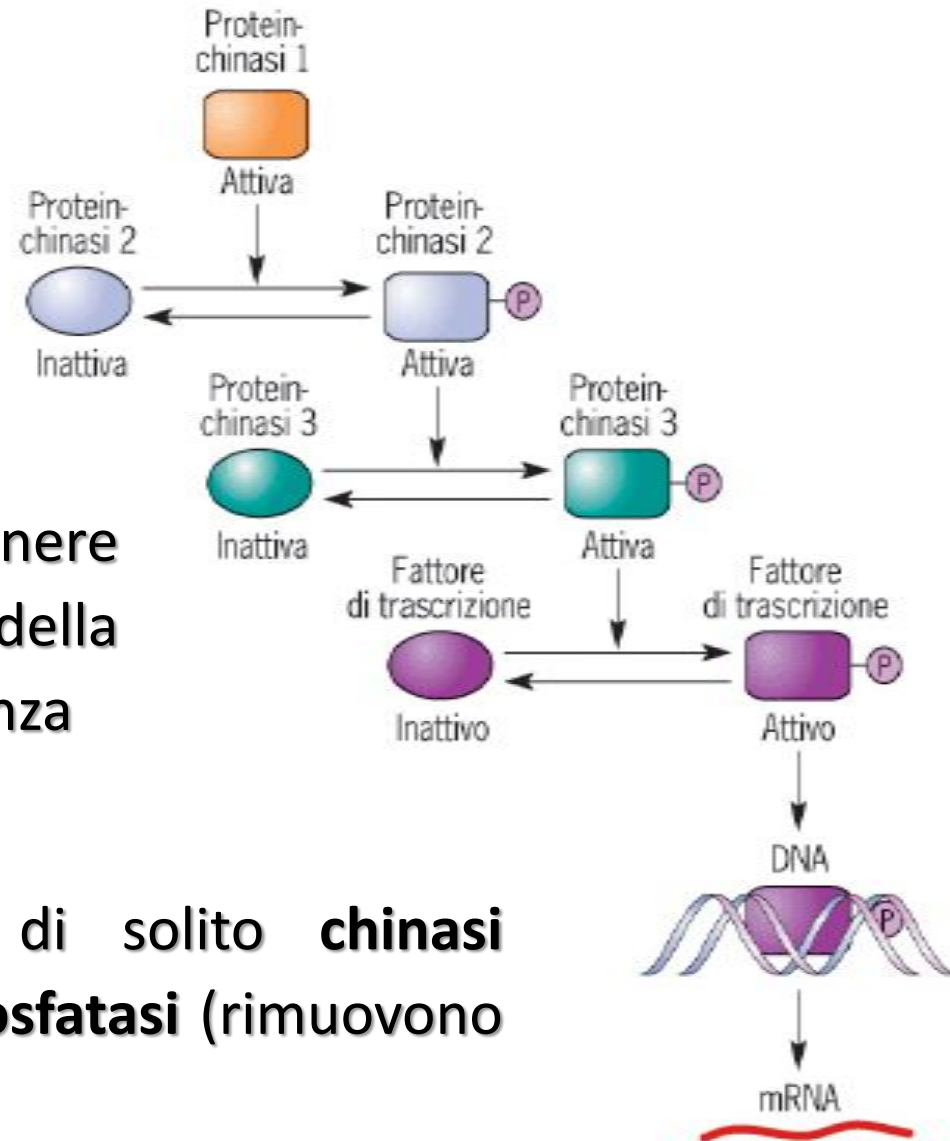
1. Il recettore trasmette il segnale ad un enzima (**effettore**), che produce il **secondo messaggero**, che attiva o disattiva specifiche proteine
2. Il recettore trasmette il segnale trasformando il proprio dominio citoplasmatico per reclutare proteine segnale intracellulari

In entrambi i casi viene attivata una proteina sita all'inizio di una cascata di segnalazione intracellulare



La Trasmissione del Segnale

- Ciascuna via di segnalazione è costituita da una serie di proteine distinte che operano in sequenza
- Tali proteine agiscono in genere modificando la conformazione della proteina successiva nella sequenza
- Le proteine coinvolte sono di solito **chinasi** (aggiungono gruppi fosfato) e **fosfatasi** (rimuovono gruppi fosfato)



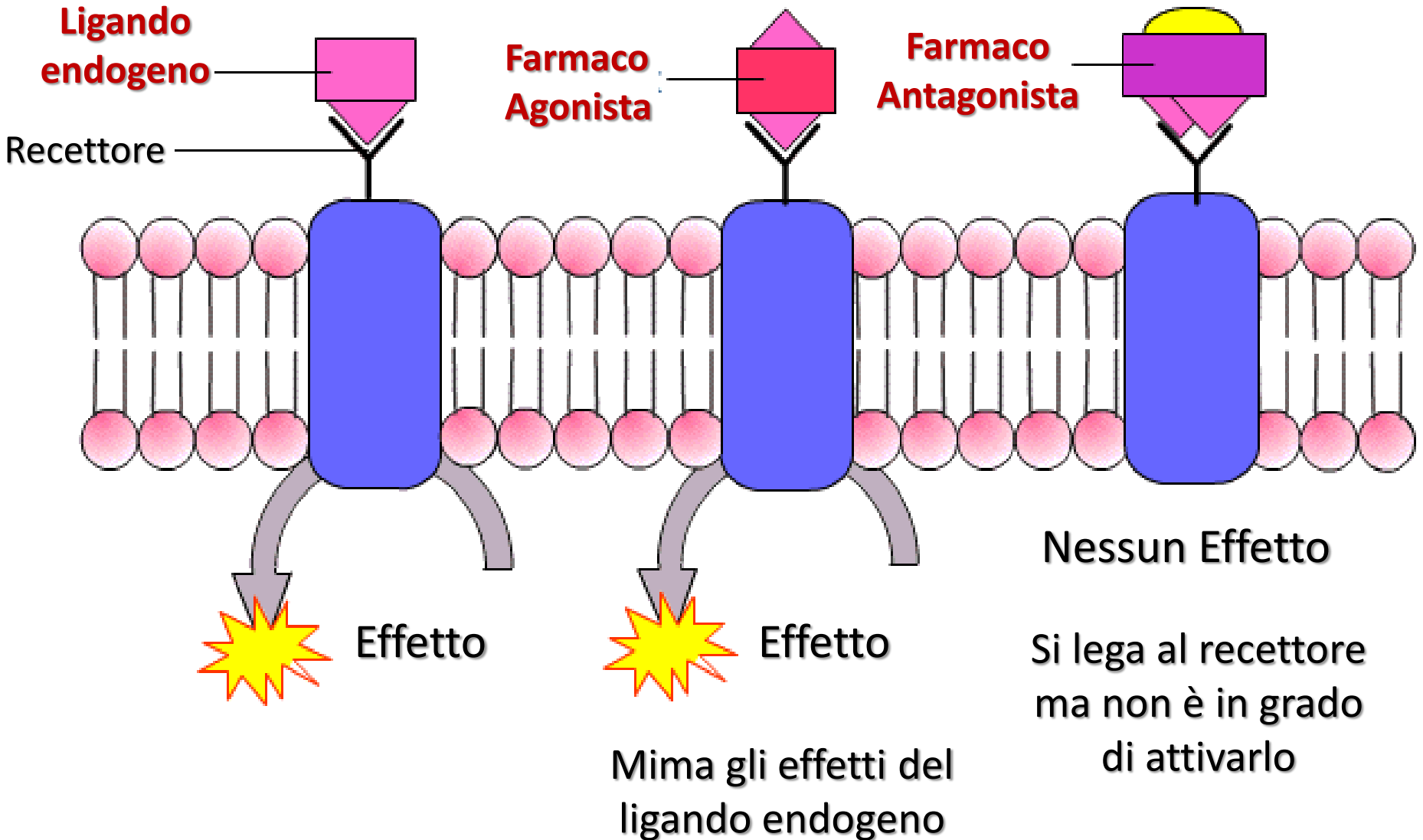
La Trasduzione del Segnale

- Molti dei substrati delle chinasi e delle fosfatasi sono altri enzimi, canali ionici, fattori di trascrizione, subunità regolatrici.
- Mediante (de)fosforilazione si possono modificare le proprietà di tali substrati proteici (es.: attivare o disattivare un enzima)
- I segnali trasmessi raggiungono infine le proteine bersaglio che sono coinvolte in processi cellulari fondamentali:
 - **modificazione dell'espressione genica**
 - **cambiamento dell'attività ionica**
 - riorganizzazione del citoscheletro e mobilità cellulare
 - attivazione della sintesi del DNA
 - induzione della morte cellulare
- Il processo che trasforma il segnale portato dal messaggero extracellulare in cambiamenti endocellulari è chiamato ***trasduzione del segnale***

Terminazione del Segnale

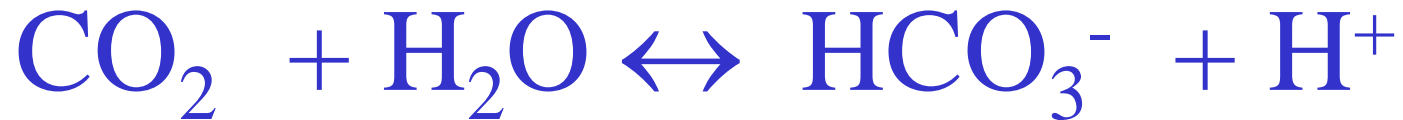
- Il processo di trasduzione, dopo un certo tempo, deve terminare
- Deve essere, quindi, eliminato il messaggero extracellulare
- Ciò può avvenire, o per mezzo di enzimi extracellulari prodotti dalla cellula bersaglio, o per internalizzazione del complesso ligando-recettore.
- All'interno della cellula i recettori attivati possono essere degradati insieme con i loro ligandi e la cellula raggiunge uno stato di minore recettività (desensitizzazione)
- In alternativa, i recettori sono separati nell'endosoma e riportati alla superficie della cellula, mentre i ligandi vengono degradati.

Ligandi Endogeni vs Farmaci



Enzimi

- **COX** → Farmaci Antinfiammatori Non Steroidei
- **ACE, Renina** → Farmaci Antipertensivi
- **Acetilcolinesterasi** → Farmaci per Alzheimer,
Farmaci per la Miastenia Gravis
- **MAO** → Farmaci Anti-Parkinson
- **COMT** → Farmaci Anti-Parkinson
- **Fosfodiesterasi** → Insufficienza cardiaca, disfunzione erettile



CAs are highly effective catalysts:

$$\text{hCA IX: } k_{\text{cat}}/K_{\text{M}} = 1.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \times \text{s}^{-1}$$

(Hilvo, De Simone et al., *JBC* **2008**, 283, 27799)

$$\text{SazCA: } k_{\text{cat}}/K_{\text{M}} = 3.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \times \text{s}^{-1}$$

(extremophilic bacterium *Sulfurihydrogenibium azorense*

Vullo et al., *BMC* **2013**, 21, 4521)

$$\text{hSOD: } k_{\text{cat}}/K_{\text{M}} = 7.0 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \times \text{s}^{-1}$$

7 Carbonic anhydrase (CA) gene families

α -CAs (*Bacteria*, algae, cytoplasm of green plants, protozoa (e.g. *Plasmodium*), animals – including vertebrates)

β -CAs (*Bacteria*, algae, chloroplasts of mon-/dicotyledons)

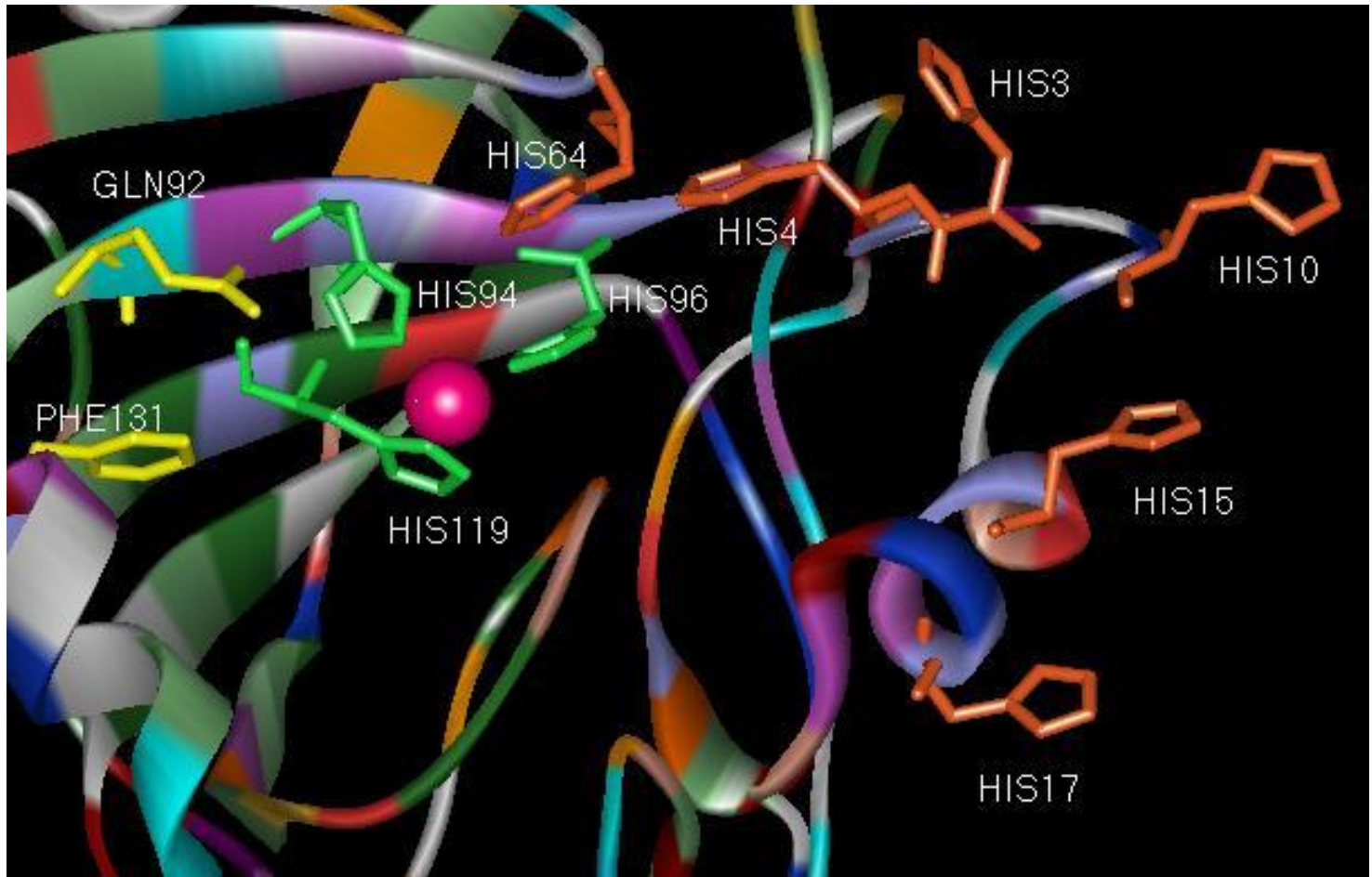
γ -CAs (*Archaea*, *Bacteria*)

δ - CAs – marine diatoms and algae (e.g., *Thalassiosira weissflogii* TWCA1 and related organisms)

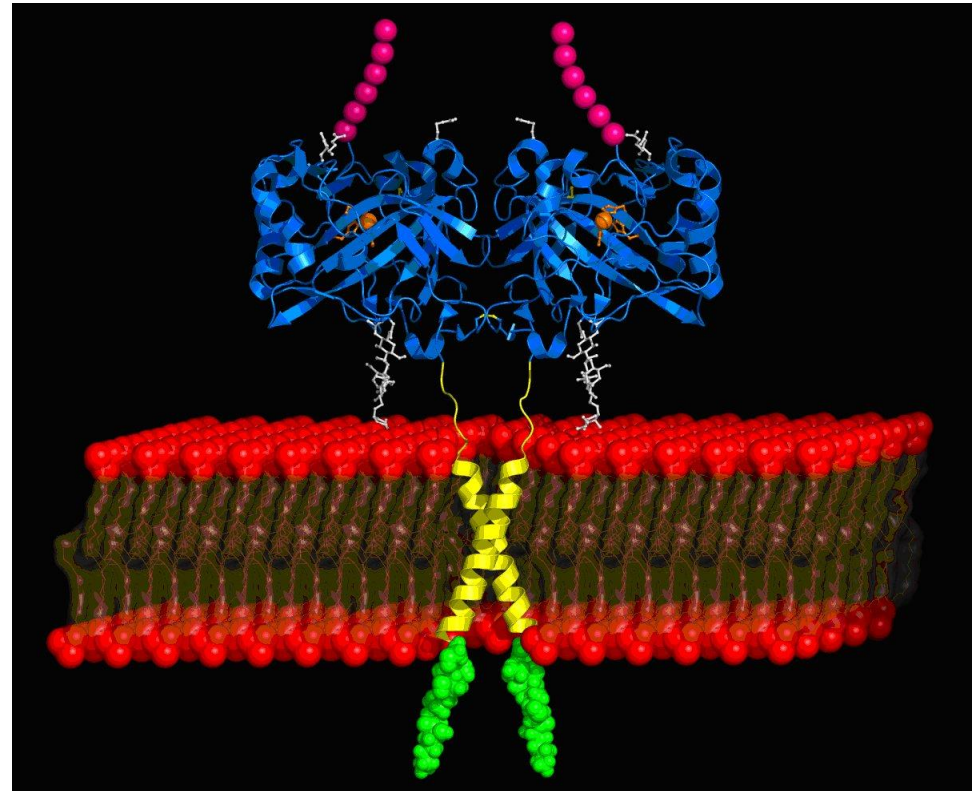
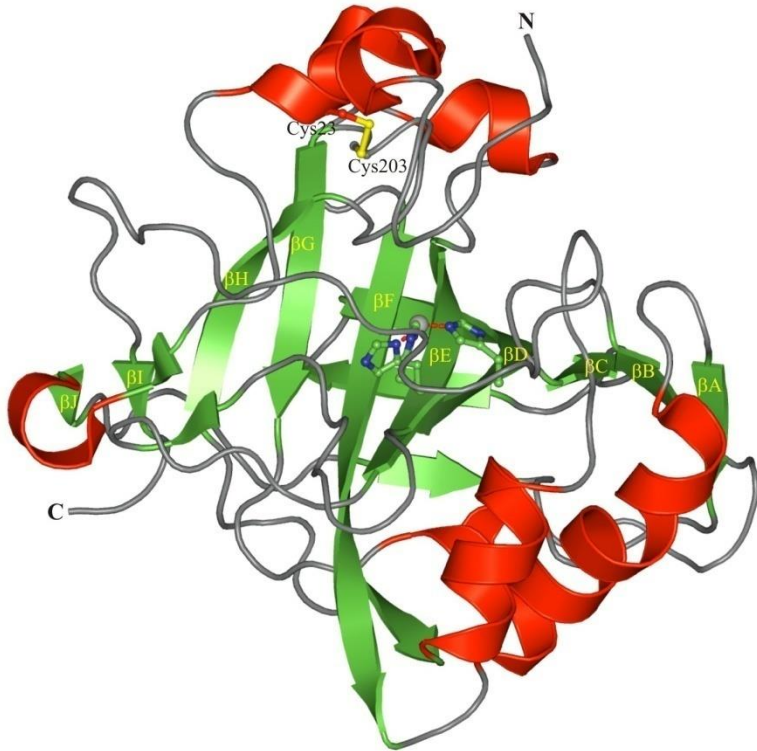
ζ - CAs –Cd or Zn enzymes from marine diatoms

η -CAs – in *Plasmodium* spp.

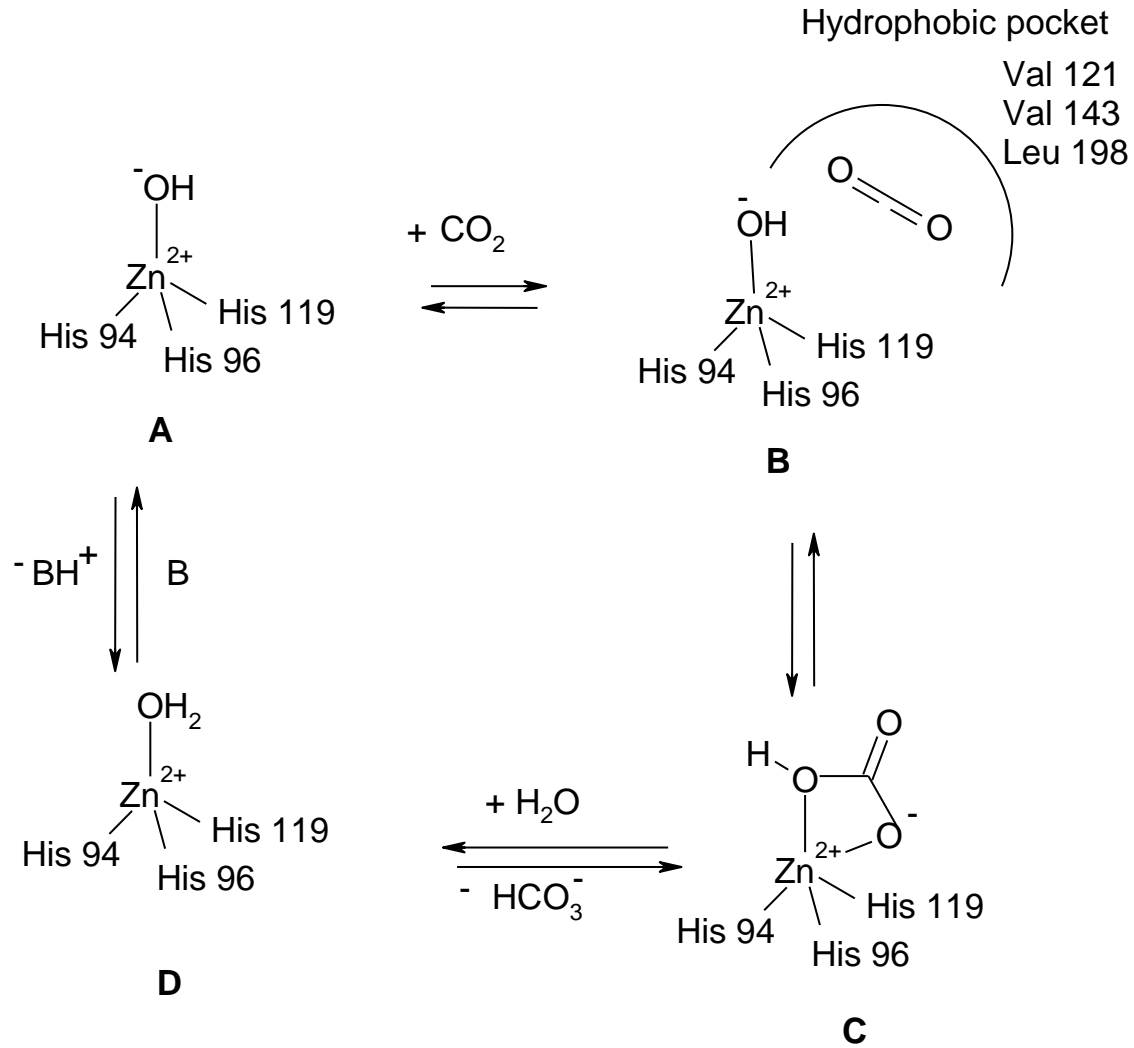
Θ -CAs – thylakoid of diatoms (*PNAS* **2016**, [113,9828-33](#))



Crystal structure of hCA IX (Alterio, De Simone et al.,
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **2009**, **106**, 16233-16238)



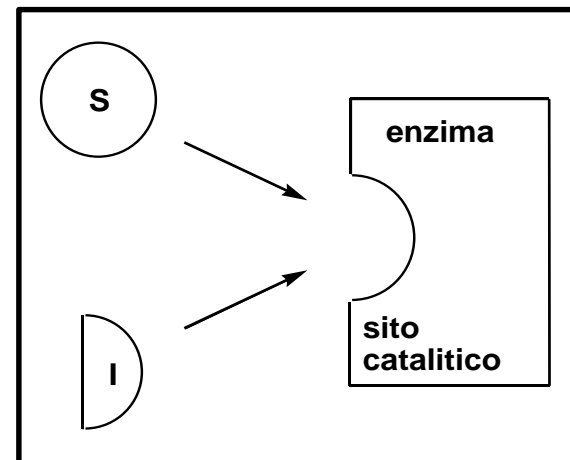
Catalytic mechanism of α -CAs



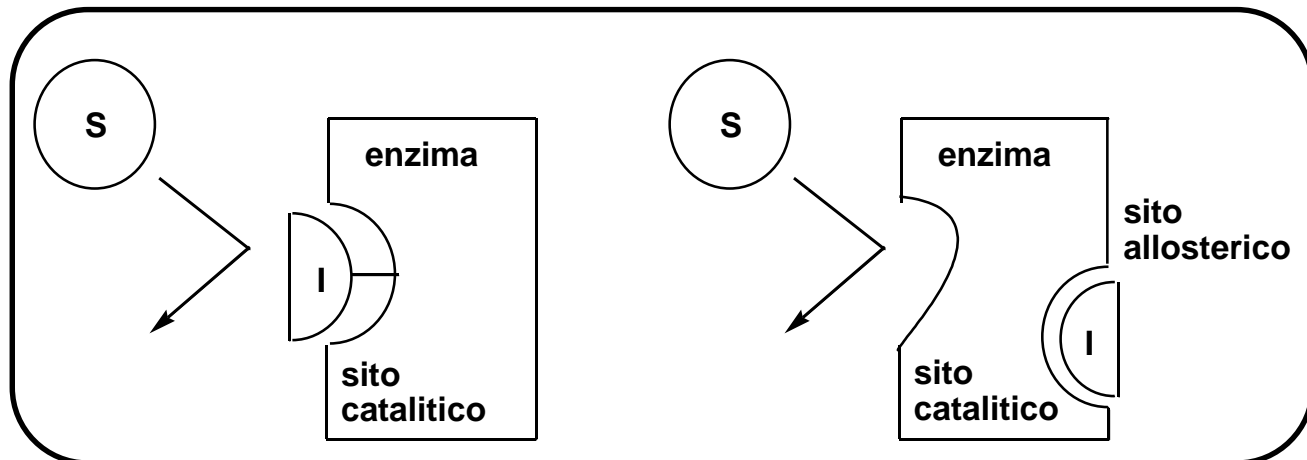
Inibizione Enzimatica

L'inibizione enzimatica può essere di tipo:

- **competitivo** (substrato ed inibitore competono per lo stesso sito catalitico)
- **non competitivo**:
 - **inibizione “suicida”**: l'inibitore si lega irreversibilmente al sito catalitico instaurando legami covalenti. L'enzima va rigenerato o re-sintetizzato.
 - **inibizione allosterica**: l'inibitore può legarsi ad un sito “allosterico” ed indurre un cambio conformazionale nel sito catalitico.



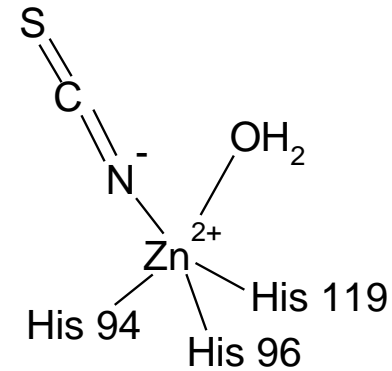
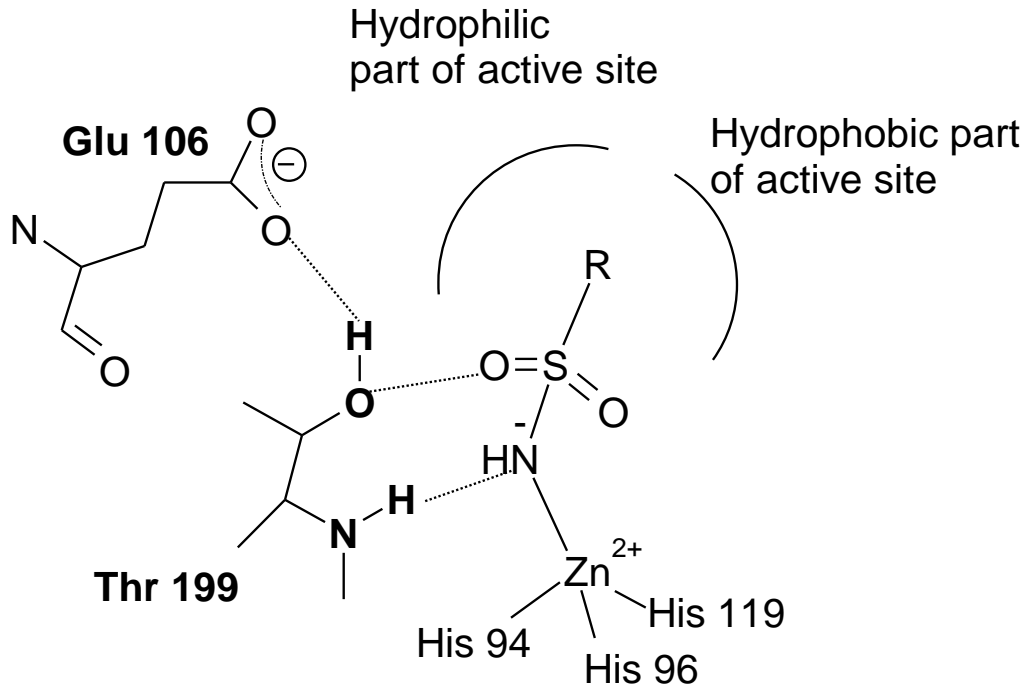
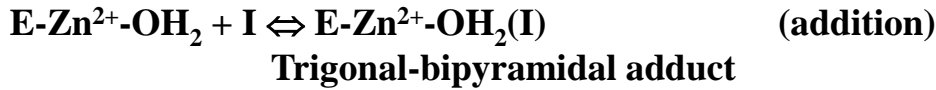
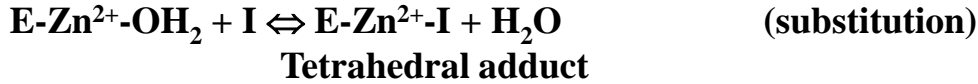
Inibizione competitiva

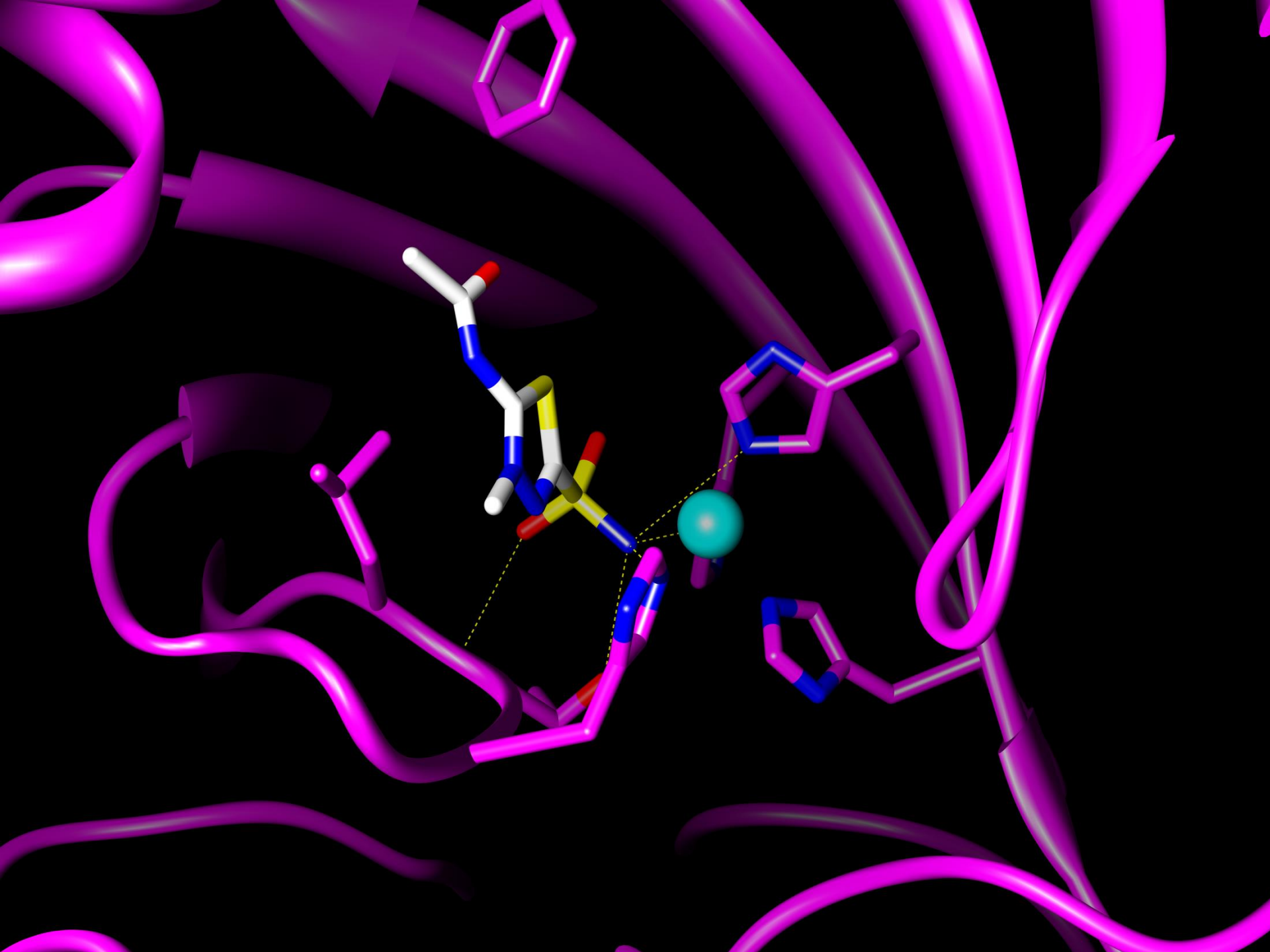


Inibizione suicida

Inibizione allosterica

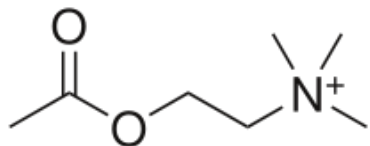
CA inhibition mechanism by sulfonamide and anionic inhibitors



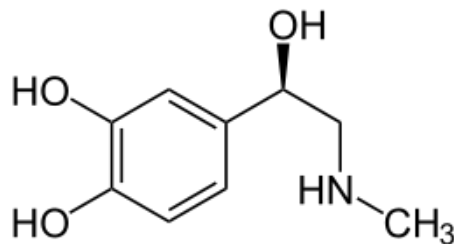


Neurotrasmettitori e altri mediatori

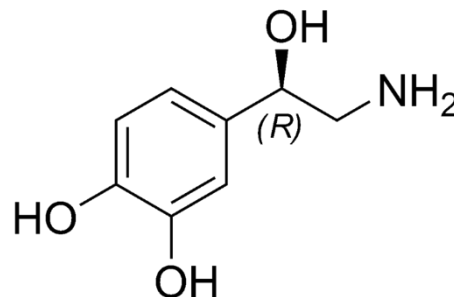
Acetilcolina (Ach)



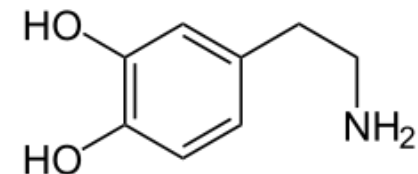
**Adrenalina
Epinefrina**



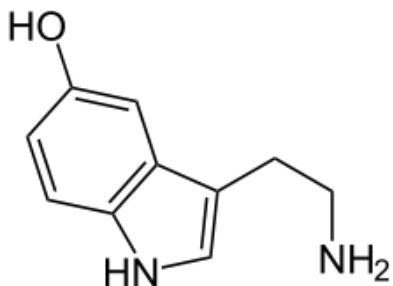
Nor-adrenalina (NA)



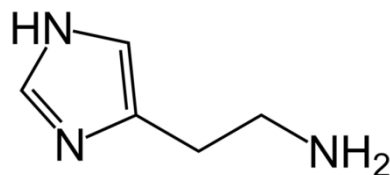
Dopamina (D)



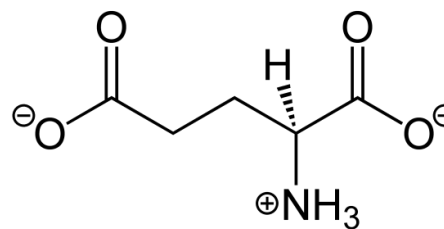
Serotonina (5-HT)



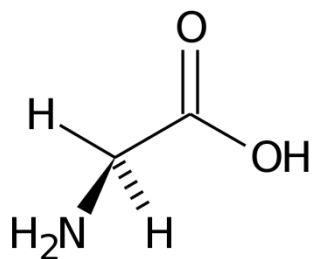
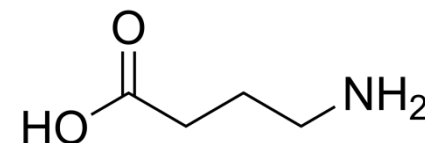
Istamina (H)



L-glutammato (Glu)

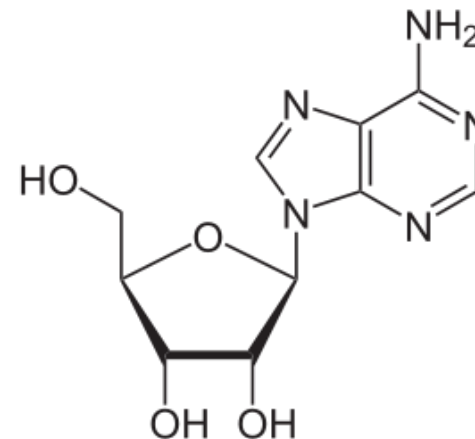


**Acido γ -aminobutirrico
GABA**



Glicina (Gly)

Adenosina



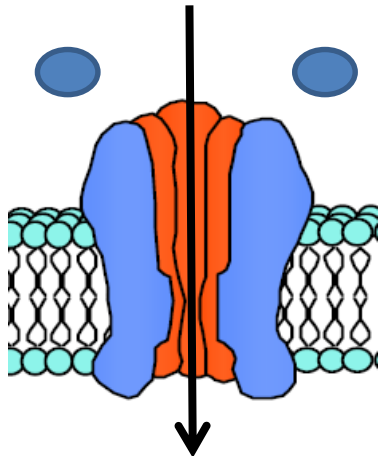
Recettori di Membrana

Proteine dotate di domini extracellulari, transmembrana ed intracellulari. Si dividono in:

IONOTROPICI

risposta rapida

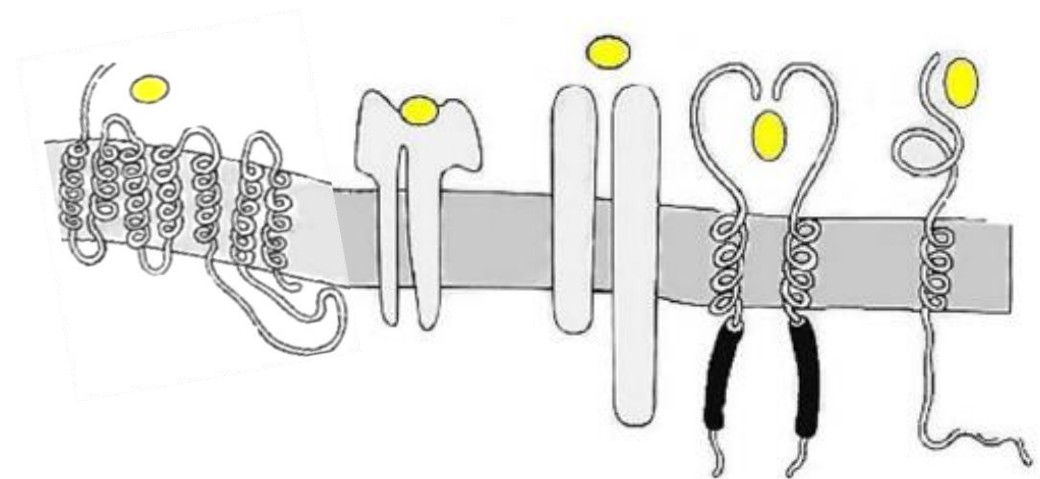
**Canali Ionici
ligando-dipendenti**



METABOTROPICI

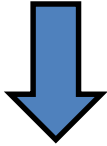
risposta lenta

GPCR, RTK



Recettori Ionotropici

RECETTORI PERMEABILI A CATIONI



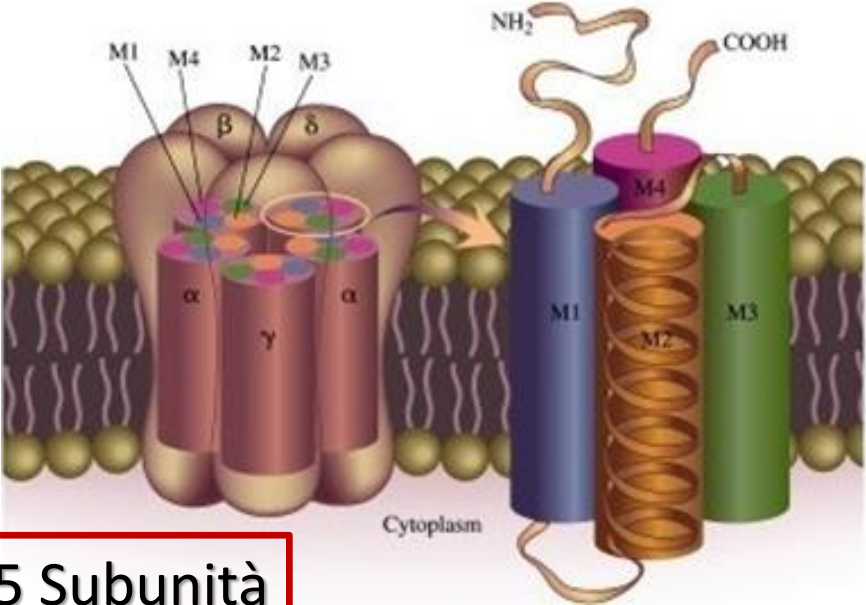
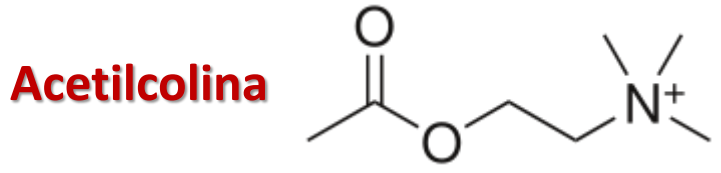
- **Recettori Colinergici** (Nicotinici):
 - Muscolare Nm
 - Neuronale Nn
 - Gangliare
- **Recettori Glutammatergici:**
 - AMPA
 - NMDA
 - Kainato
- **Recettore Serotonergico** (5-HT₃)
- **Recettore Purinergico** (P₂X)
- **Recettori di nucleotidi ciclici**

RECETTORI PERMEABILI AD ANIONI

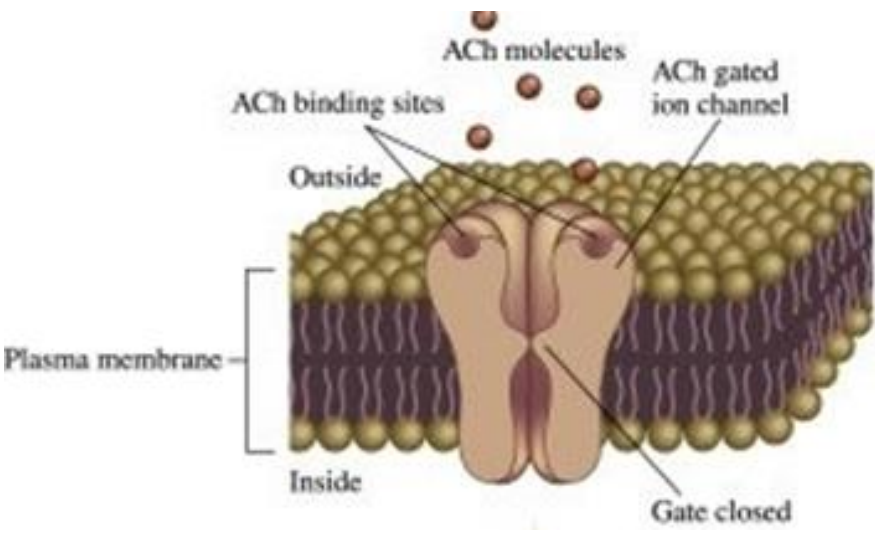
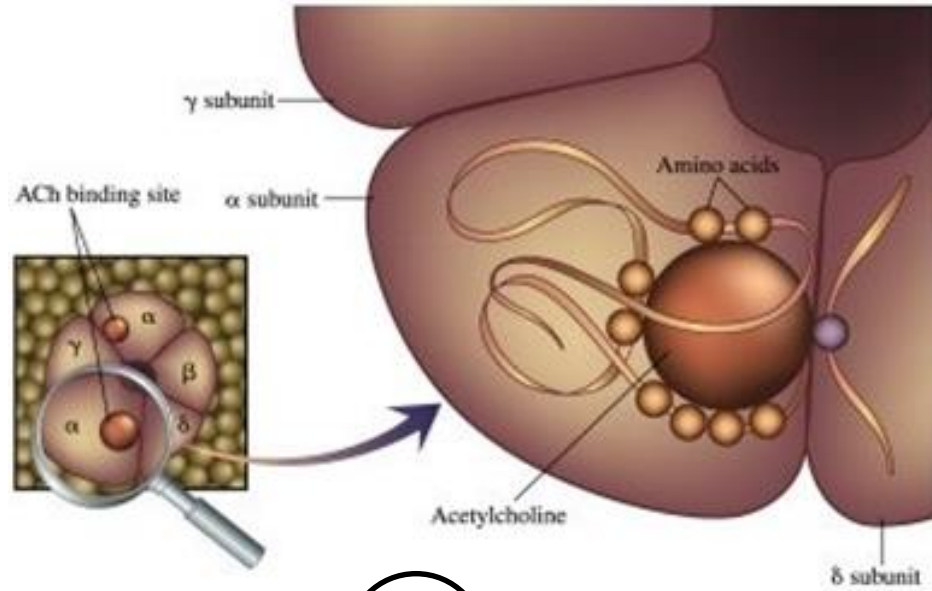


- **Recettore GABAergico** (GABA_A)
- **Recettore Glicinergico** (GlyRA)

Recettore Nicotinico

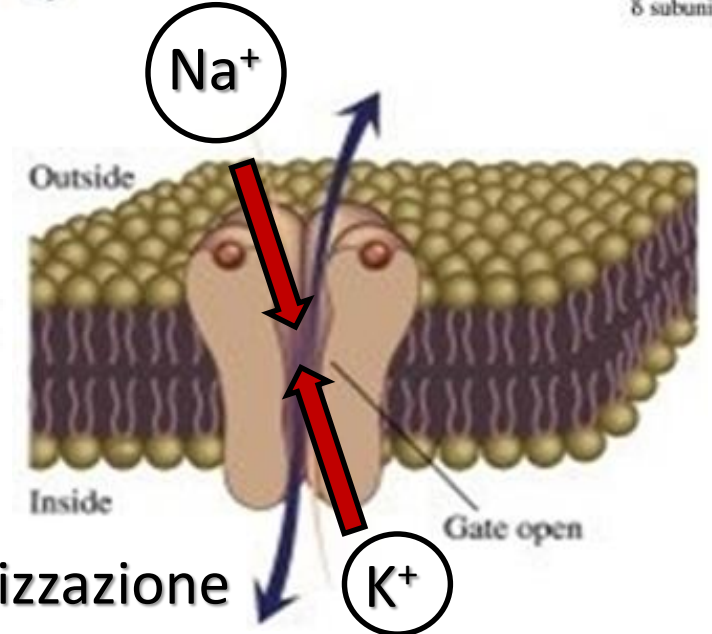


5 Subunità

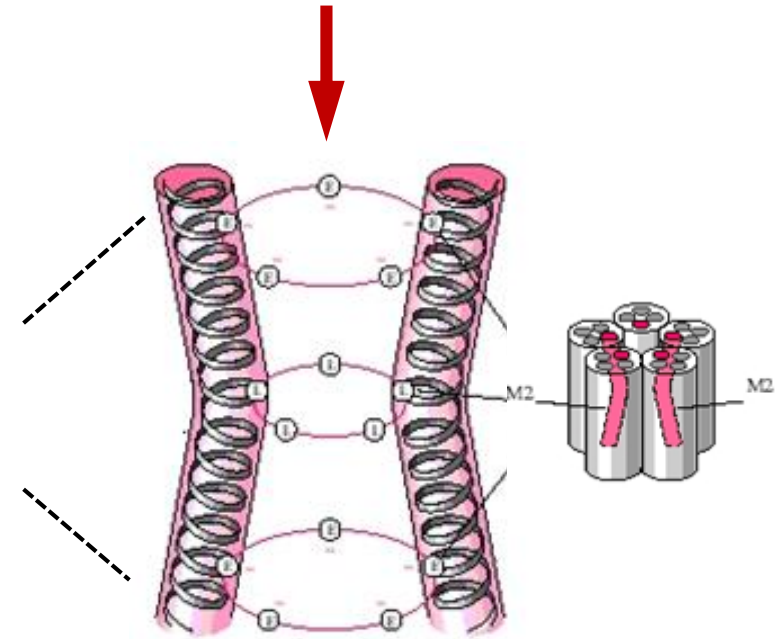
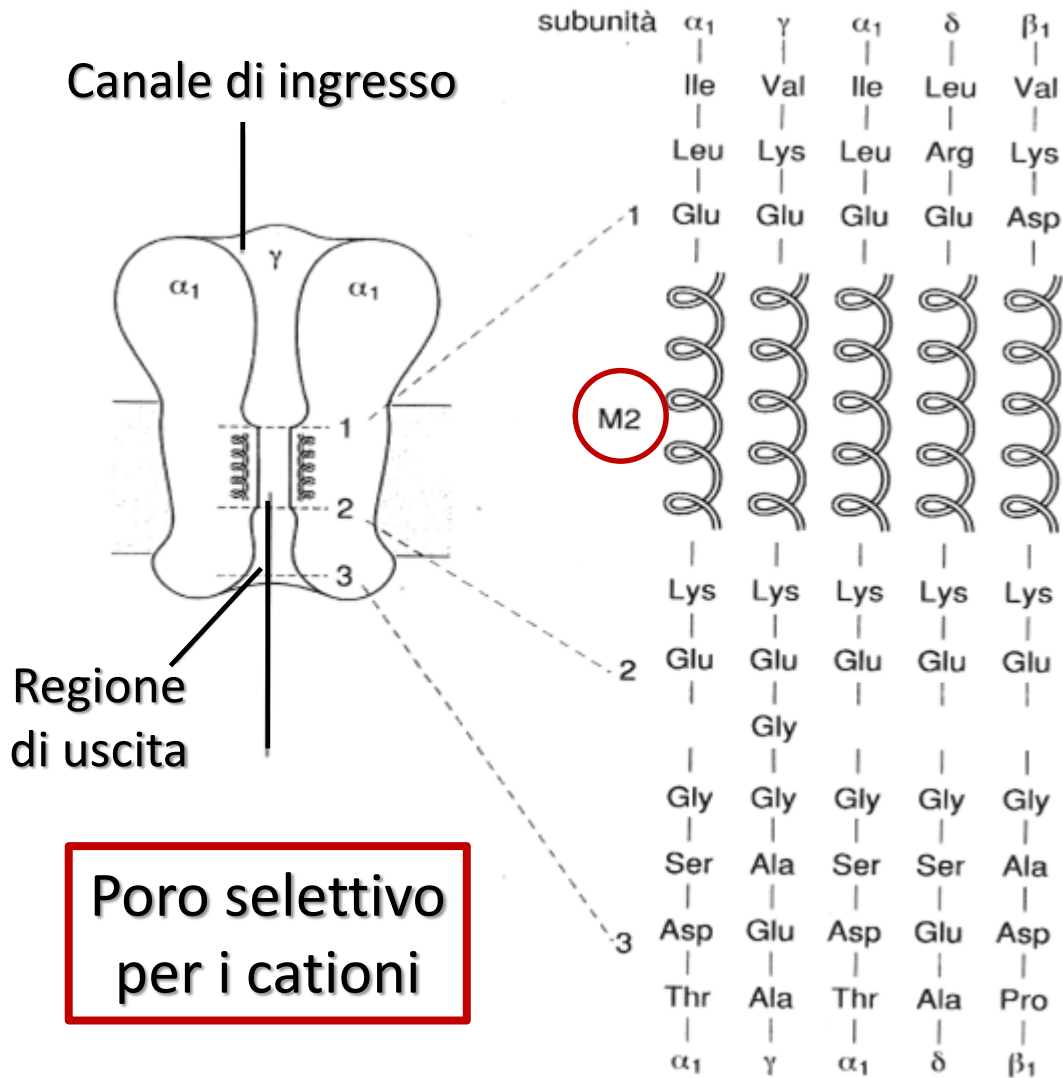


Binding of 2 ACh molecules

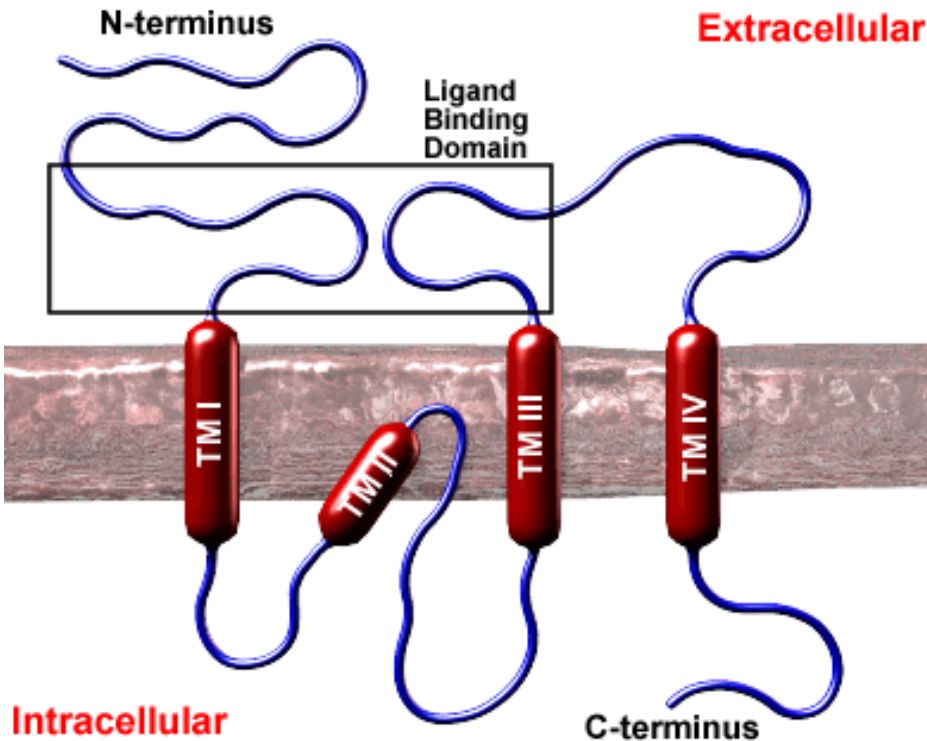
Depolarizzazione



Recettore Nicotinico

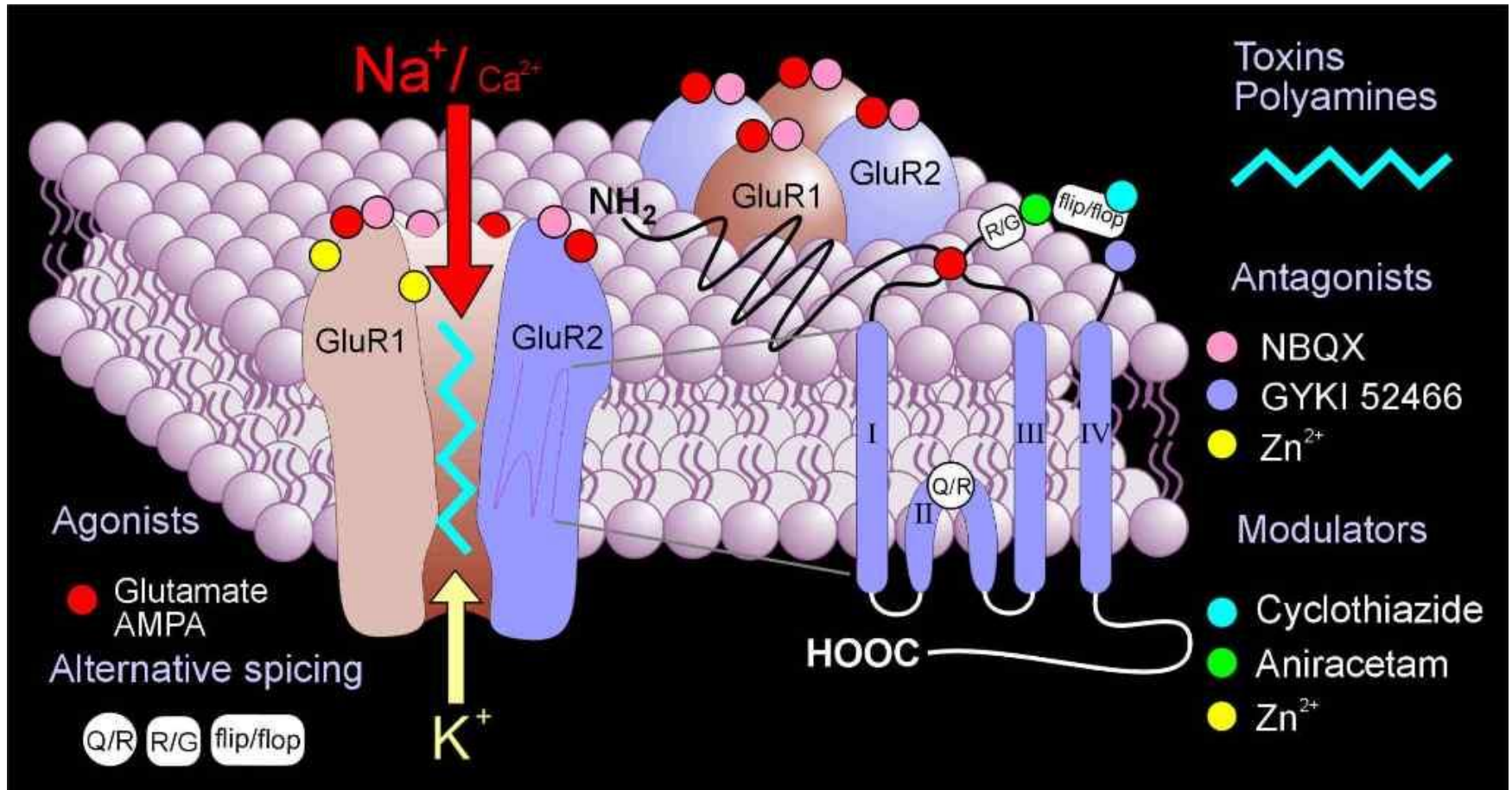


Recettori Glutammatergici

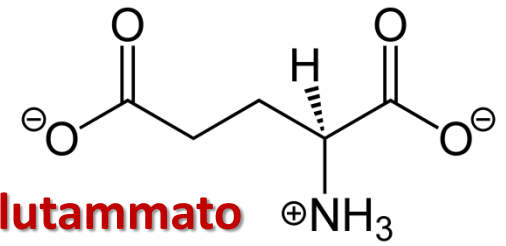


- Quattro segmenti transmembrana
- Il segmento TMII rientra per metà nella membrana
- Il segmento TMII subisce RNA-editing modulando la permeabilità ai cationi
- Il sito di legame del Glu risiede nella porzione extracellulare
- Esistono varie forme di splicing della porzione C-terminale

Recettori Glutammatergici



Recettori Glutammatergici

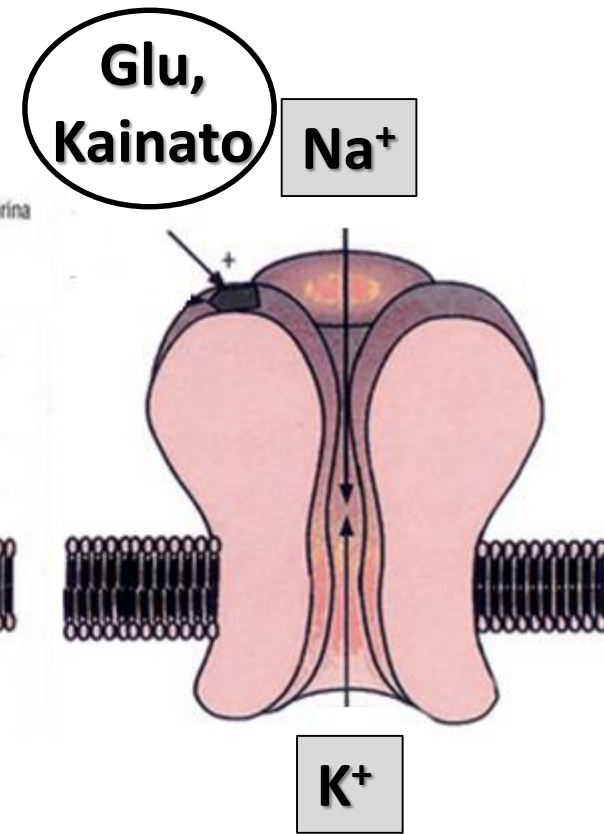
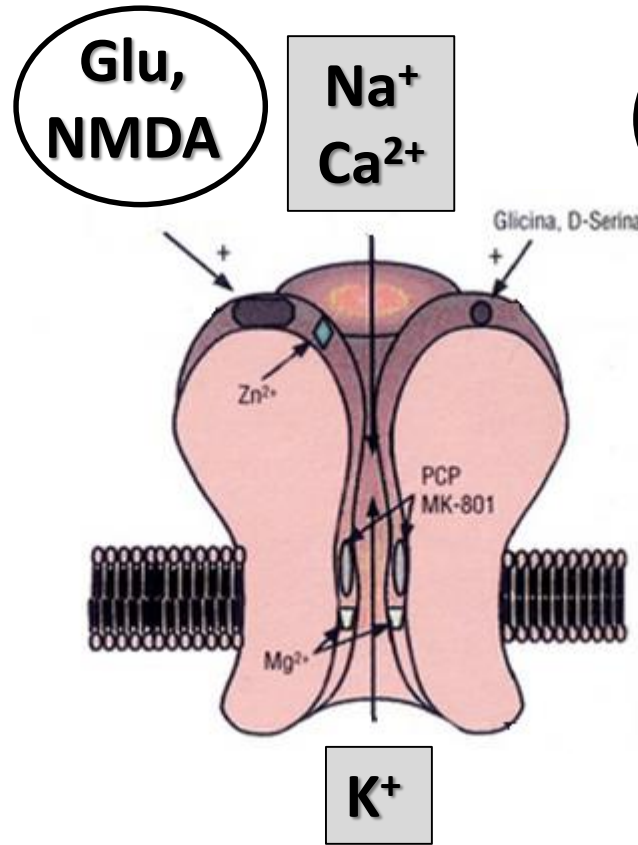
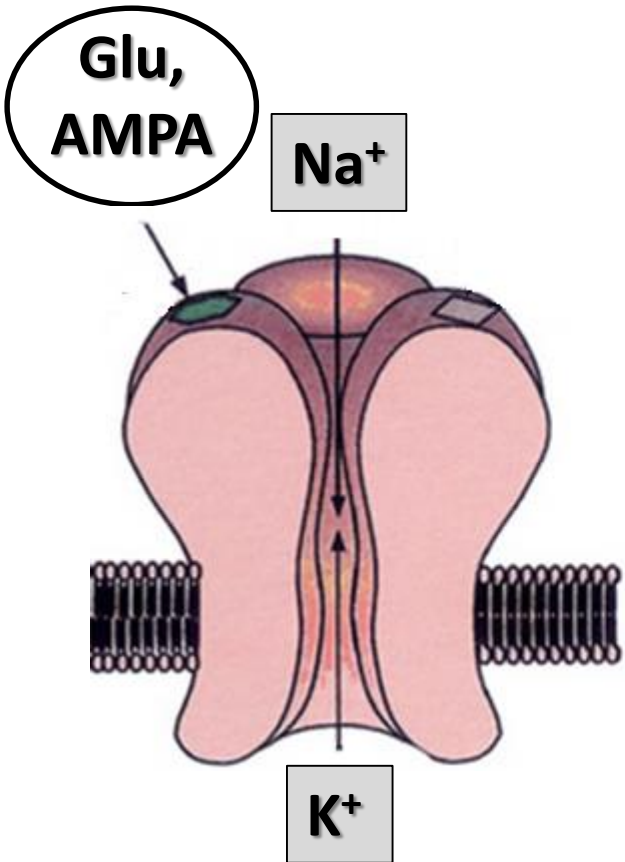


4 Subunità

AMPA

NMDA

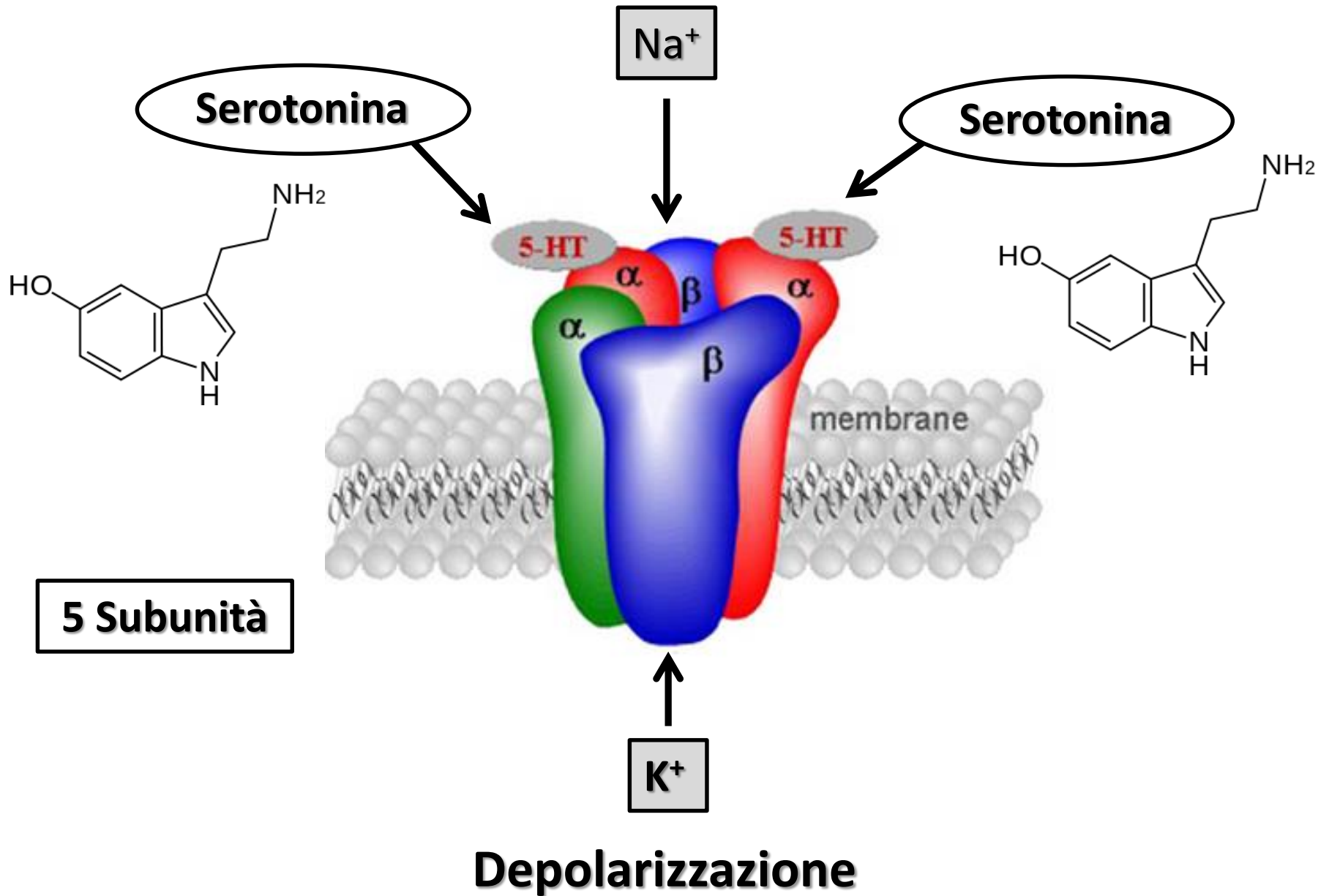
Kainato



alfa-Amino-3-Idrossi-5-Metil-4-isoxazolone propionato

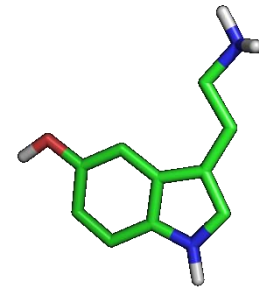
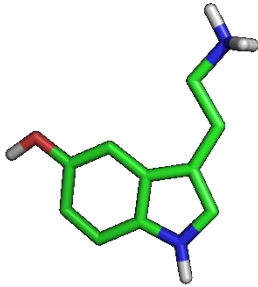
Depolarizzazione

Recettore Ionotropico 5-HT₃

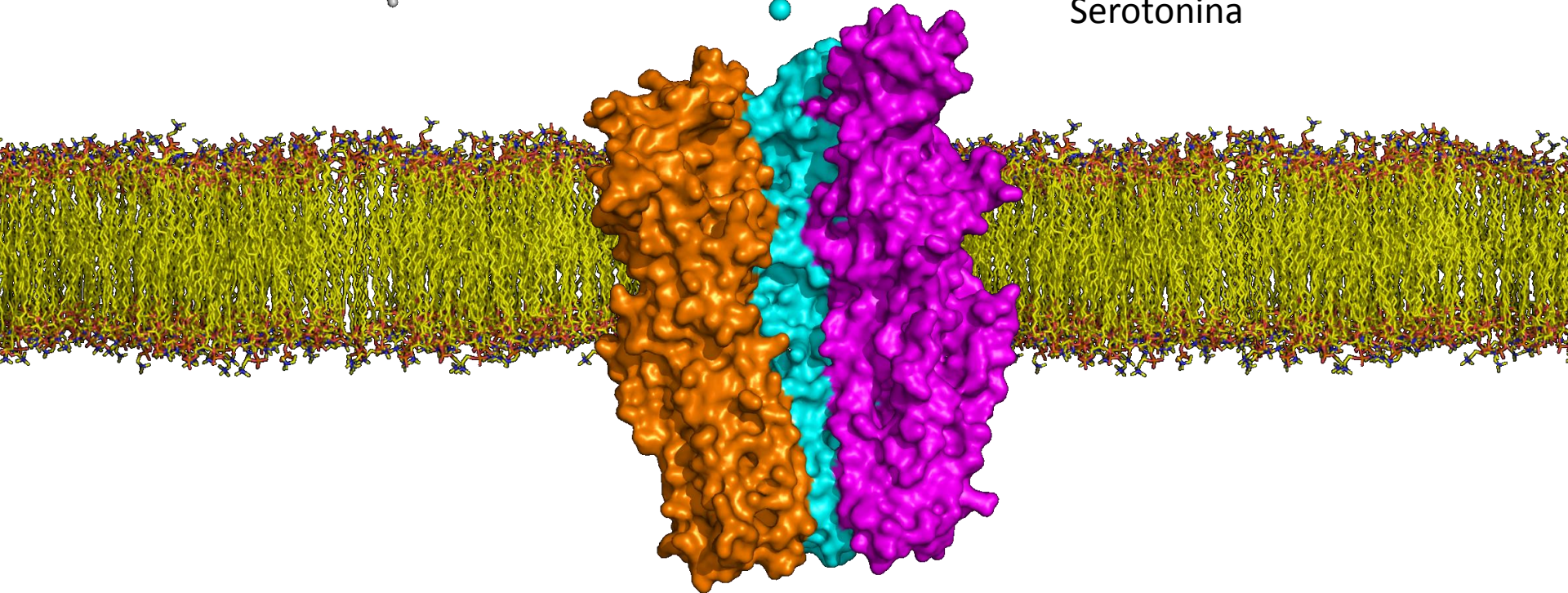


Agonisti 5-HT₃: Meccanismo d'azione

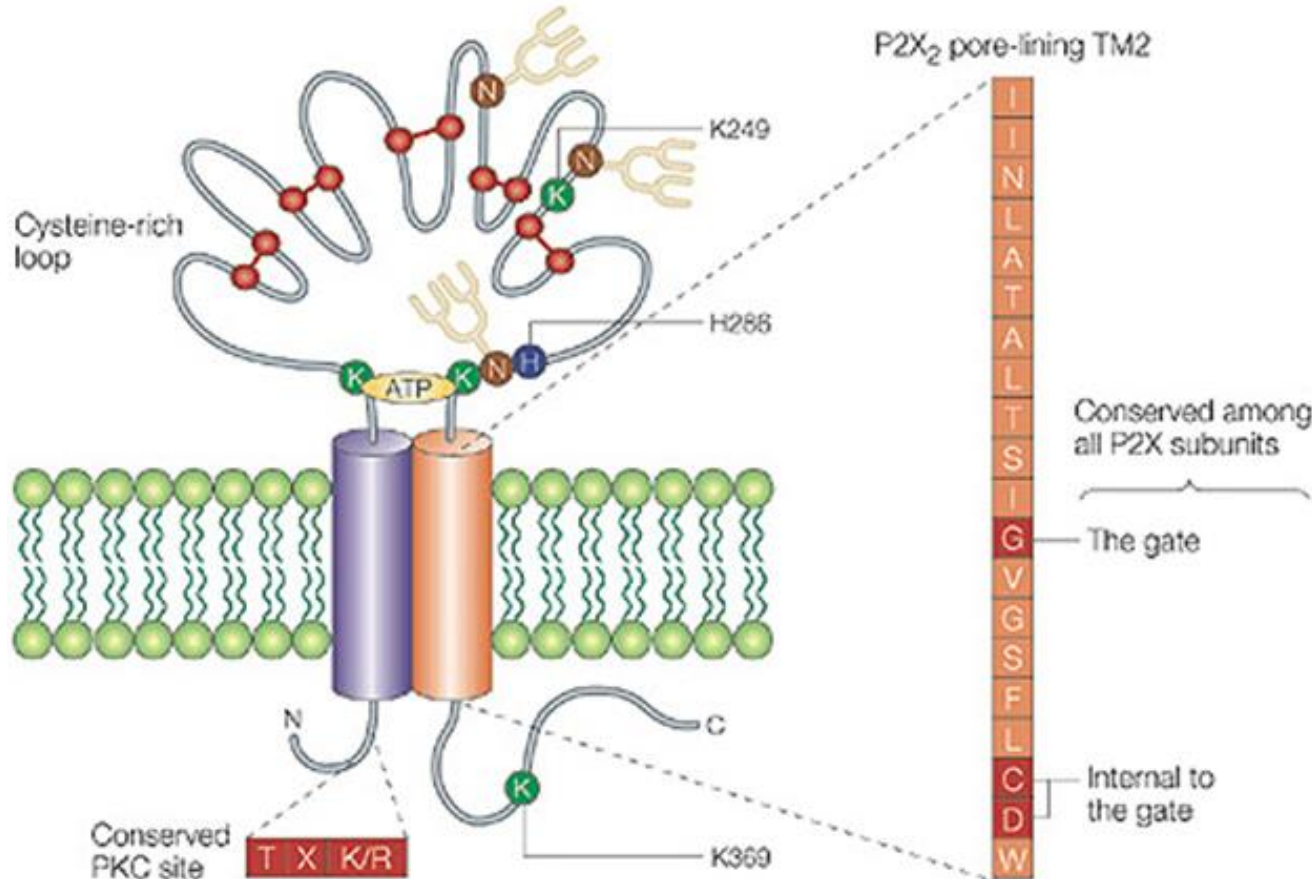
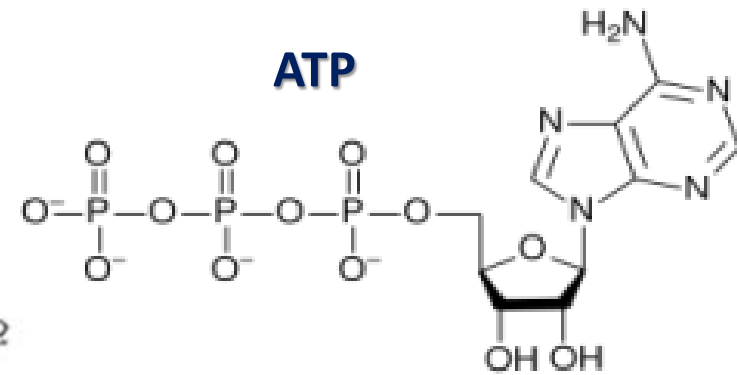
Serotonina



Serotonina



Recettori Purinergico P₂X



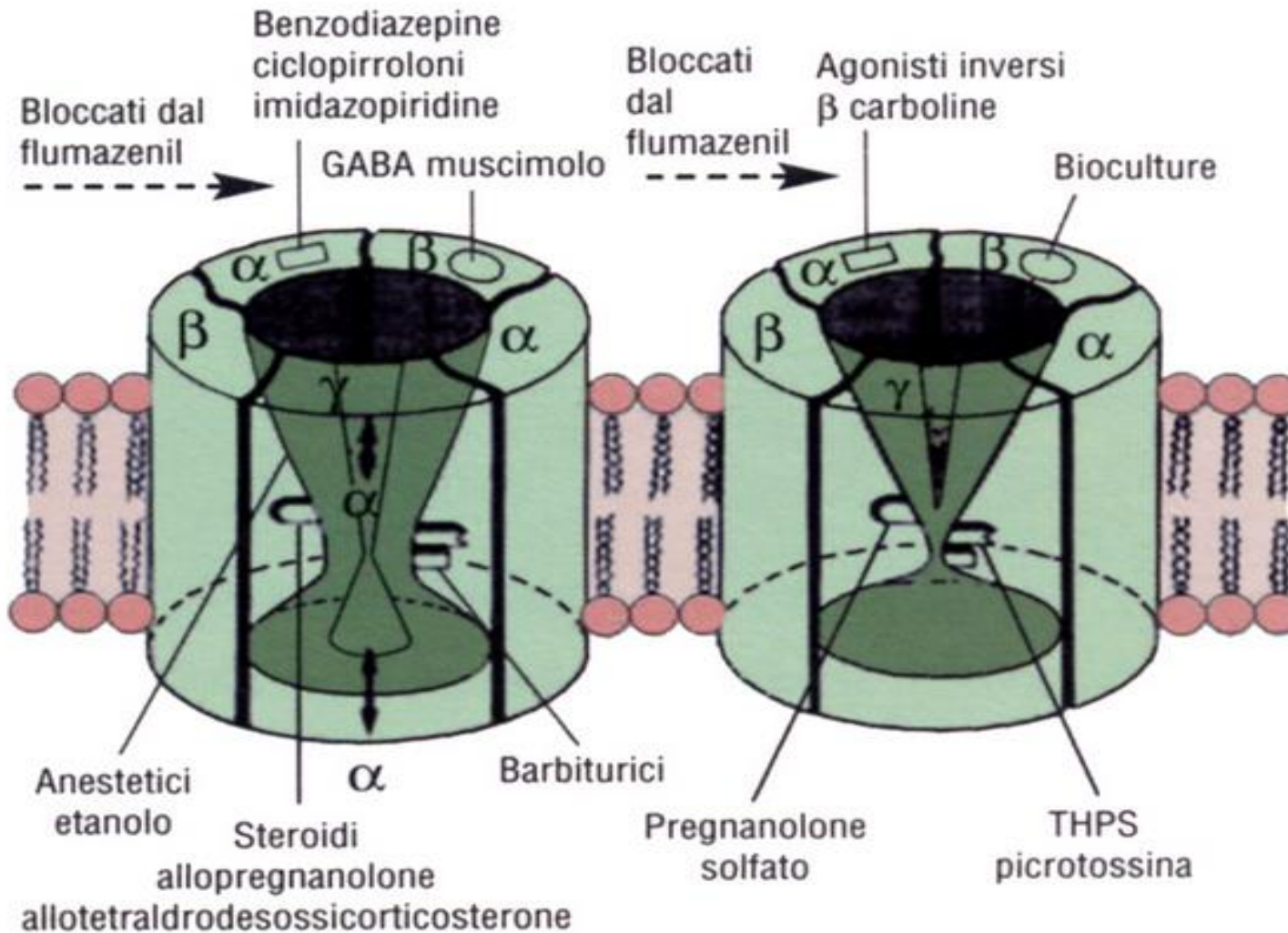
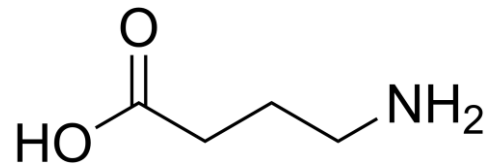
Canali formati da un numero diverso di subunità (3, 4, 5)

Ciascuna subunità ha due eliche transmembrana: TM1 e TM2

Riconoscono solo ATP e non adenosina: i fosfati dell'ATP legano due lisine

Permeabile a cationi
Ca²⁺, Na⁺, K⁺

Recettore GABA_A



Cl⁻

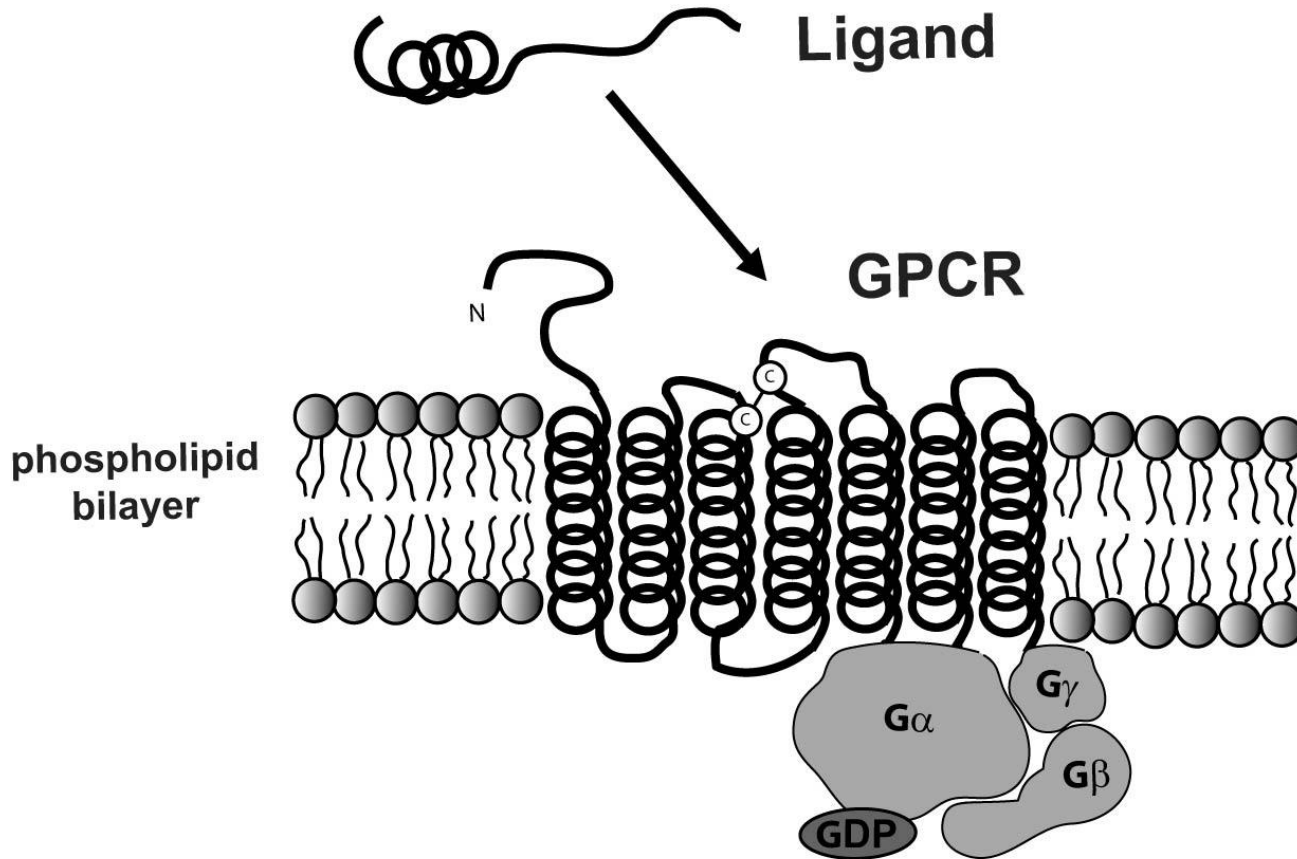


Iperpolarizzazione

Recettori Metabotropici

- **Recettori accoppiati a proteine G (GPCR):**
 - Colinergici (Muscarinici)
 - Adrenergici
 - Dopaminergici
 - Istaminergici
 - Serotoninergici
 - Oppioidergici
 - Angiotensina II
- **Recettori ad attività Tirosin-Chinasica**
 - Recettore dell'Insulina
 - Recettore dell'EGF
 - Recettore dell'FGF
- **Recettori accoppiati a chinasi** (Recettori delle citochine)
- **Recettori accoppiati alla guanilato ciclasi** (Recettore del peptide natriuretico)

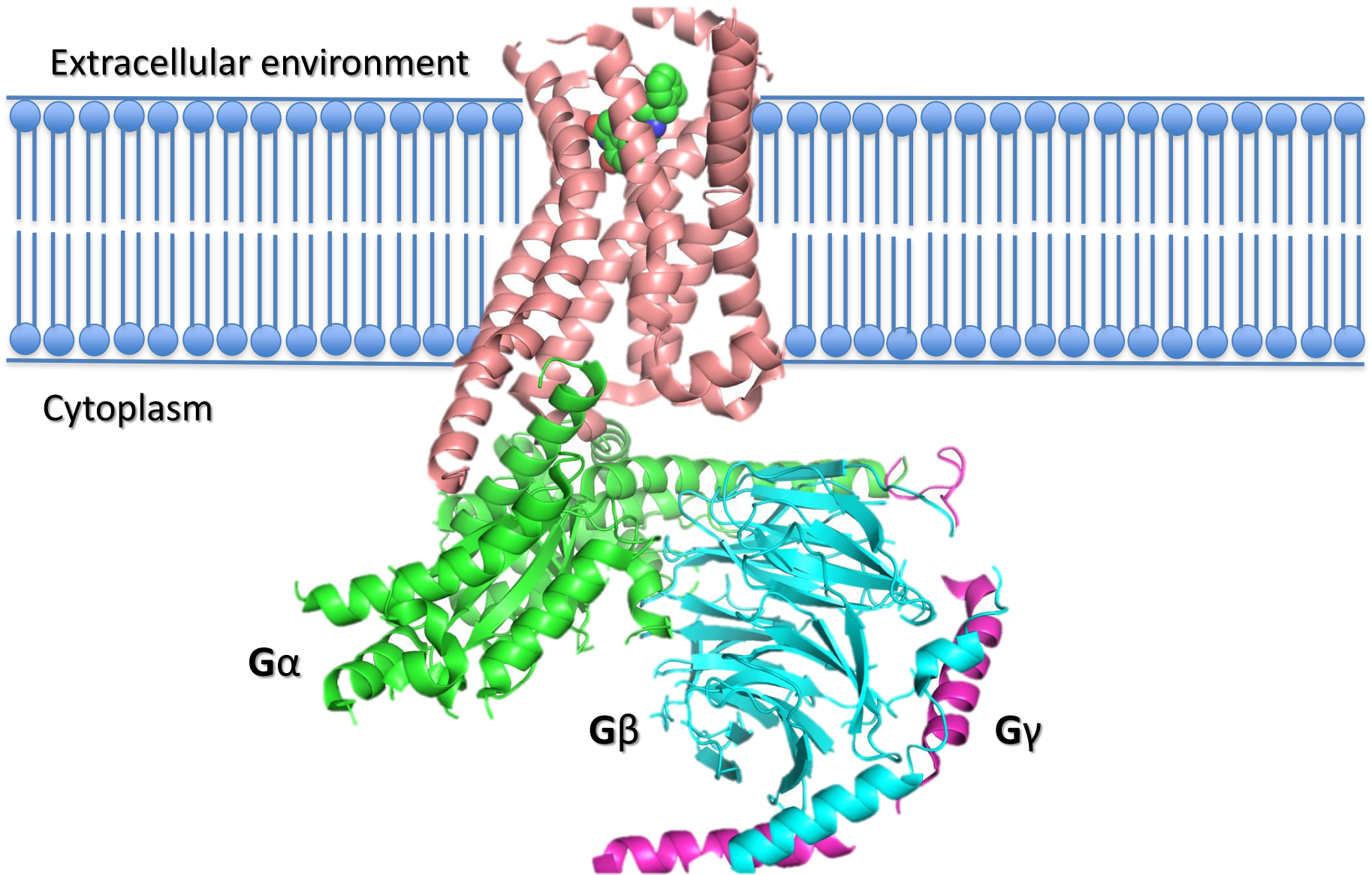
GPCR (G-protein coupled receptors)



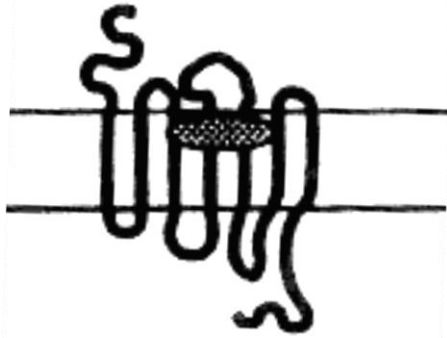
Unico segmento peptidico (ca. 600-700 residui) che attraversa 7 volte la membrana plasmatica (TM1-7)

Il loop citoplasmatico 3 (EL3) è importante per la selettività

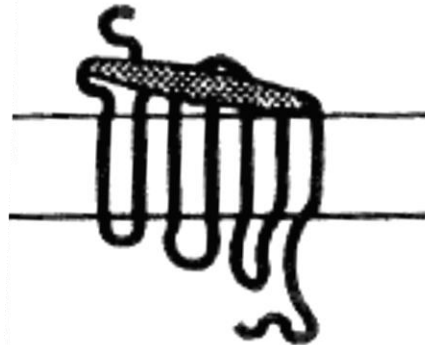
GPCR



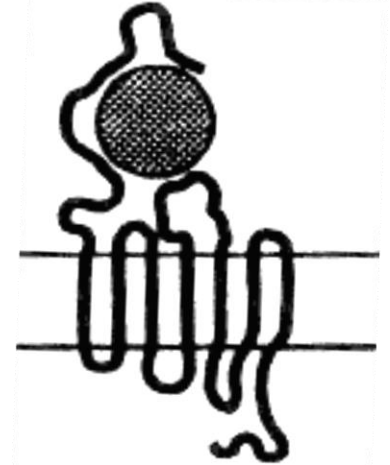
GPCR: ligandi e siti di binding



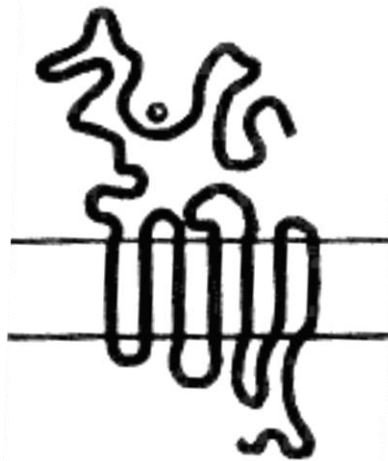
Monoammine
Nucleotidi
Lipidi



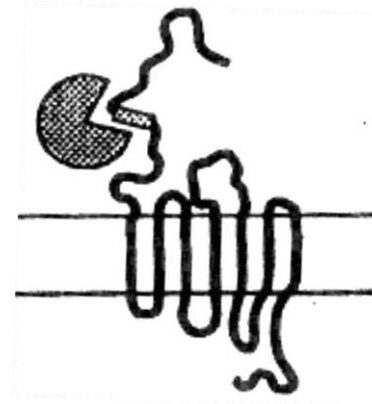
Neuropeptidi
Ormoni peptidici
Chemochine



Glicoproteine
Ormoni



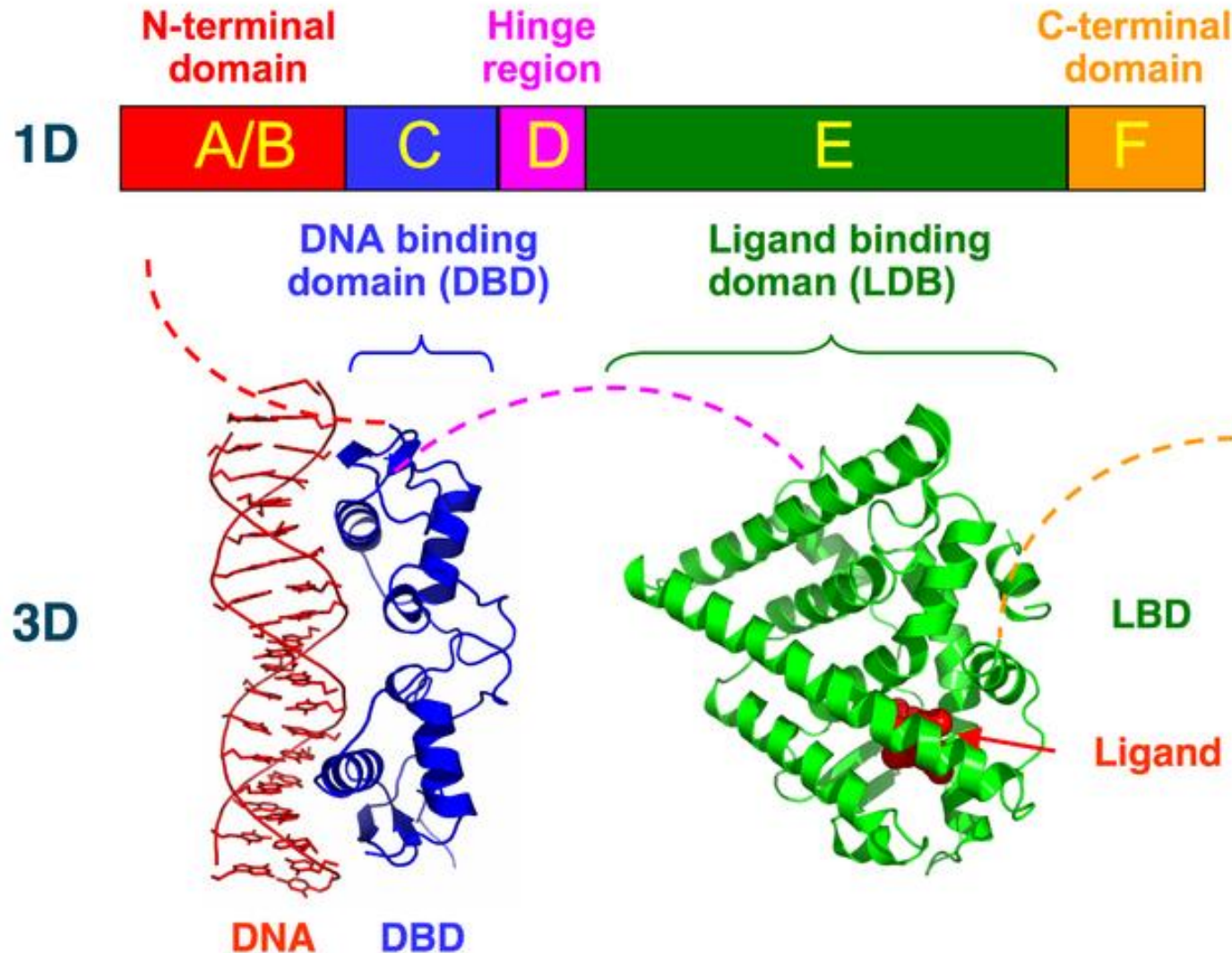
Glutammato
Ca²⁺



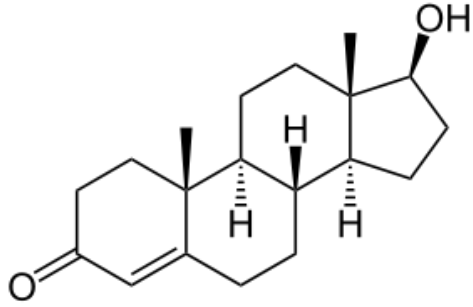
Trombina

Recettori Nucleari

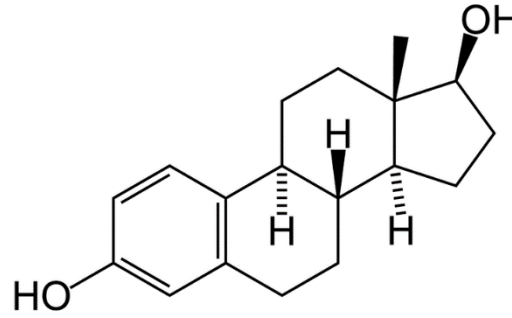
Structural Organization of Nuclear Receptors



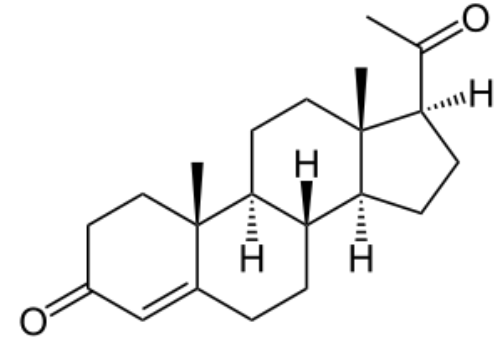
Recettori Nucleari: ligandi



Testosterone

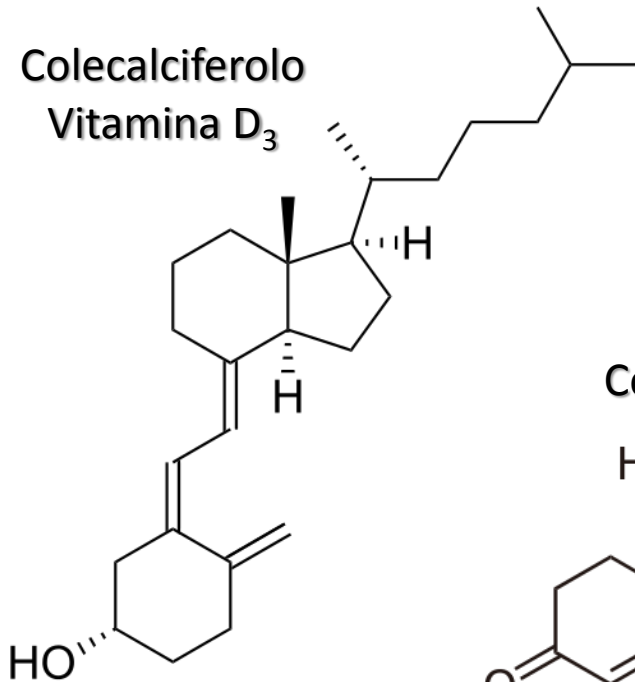


Estradiolo

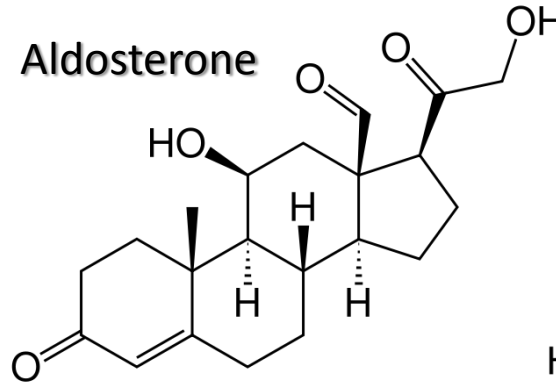


Progesterone

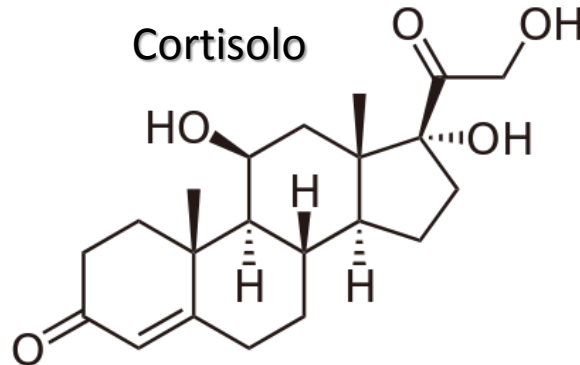
Colecalciferolo
Vitamina D₃



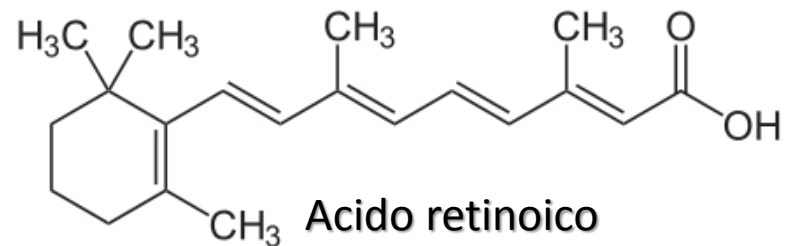
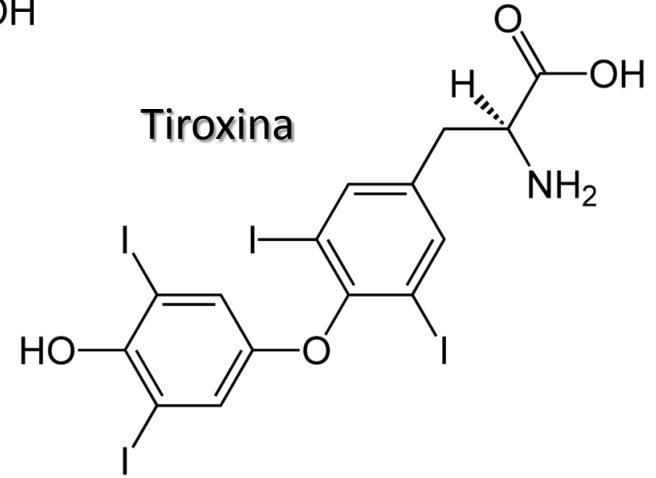
Aldosterone



Cortisolo



Tiroxina



Acido retinoico

Canali Ionici

Ligando
Dipendenti
ROC



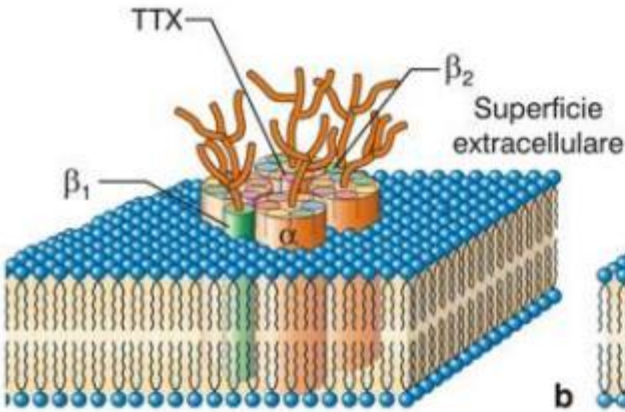
Recettori
Ionotropici

Voltaggio
Dipendenti
VOC



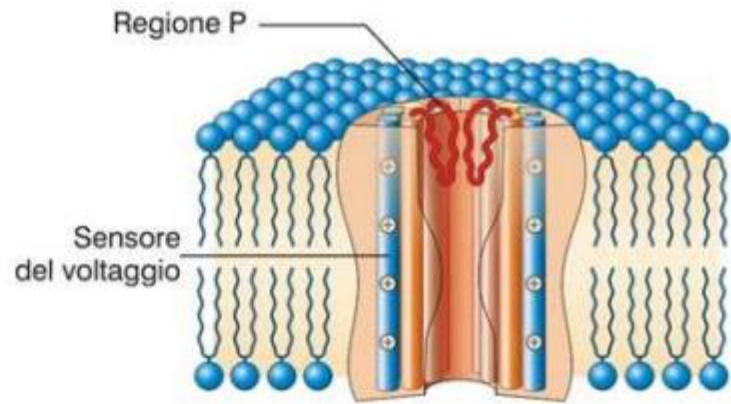
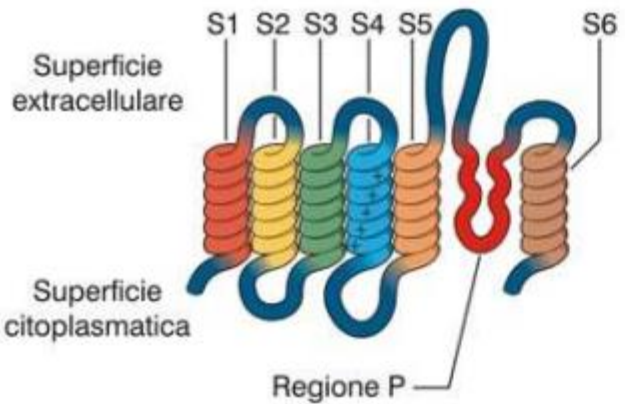
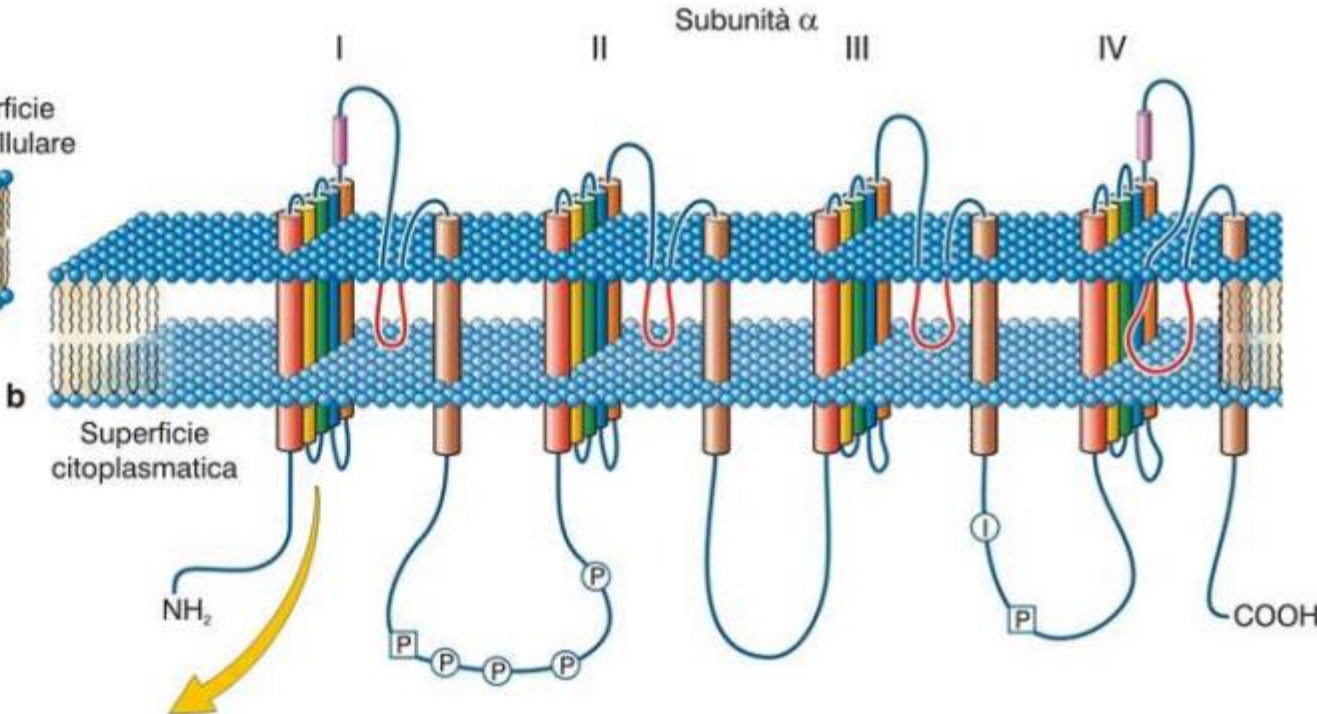
Canali del Na⁺
Canali del Ca²⁺
Canali del K⁺

Canali Ionici Voltaggio – Dipendenti (VOC)



a

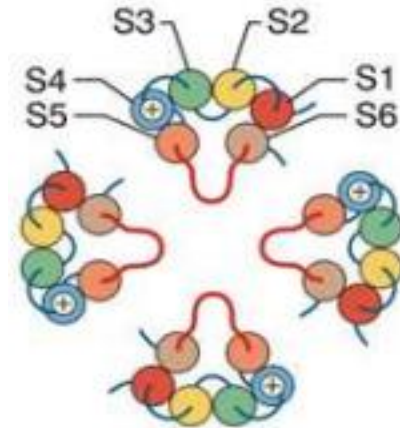
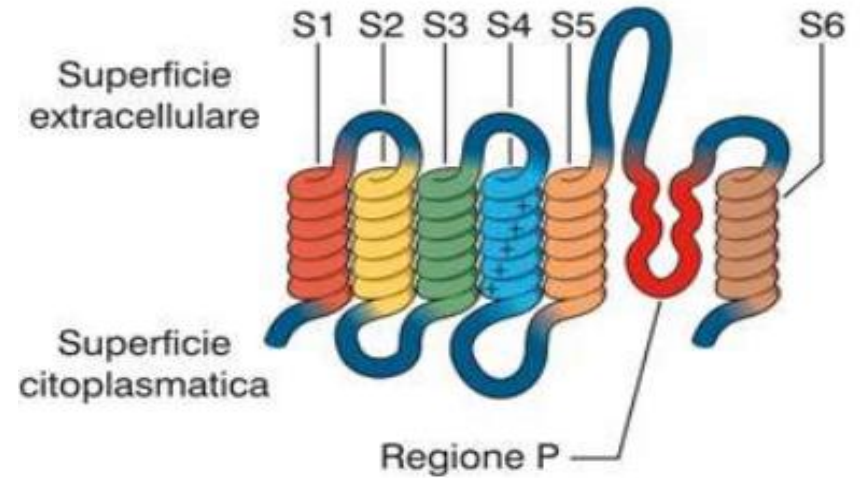
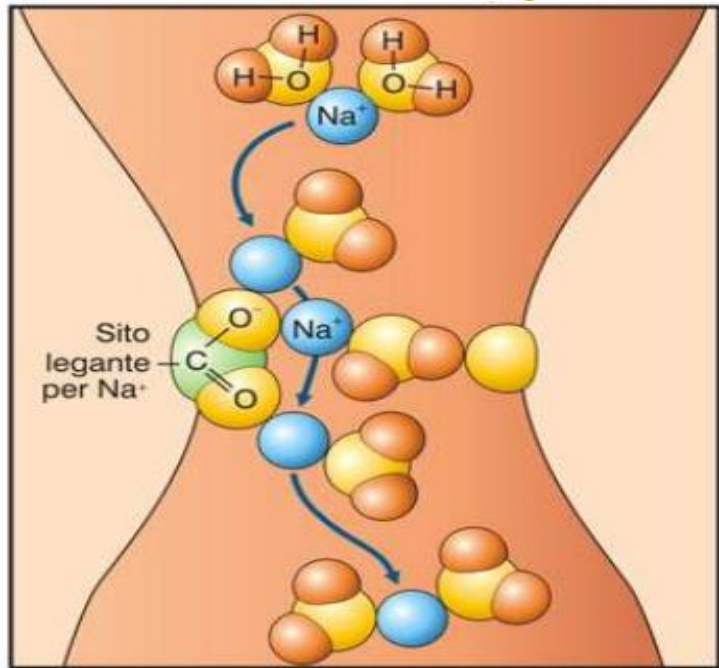
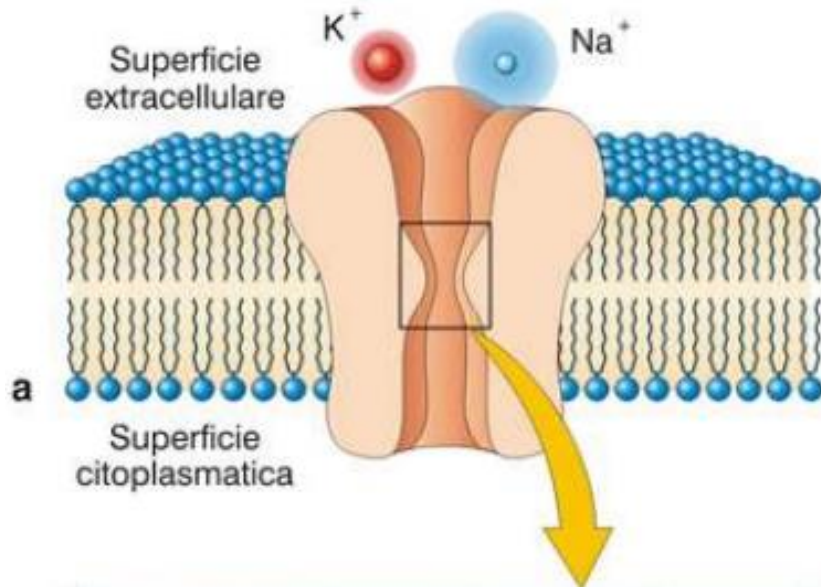
Na⁺



c

d

VOC: selettività



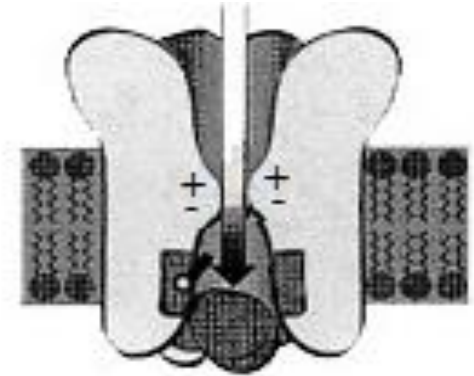
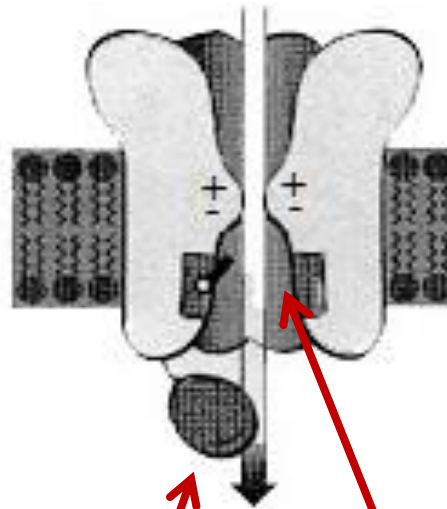
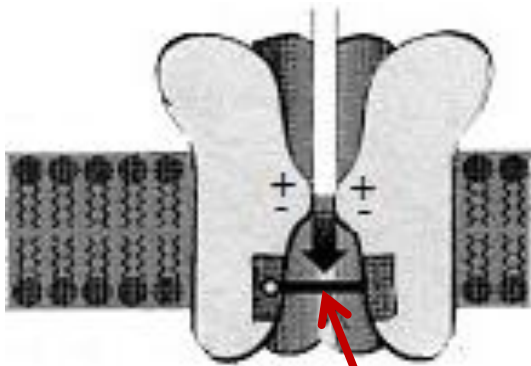
- Elica S6 → Filtro di selettività
- Elica S4 → Sensore di Voltaggio

VOC

Assenza Flusso $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

Presenza flusso $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

Assenza Flusso $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$



Cannello di
Attivazione Chiuso

Cannello di
Attivazione Aperto

Cannello di
Inattivazione Aperto

Cannello di
Inattivazione Aperto

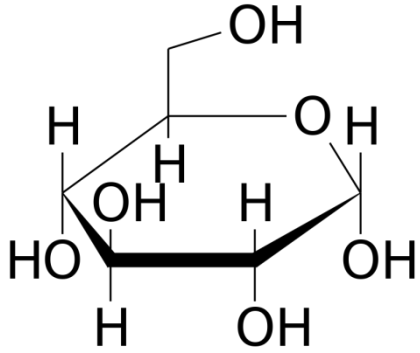
Cannello di
Inattivazione Chiuso

**Potenziale di Riposo:
Canale CHIUSO**

**Stato Attivo:
Canale APERTO**

**Stato Inattivo:
Canale CHIUSO**

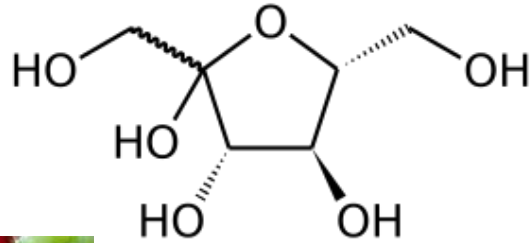
Recettori del Dolce



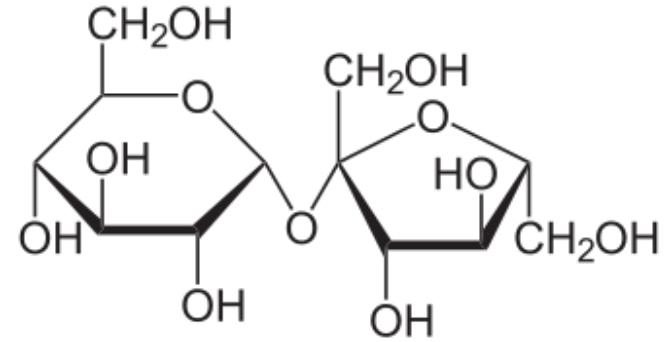
D-glucosio



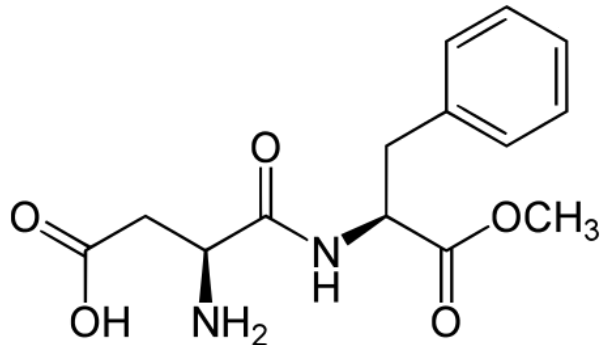
Agonisti



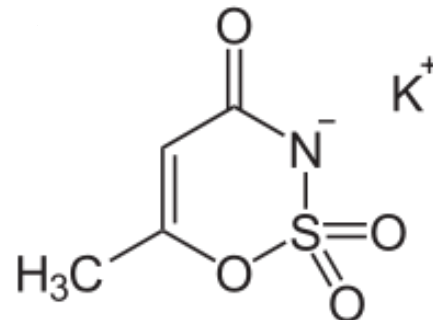
D-fruttosio



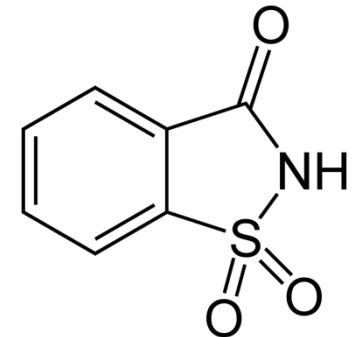
Saccarosio



Aspartame



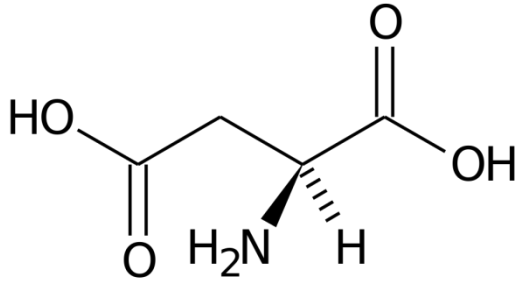
Acesulfame K



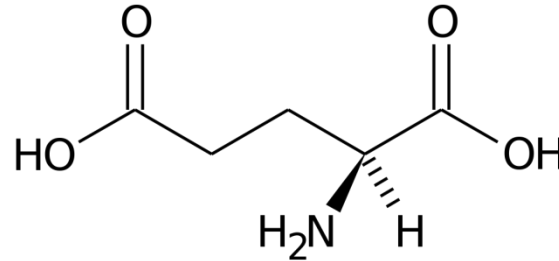
Saccarina

Recettori Umami

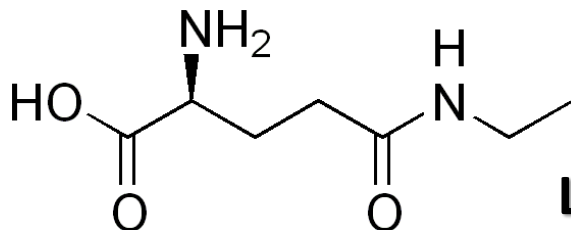
Agonisti



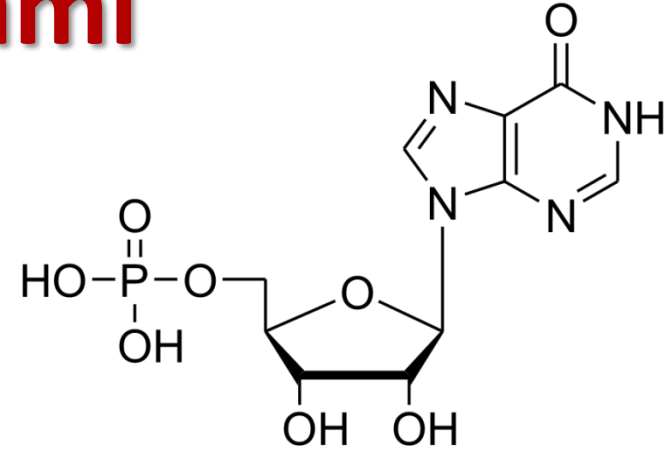
Acido-L-aspartico



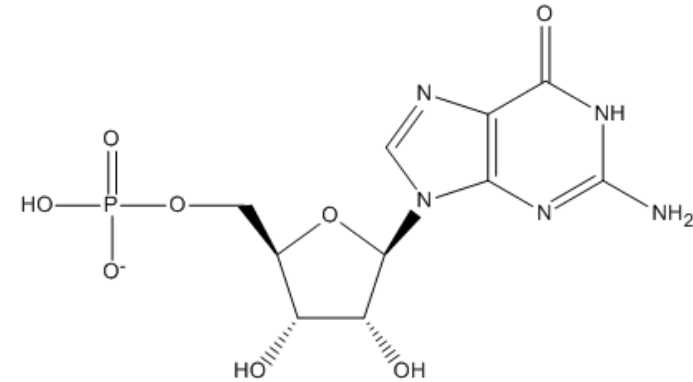
Acido-L-glutammico



L-Teanina



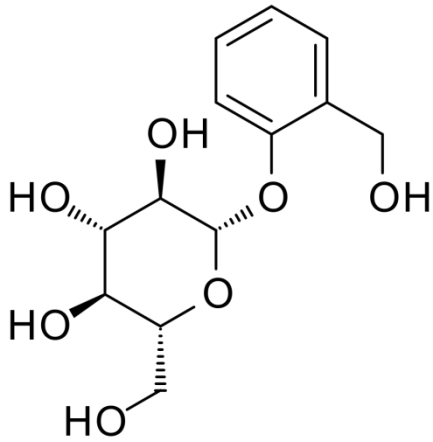
Inosine-monophosphate (IMP)



Guanosine-monophosphate (IMP)

Recettori dell'Amaro

Agonisti



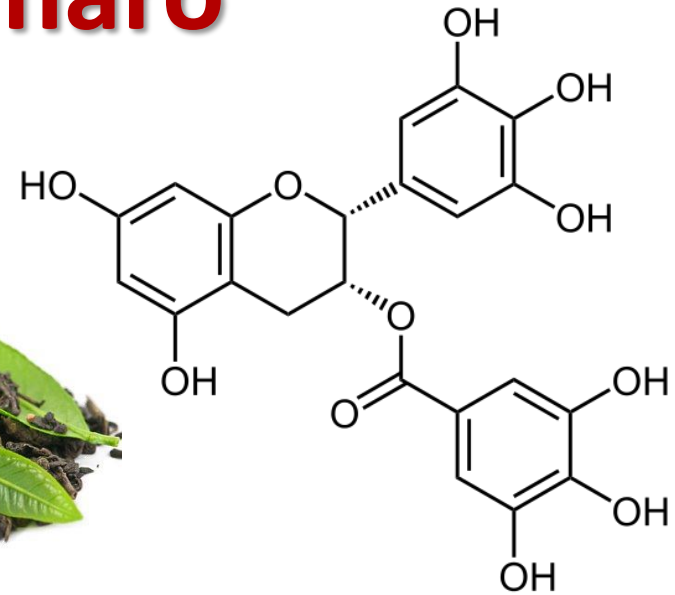
Salicina



Salix alba



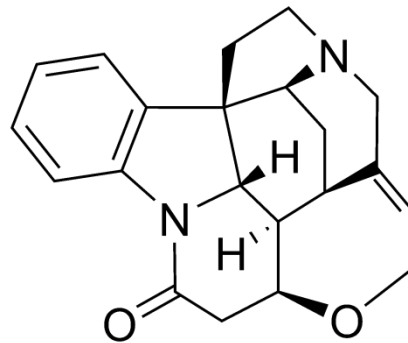
Camellia sinensis



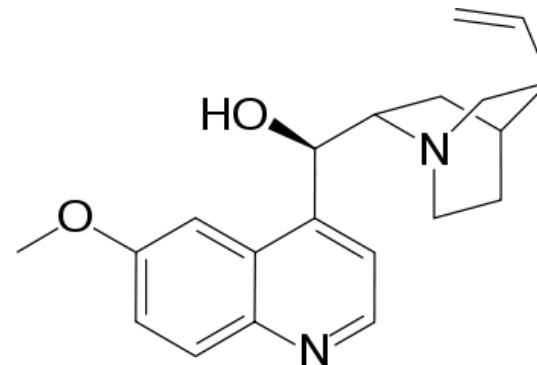
Epigallocatechina gallato



Strychnos nux-vomica



Stricnina



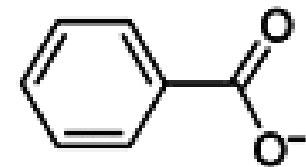
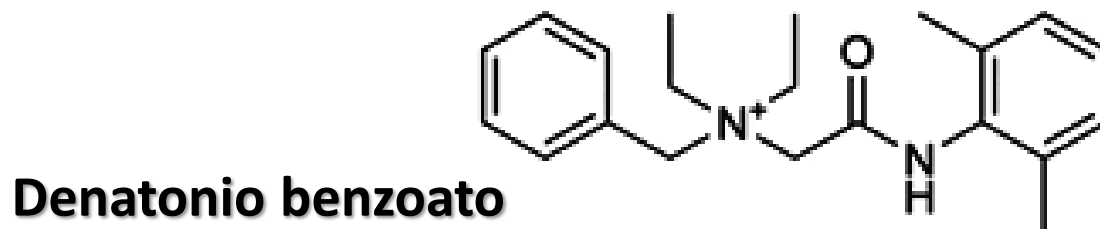
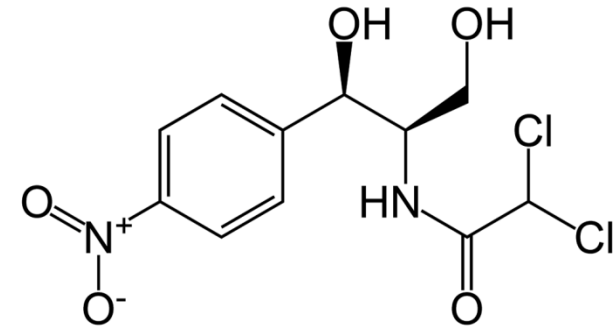
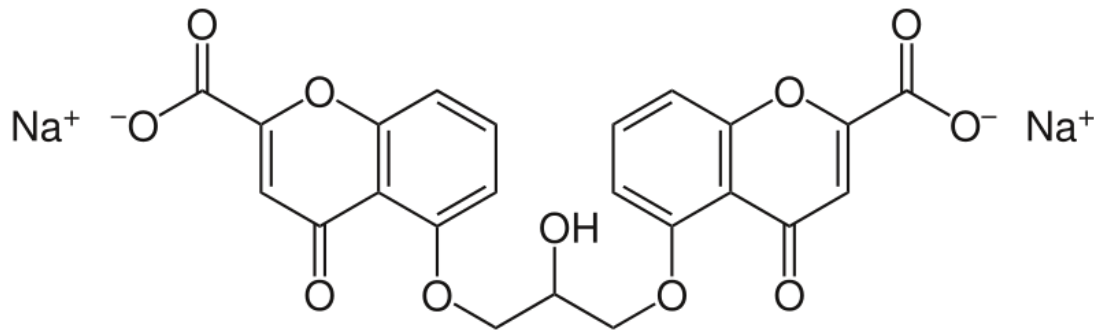
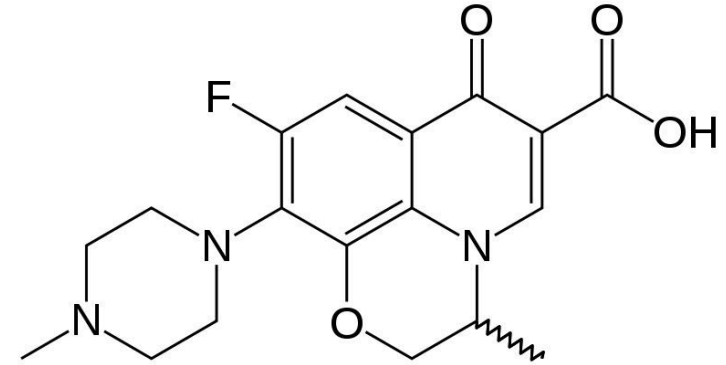
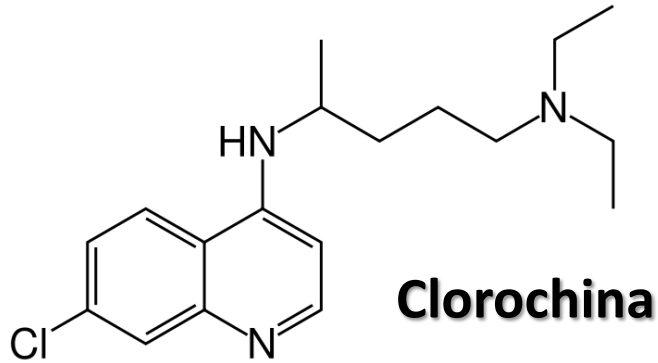
Chinina



Chincona pubescens

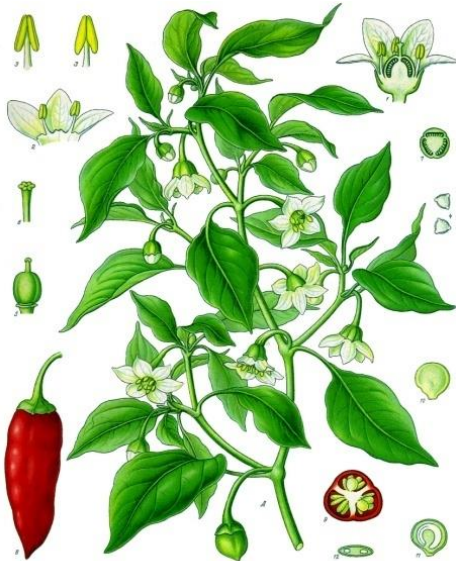
Recettori dell'Amaro

Agonisti

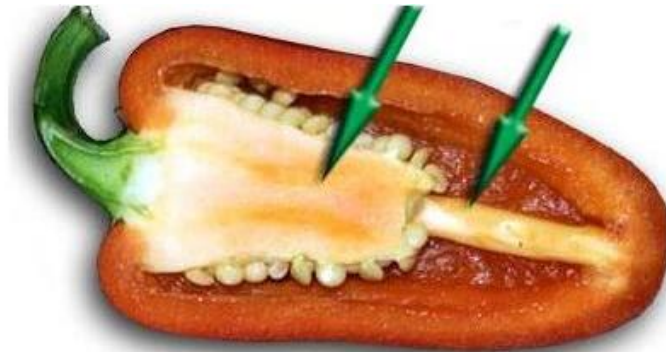
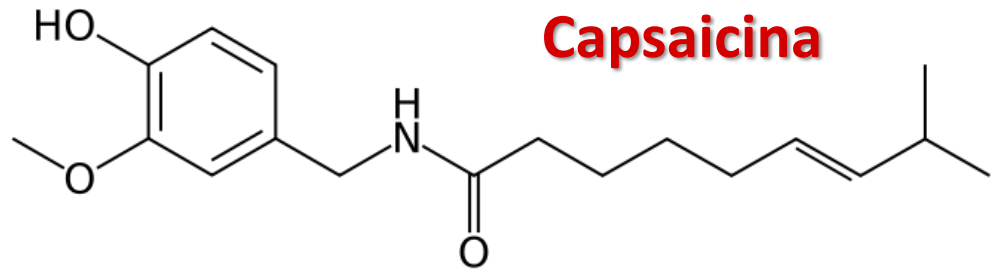


Recettori della Capsaicina

- La **capsaicina** è una sostanza contenuta all'interno dei frutti del *Capsicum Annuum* (peperoncino piccante)
- Appartiene alla classe dei capsaicinoidi, ammidi della vanillamina con acidi grassi a media catena
- È la sostanza responsabile del sapore piccante del peperoncino

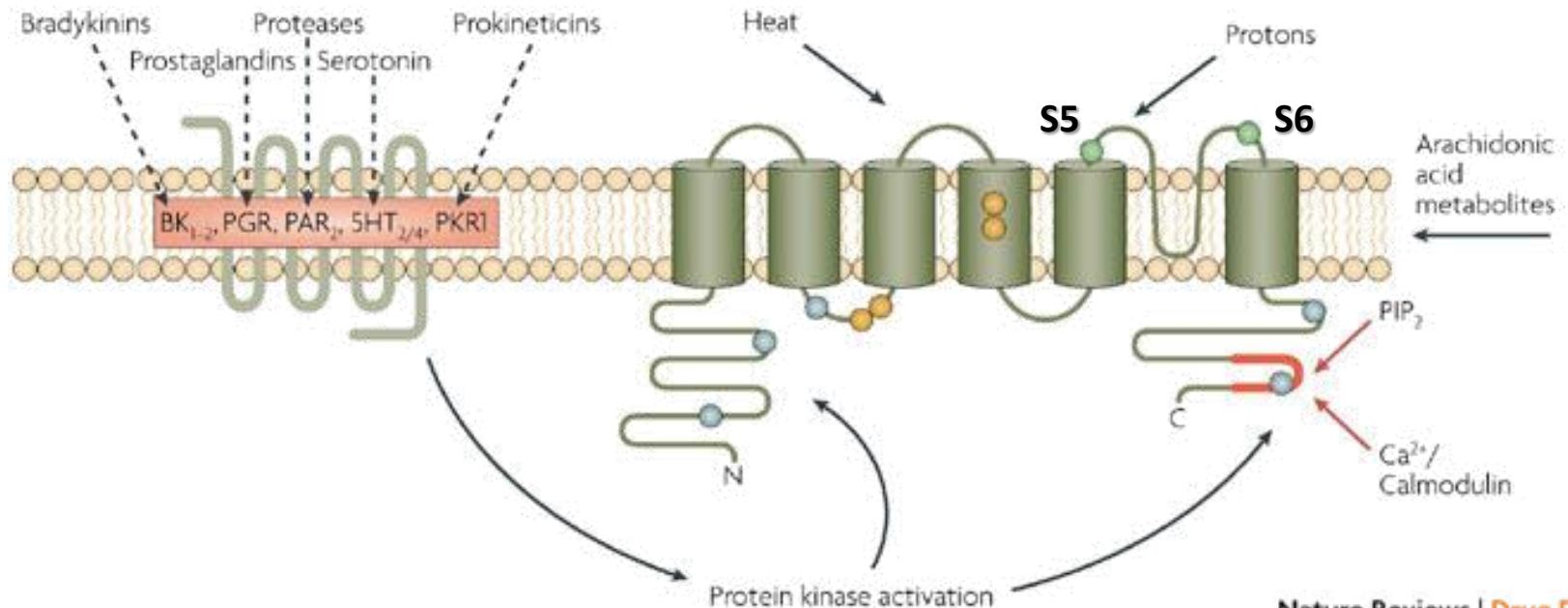


Capsicum Annuum



Recettore della Capsaicina

- Il recettore della capsaicina **TRPV1** (transient receptor potential-vanilloid subfamily 1) appartiene alla famiglia dei **recettori TRP** o **recettori dei vanilloidi**, coinvolti nella nocicezione
- Tali recettori sono canali ionici permeabili ai cationi bivalenti, costituiti da 4 subunità ognuna composta da 6 domini TM più un “dominio del poro” localizzato tra i segmenti S5 e S6



Canali ionici: agenti terapeutici

- **Canali del Na⁺**

- Anestetici Locali (Lidocaina, Mepivacaina, Bupivacaina)
- Agenti Anticonvulsivanti (Carbamazepina, Fenitoina, Lamotrigina)
- Agenti Antiaritmici di Classe I (Chinidina, Lidocaina, Flecainide)
- Diuretici (Amiloride)

- **Canali del K⁺**

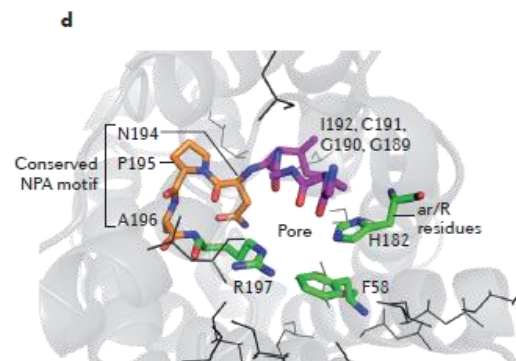
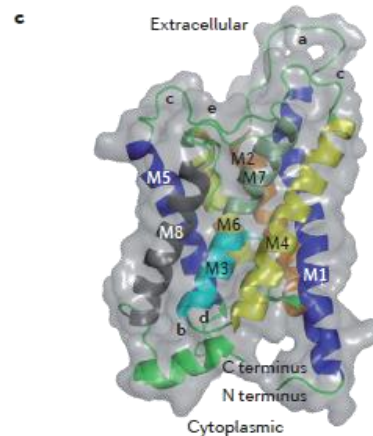
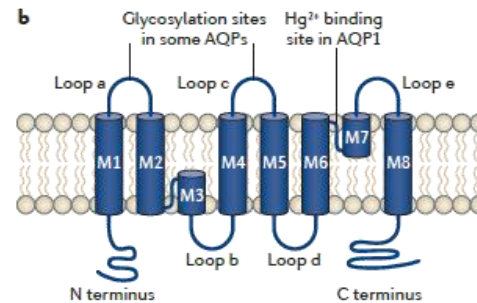
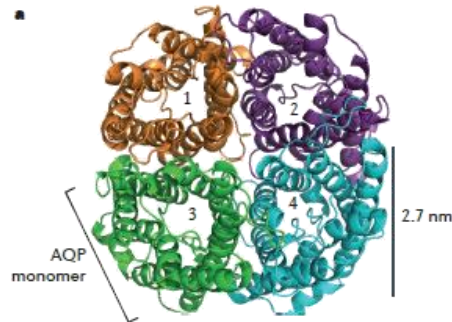
- Antidiabetici (Glipizide, Giburide, Tolazamide)
- Agenti Antipertensivi (Diazossido, Minoxidil)
- Agenti Antiaritmici di classe III (Amiodarone, Dofetilide, Sotalolo)
- "Potassium Channel Openers" (Adenosina, Aprikalim, Nicorandil)

- **Canali del Ca²⁺**

- Agenti Antianginosi (Diltiazem, Nifedipina, Verapamile)
- Agenti Antipertensivi (Amlodipina, Diltiazem, Verapamile)
- Agenti Antiaritmici di Classe IV (Diltiazem, Verapamile)

Acquaporine (AQP)

- Canali proteici localizzati nella membrana, dove regolano il flusso bidirezionale dell'acqua
- Ne sono state identificate due famiglie:
 1. **Acquaporine specifiche:** consentono solo il trasporto dell'acqua
 2. **Acquagliceroporine:** consentono il passaggio dell'acqua, ma anche di glicerolo e altre molecole neutre



Acquaporine

- Le **AQP** accelerano il flusso delle molecole d'acqua attraverso le membrane cellulari di specifici tessuti (es. tubuli prossimali renali, eritrociti)
- Sono state identificate 9 isoforme di acquaporine, ognuna caratterizzata da un diverso grado di permeabilità

Sottotipo	Permeabilità
Acquaporina-1 Acquaporina-2 Acquaporina-5 Acquaporina-8	Media
Acquaporina-0 Acquaporina-3	Bassa
Acquagliceroporine-7 Acquagliceroporine-9	Intermedia
Acquaporina-6	Anomala