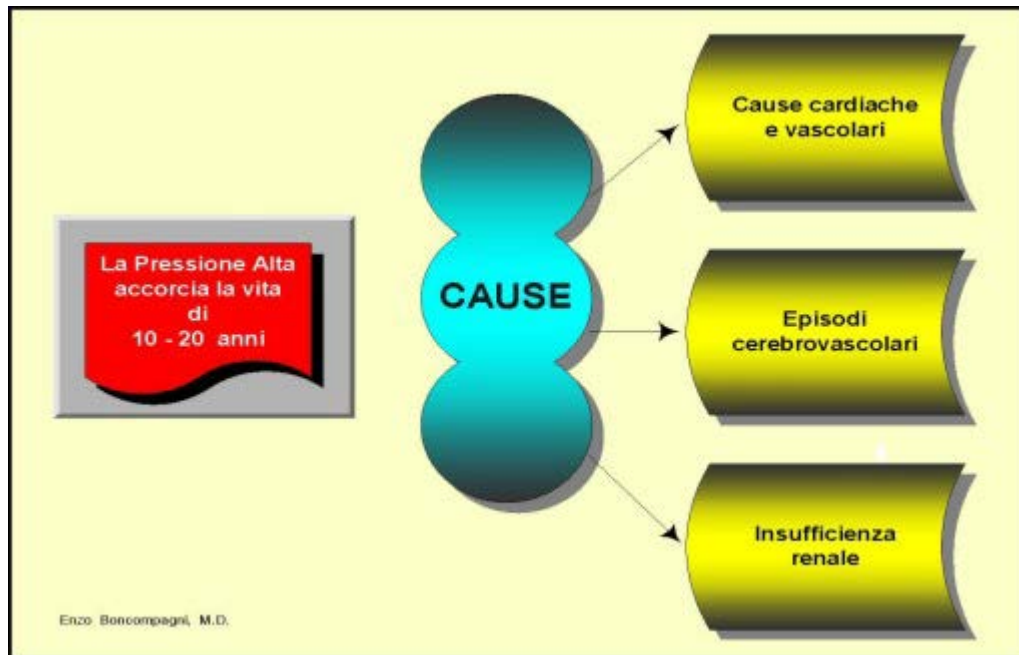


# IL SISTEMA RENINA- ANGIOTENSINA

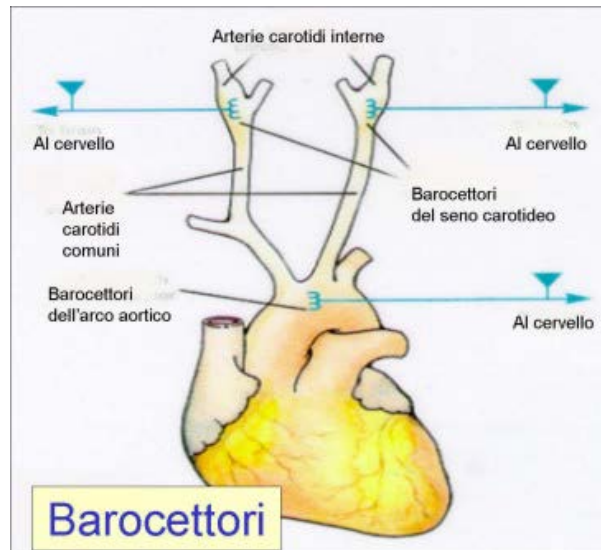
# IPERTENSIONE

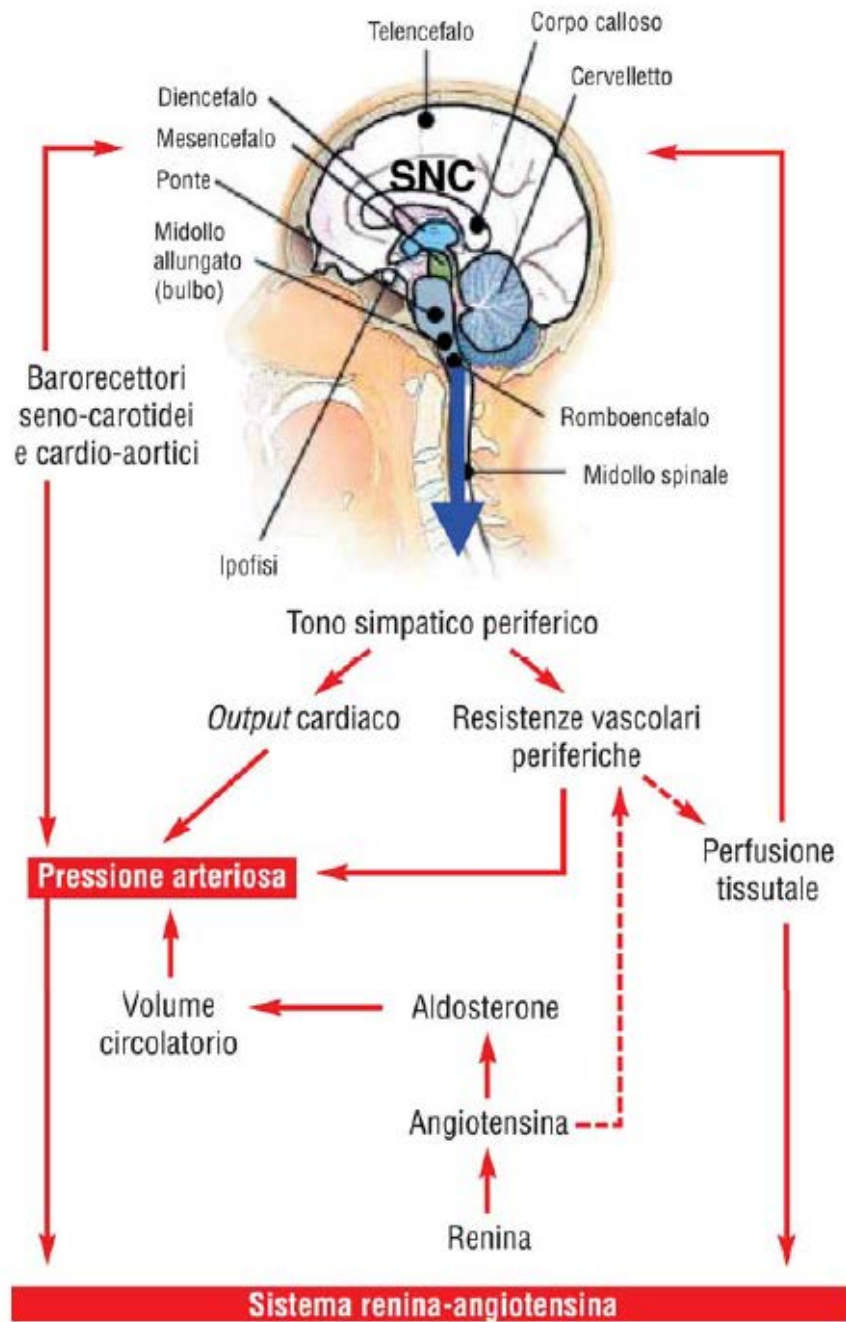
- Ipertensione (>85-130 mmHg)
  - primaria o essenziale (80%)
  - secondaria o sintomatica (malattie renali, disturbi del SNA, etc.)



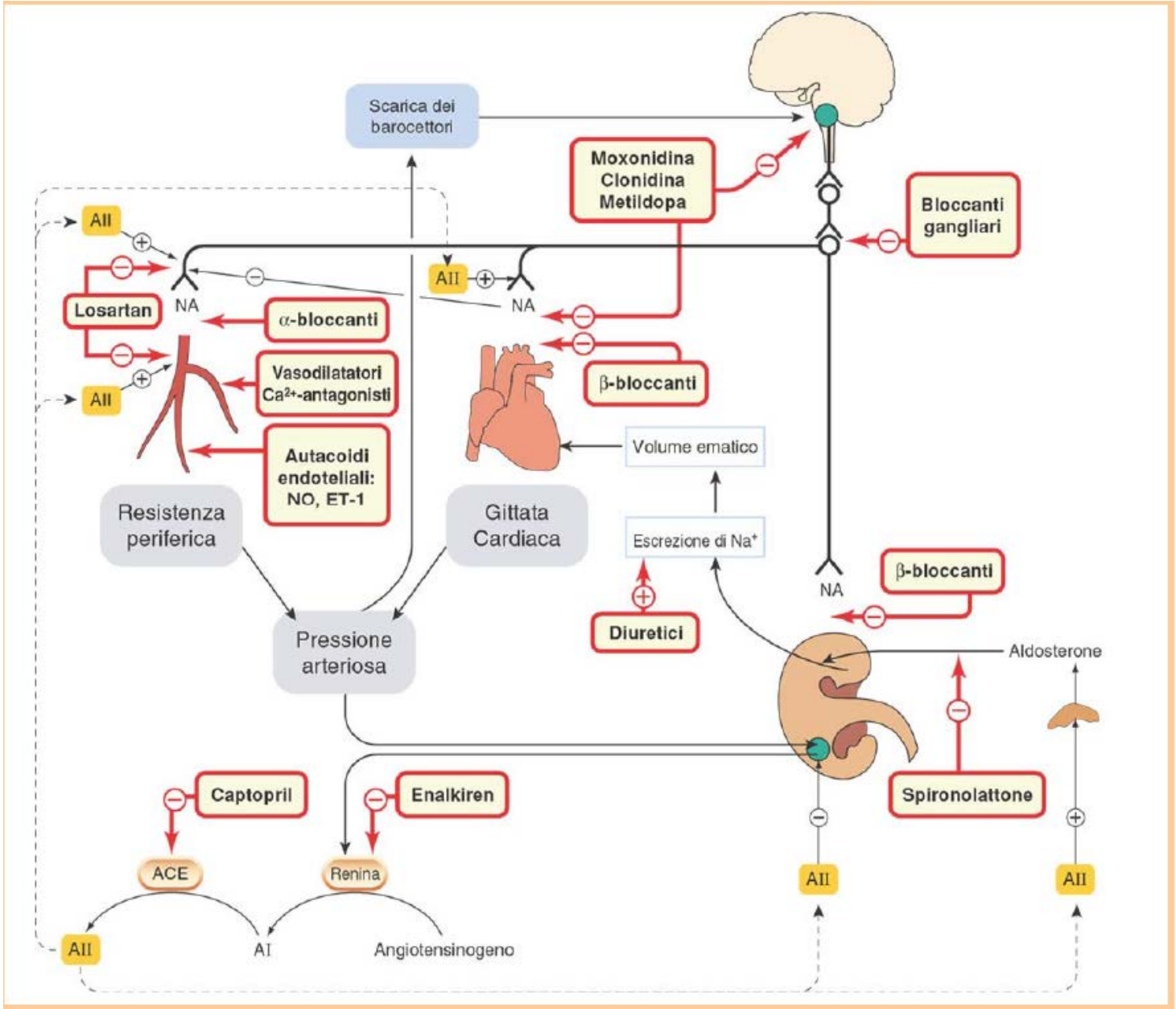
# Sistemi coinvolti nella regolazione della pressione sanguigna

- ✓ Sistema nervoso simpatico
- ✓ Sistema renina-angiotensina-aldosterone
- ✓ Rene





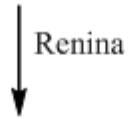
# SITI D'AZIONE DEI FARMACI ANTIPERTENSIVI



# SISTEMA RENINA- ANGIOTENSINA

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-R

**Angiotensinogeno**



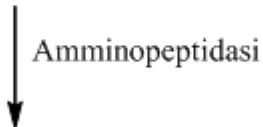
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu

**Angiotensina I**



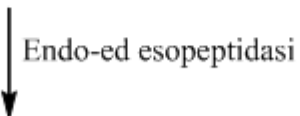
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

**Angiotensina II**



Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe

**Angiotensina III**



Enzimi inattivi

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro

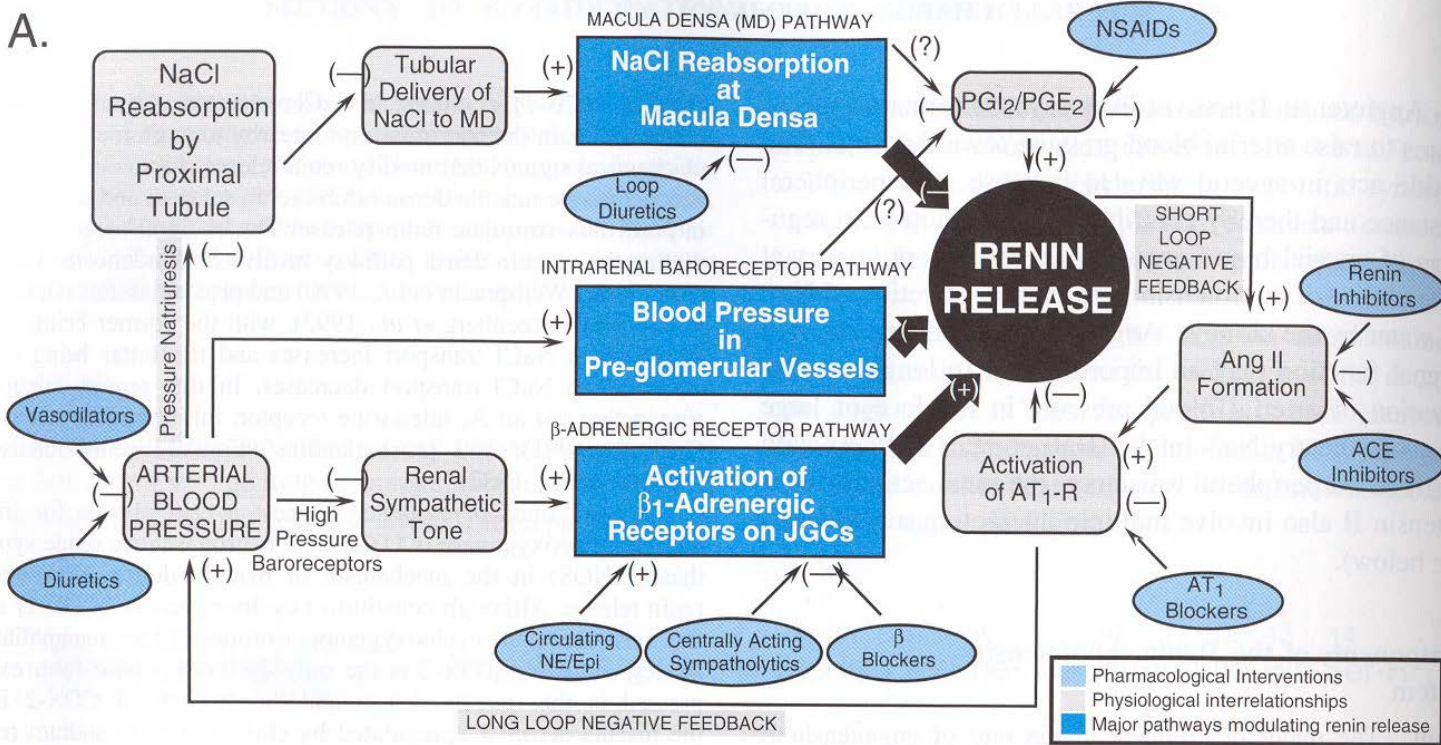
**Angiotensina 1-7**



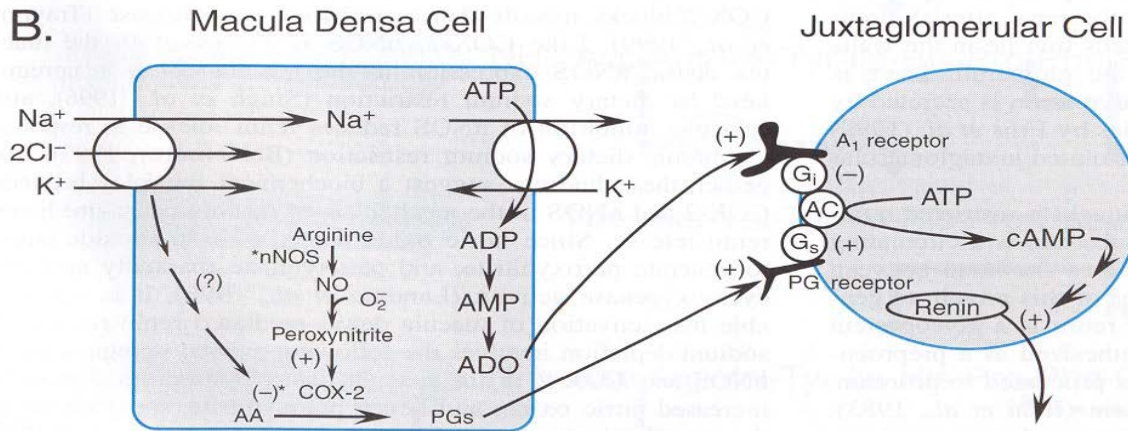
# RENINA

- E' sintetizzata, accumulata e secreta nel circolo arterioso renale dalle cellule iuxtaglomerulari localizzate nella parete delle arteriole afferenti al loro ingresso al glomerulo
- Viene secreta per esocitosi
- E' un'aspartilproteasi che agisce su un numero limitato di substrati(il suo substrato naturale è una  $\alpha_2$ -globulina circolante (angiotensinogeno))
- Scinde il legame Leu-Val situato al residuo 10 e 11 dell'angiotensinogeno

A.



B.



\*Expression upregulated by chronic sodium depletion



# SISTEMI DI CONTROLLO PER IL RILASCIO DI RENINA

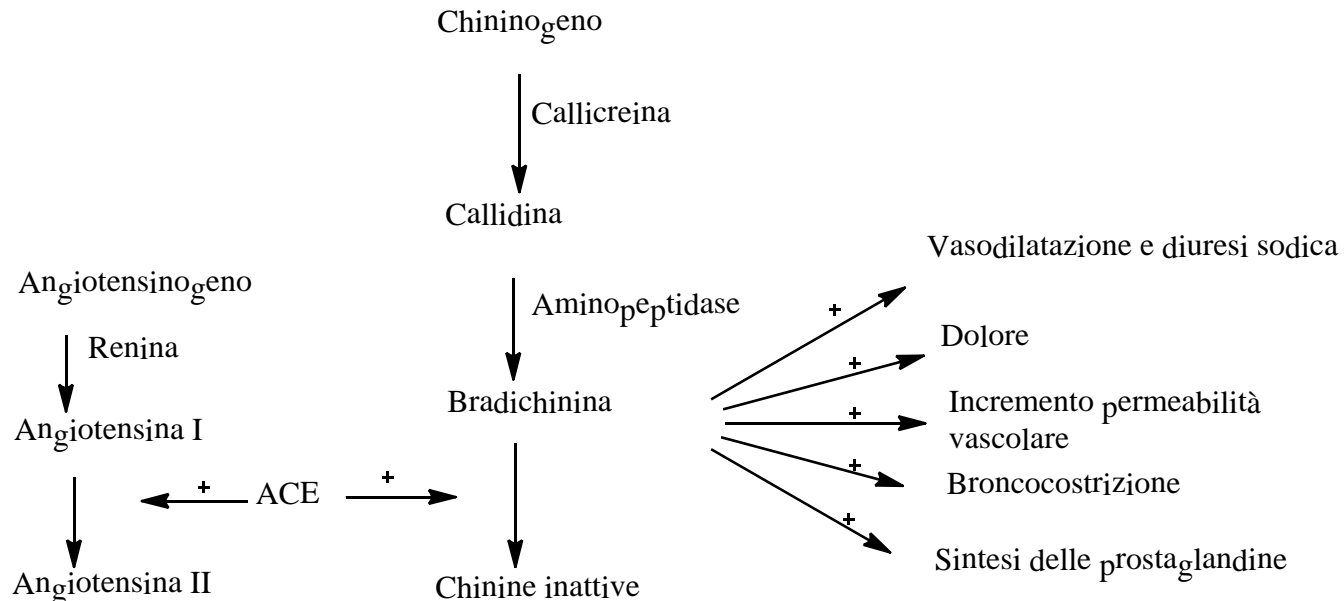
-Meccanismo di feedback negativo a **BREVE** raggio: l'angiotensina II attiva i recettori AT I sulle cellule iuxtaglomerulari inibendo l'ulteriore rilascio di renina

-Meccanismo di feedback negativo **LUNGO** raggio: Angiotensina II aumenta la pressione arteriosa che inibisce l'ulteriore rilascio di renina

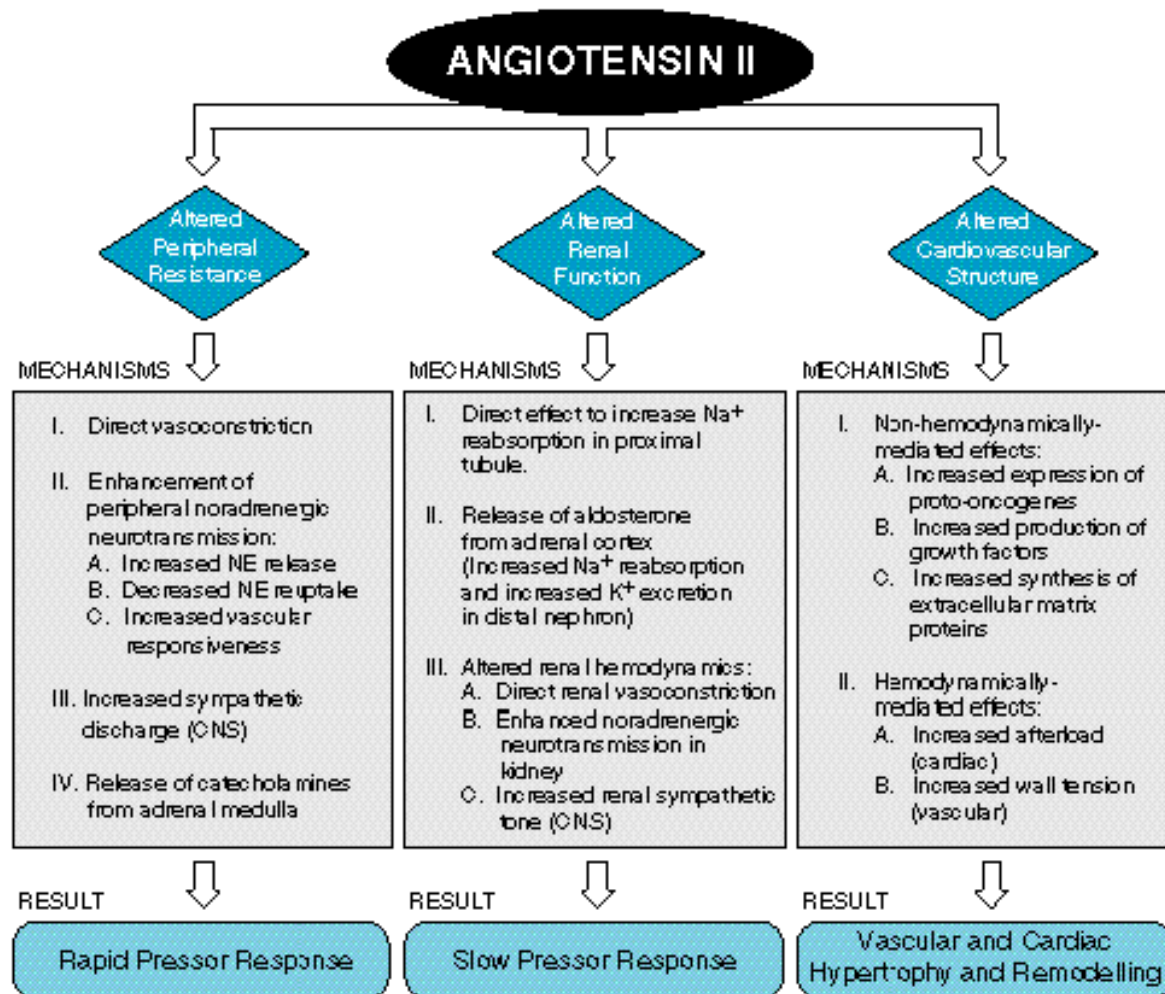
- 1) Attivando barocettori e riducendo il tono simpatico renale
- 2) Aumentando la pressione nei vasi preglomerulari
- 3) Riducendo il riassorbimento di NaCl nel tubulo prossimale e determinando un aumento del carico salino in arrivo alla macula densa

# ACE

- E' una zinco-proteasi sottoposto ad un controllo fisiologico solo minimale
- I substrati preferiti hanno un solo gruppo carbossilico libero sull'aminoacido in posizione carbossi-terminale e la prolina non deve essere il penultimo aminoacido(l'enzima infatti non degrada l'angiotensina II)
- Coinvolto nelle trasformazioni della bradichinina



# PRINCIPALI EFFETTI DELL'ANGIOTENSINA II



- **Vasocostrizione diretta** per attivazione dei recettori AT1
- **Rilascio aldosterone dalla corticale surrene**
- **Stimolazione sistema simpatico**

***Trasmissione noradrenergica periferica***

Aumento rilascio di NA dalle terminazioni simpatiche periferiche, riduzione ricaptazione NA e potenziamento della risposta vasale alla NA. Facilitazione trasmissione gangliare

***Rilascio catecolamine dalla midollare del surrene***

- **Stimolazione funzione cardiaca**

Aumento forza e frequenza contrazione (iniziale)

- **Effetti SNC**

Maggior efflusso simpatico

riduzione azione inibitoria barocettori

Aumento senso di sete

stimolazione rilascio di vasopressina dalla neuroipofisi

- **Effetti emodinamica renale**
- riduzione flusso ematico renale per vasocostrizione diretta, aumento tono simpatico renale (via SNC) e facilitazione trasmissione adrenergica
- **Rimodellamento ed ipertrofia apparato cardiovascolare**

Proliferazione ed ipertrofia cellule muscolari lisce vasali e cardiomiociti  
 aumento sintesi di matrice extracellulare

Aumento espressione di geni coinvolti nella stimolazione della crescita cellulare e di geni per proteine della matrice extracellulare (collagene, fibronectina, tenascina)

# RECETTORI PER L'ANGIOTENSINA II

## Recettori metabotropici

### AT 1

(Tessuto vascolare, Cuore, Cervello, Rene, Zona glomerulare corticale del surrene)

### AT 2

(Midollare del surrene, Fegato, SNC)

### AT 3-AT 4(poco conosciuti)

I recettori **AT 1** mediano gli effetti dell'angiotensina II

I recettori **AT 2** antagonizzano alcuni effetti mediati dai recettori AT 1

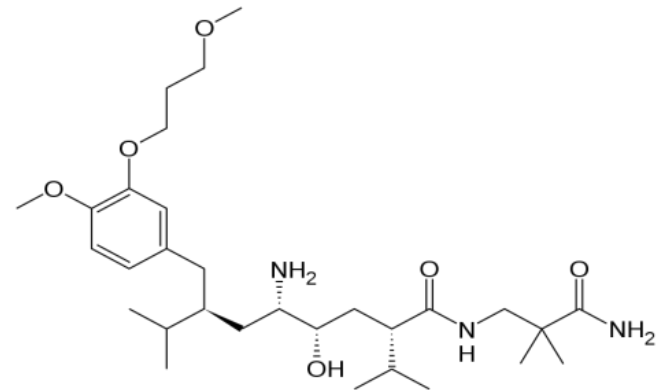
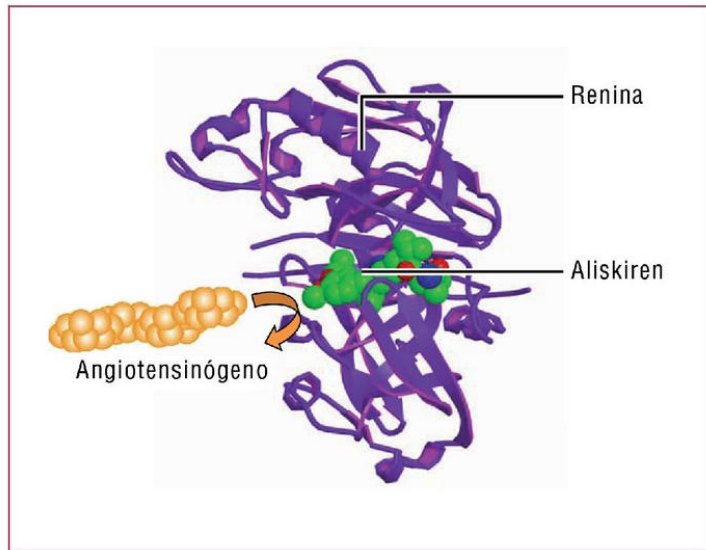
# RUOLO DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA NELLE PATOLOGIE VASCOLARI

Alti livelli di Angiotensina II possono contribuire all'ipertensione attraverso le due risposte pressorie (quella lenta e quella rapida)

Alti livelli di Angiotensina II possono causare ipertrofia cellulare ed incrementare sia il post-carico che la tensione delle pareti vasali portando ad insufficienza cardiaca congestizia

# INIBITORI DELLA RENINA

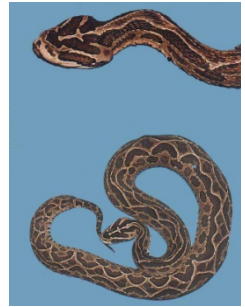
Gli inibitori della renina sono molecole “modellate” sull’ angiotensinogeno umano che bloccano l’azione della renina sul substrato legandosi in maniera competitiva al sito attivo della renina al quale rimangono legati senza subire alcun attacco enzimatico (falsi substrati).



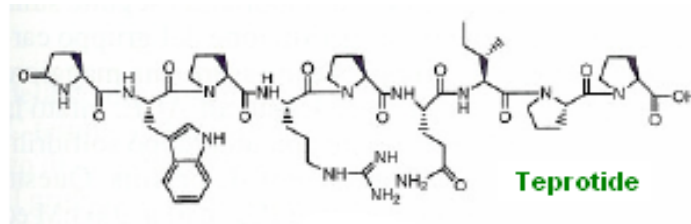
**ALISKIREN (Rasilez)**  
Inibitore reversibile  
**Ki= 0.6 nM**

La Renina è costituita da due lobi omogenei con una cavità in cui è presente il sito attivo (con 2 residui di Asp) dove si va ad inserire l’angiotensinogeno

# ACE-inibitori e loro sviluppo



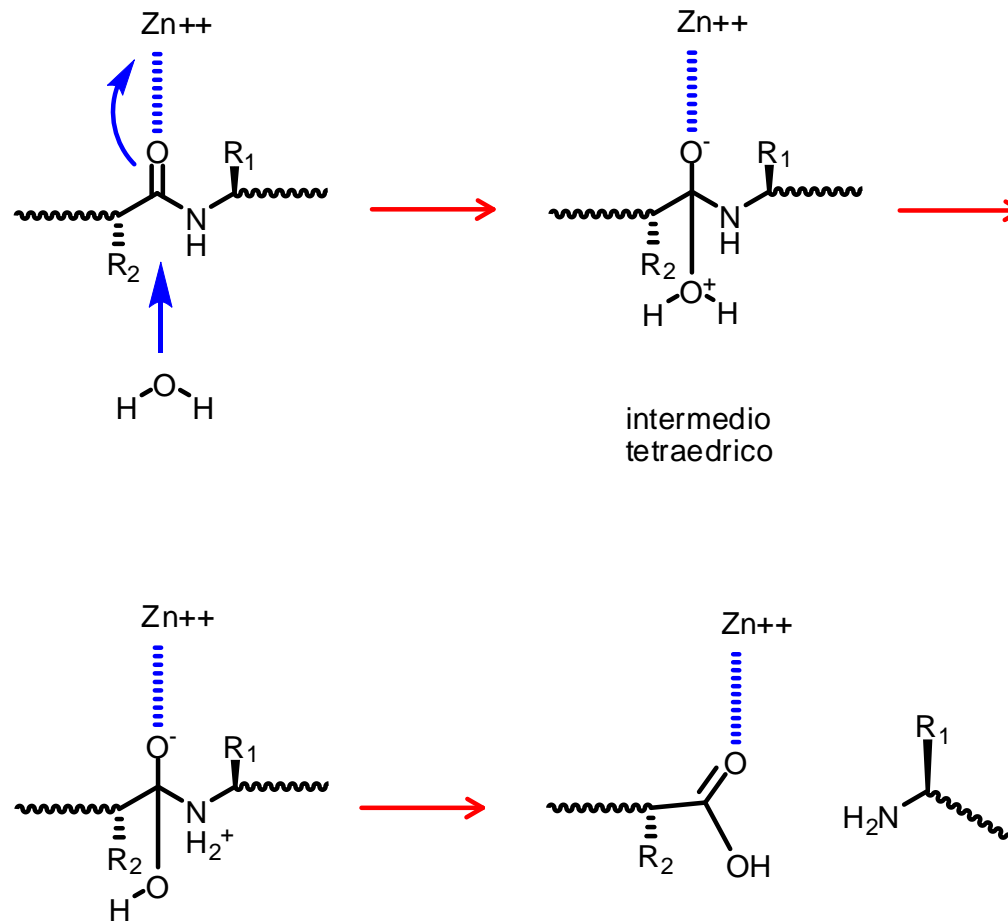
- Vengono isolati (1965) dal veleno della vipera brasiliana *Bothrops jararaca* alcuni peptidi che sono inibitori dell'ACE
- il più attivo inibitore *in vivo* è un nonapeptide che viene chiamato **teprotide** (notare Pro C-terminale)



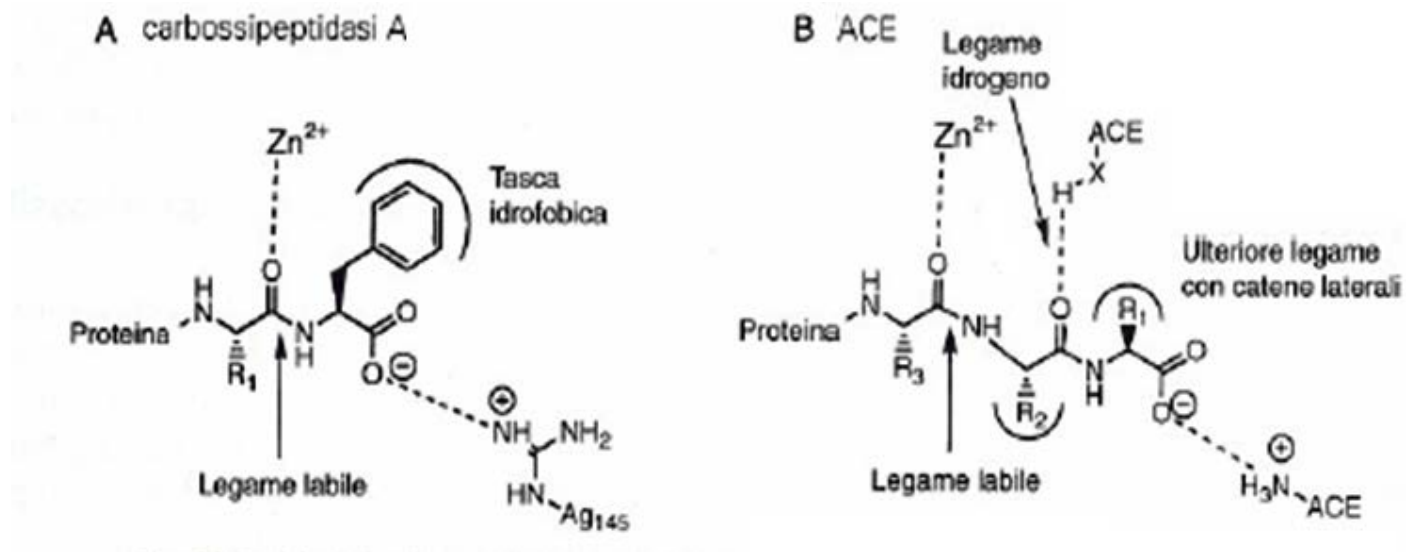
- la **teprotide** è attiva in soggetti con ipertensione essenziale ma, data la natura peptidica, non è somministrabile per os.
- necessità di sviluppare ulteriormente la **teprotide**, sulla base delle caratteristiche del sito-attivo dell'ACE.
- la carbossipeptidasi A, come l'ACE, è una esopeptidasi che contiene  $Zn^{++}$
- **è stato quindi costruito un modello teorico per l'ACE in analogia con quello della carbossipeptidasi A**



# Meccanismo di idrolisi di un legame peptidico catalizzata da una zinco-metallo proteasi (ACE)



# MODELLO DI UN SUBSTRATO CHE SI LEGA ALLA CARBOSSIPEPTIDASI A (A) O ALL'ACE (B)

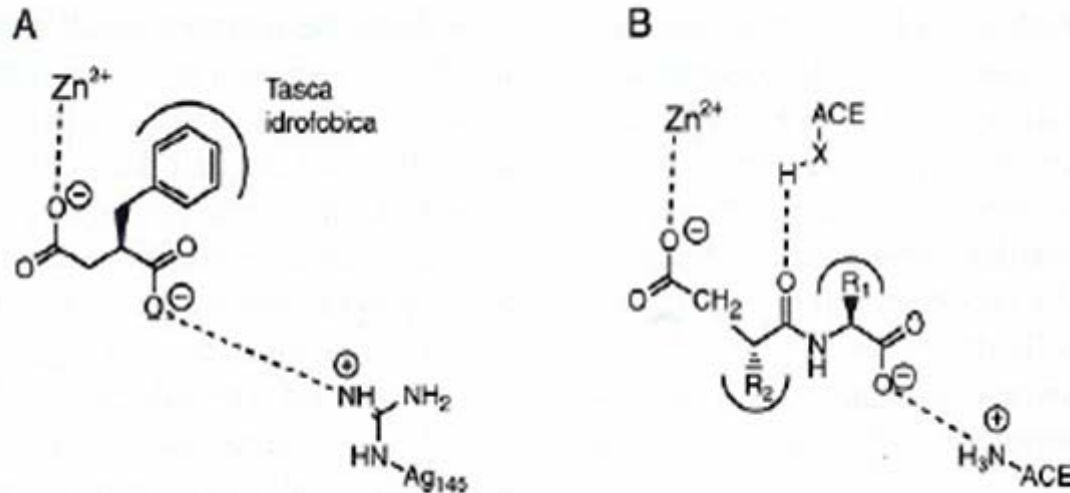


3 Interazioni principali del substrato alla carbossipeptidasi (esopeptidasi)

- Carica negativa dell'anione carbossilato dell'AA terminale del substrato che si lega con Arg-145 dell'enzima
- Tasca idrofobica in cui si inserisce un residuo aromatico o apolare
- Atomo di zinco che si trova vicino al legame peptidico da idrolizzare e che contribuisce a stabilizzare l'intermedio tetraedrico che si forma

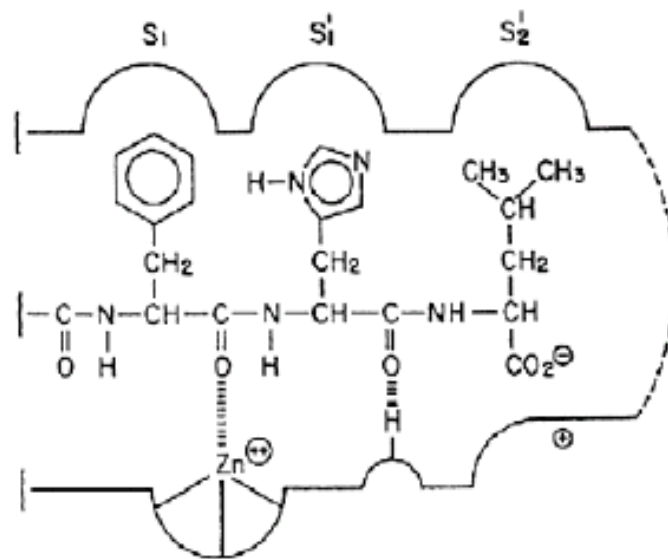
**LE INTERAZIONI SONO SIMILI NELL'ACE: tuttavia l'Ace non sembra agire sul C-terminale quindi non sembra esserci la tasca idrofobica ed il legame peptidico terminale non è labile**

# Sviluppo di inibitori *analoghi del substrato* della Carbossipeptidasi A e dell'ACE

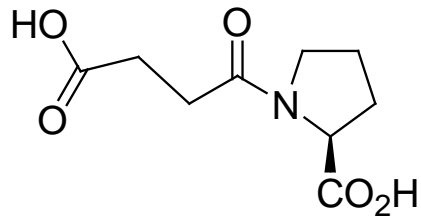


**Fig. 23.6.** Modelli del legame inibitorio di (A) acido D-2-benzilsuccinico alla carbossipeptidasi A e (B) derivati dell'acido succinico all'ACE.

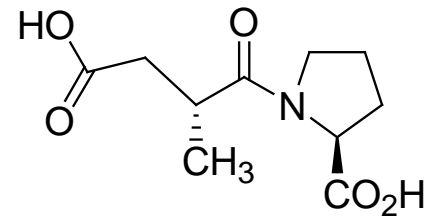
# MODELLO DI CUSHMAN E PETRILLO-ONDETTI



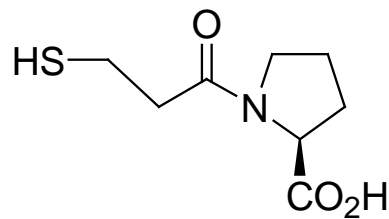
# COMPOSTI CHE HANNO PORTATO ALLO SVILUPPO DEL CAPTOPRIL



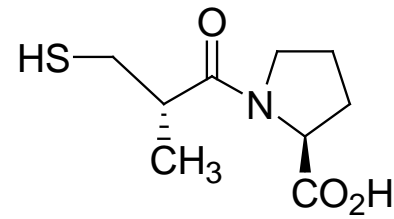
Succinil-L-prolina



D-2-Metilsuccinil-L-prolina

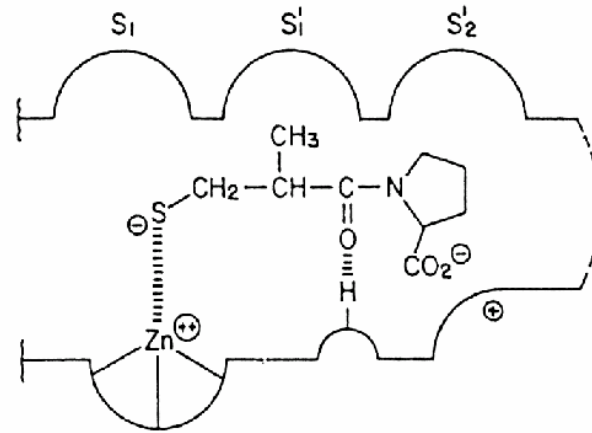
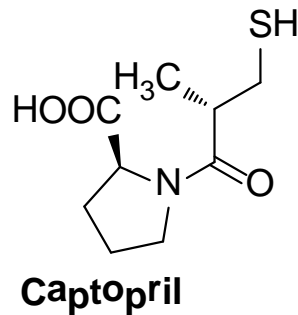


3-Mercaptopropionil-L-prolina



**CAPTOPRIL**

# CAPTOPRIL



**CAPTOPRIL:** 1°inibitore ACE non peptidico sintetizzato

Interazione a due punti sul sito attivo dell'enzima, mediante gruppo carbossilico ed interazione con l'atomo di Zn<sup>2+</sup>

**VANTAGGI:** Potente inibitore dell'enzima ACE (K<sub>i</sub>=1.7nM)

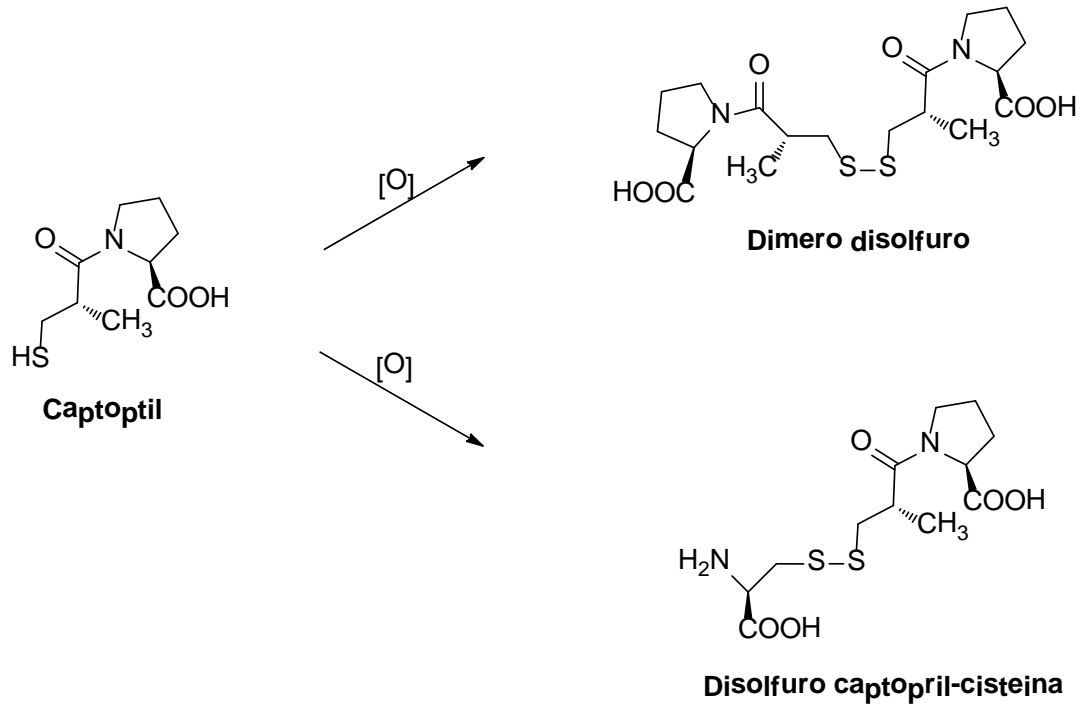
Biodisponibilità orale molto elevata (75%)

**SVANTAGGI:**-Breve emivita

-Riduzione della biodisponibilità per contemporanea assunzione di cibo (1 h ora prima dei pasti)

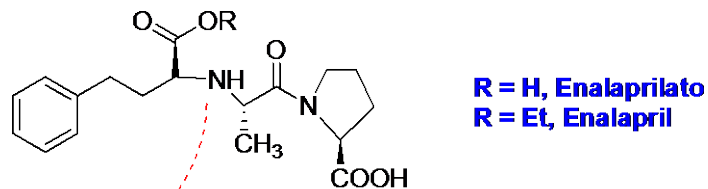
-Potenziale eccessivo effetto ipotensivo

# METABOLISMO CAPTOPRIL



Circa il 40-50% della dose di Captopril viene escretata immodificata mentre la restante Parte è escretata sia come dimero disolfuro che come disolfuro captopril-cisteina

# ACE-inibitori con gruppi carbossilici



*N-amminico!* ←

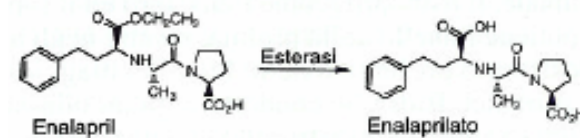


Fig. 23.9. Bioattivazione dell'enalapril.

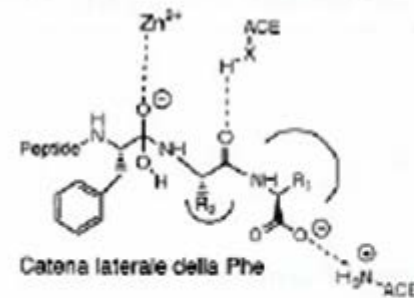
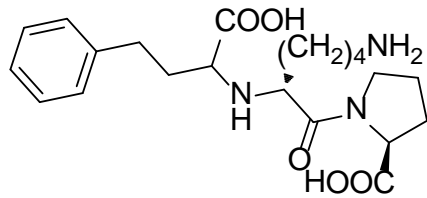


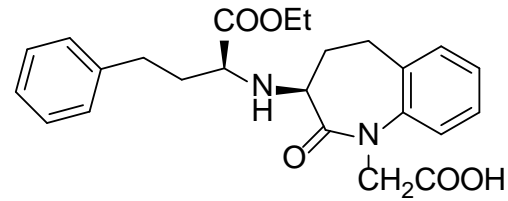
Fig. 23.8. Confronto delle strutture dell'enalaprilato e dello stato di transizione dell'angiotensina I durante la sua idrolisi da parte dell'ACE.



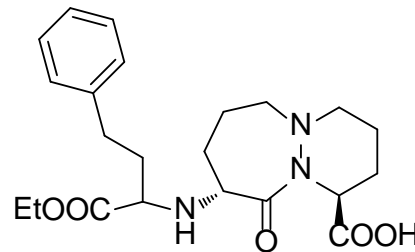
# Altri ACE-inibitori con due gruppi carbossilici



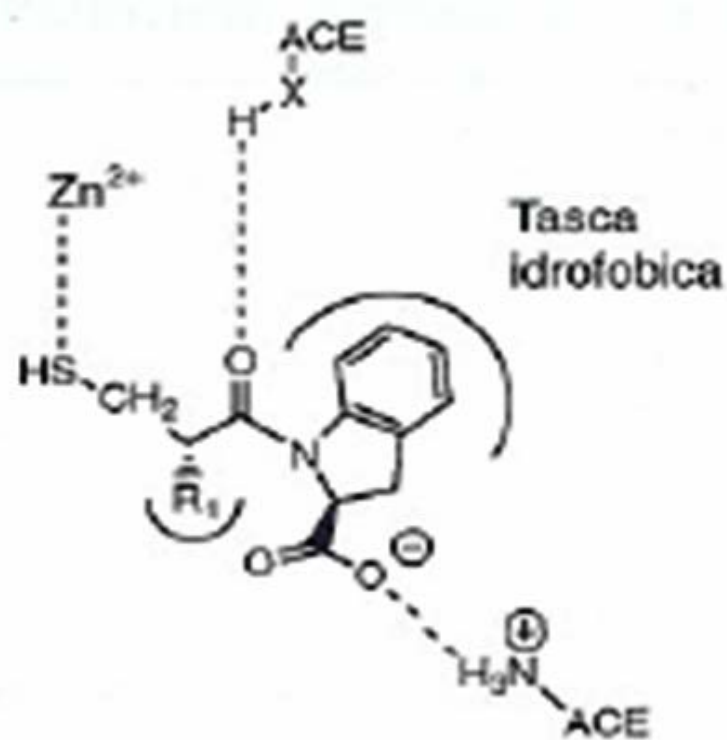
**Lisinopril**



**Benazepril**

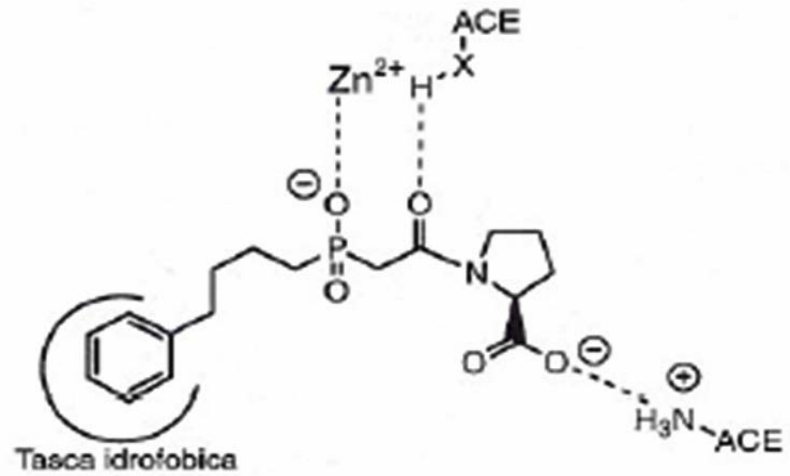
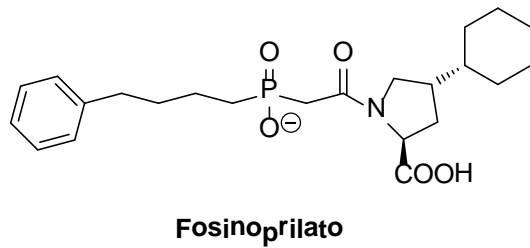


**Cilazapril**



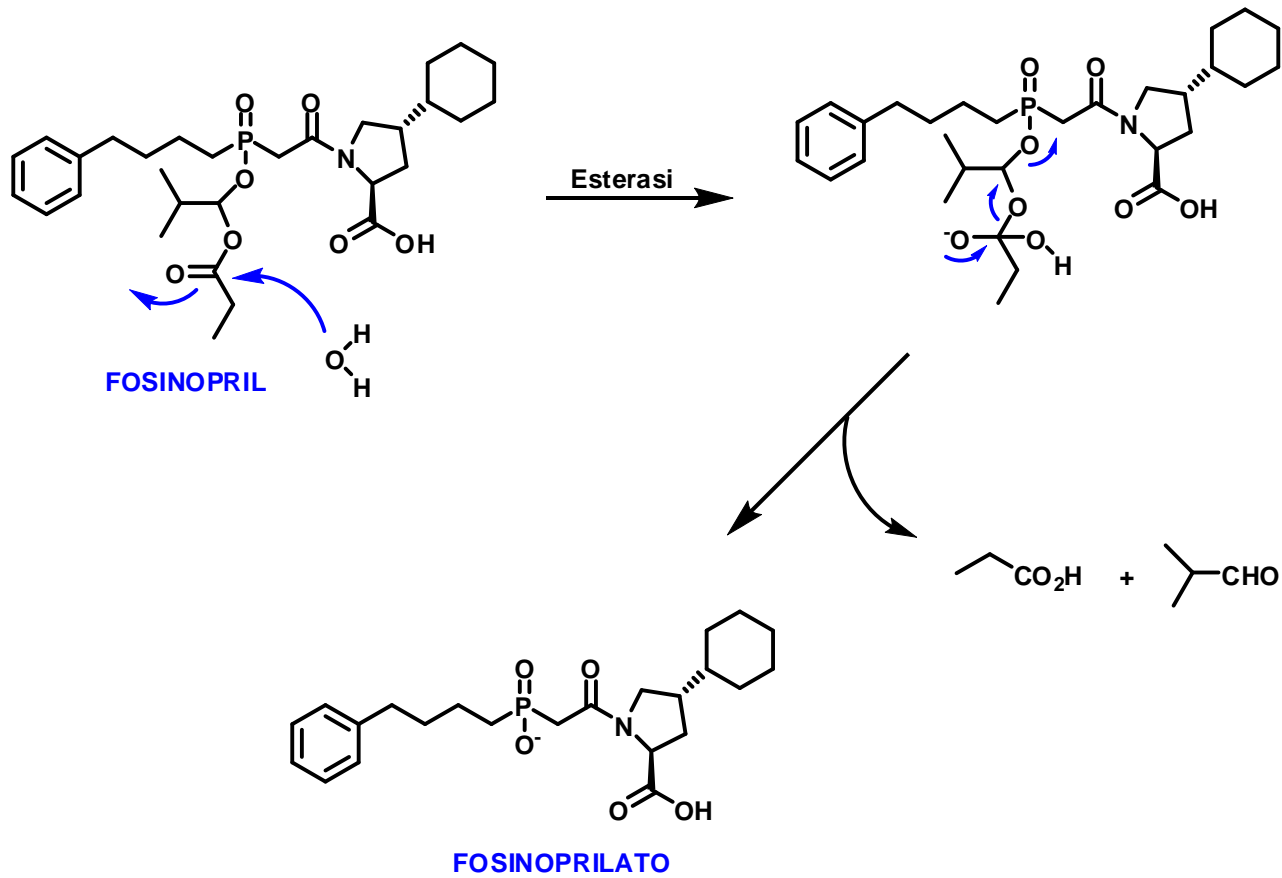
**Fig. 23.10.** Modello modificato del legame degli inibitori all'ACE.

# Inibitori contenenti gruppi fosfinici



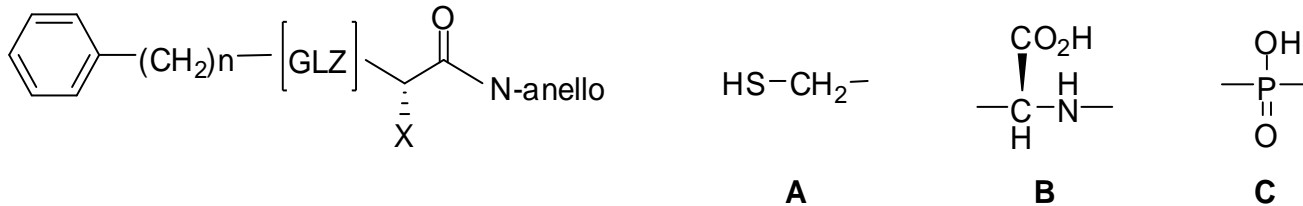
Legame all'ACE degli analoghi del fosinato.

# BIOATTIVAZIONE DEL FOSINOPRIL



# Studi SAR sugli ACE-inibitori

Gruppi che legano lo  $Zn^{2+}$  (GLZ)



- L'anello azotato deve contenere un acido carbossilico per mimare il C-terminale dell'angiotensina II.
- Anelli eterociclici idrofobici di grandi dimensioni sull'anello azotato incrementano la potenza e modificano i parametri farmacocinetici.
- Gruppi come A, B o C possono trovare impiego quali leganti per lo zinco.
- Gruppi sulfidrilici mostrano migliori legami per lo zinco (il fenile nei carbossilati e la catena laterale nei derivati fosfinici compensano la migliore azione coordinante del gruppo sulfidrilico).
- Composti contenenti gruppi sulfidrilici possono formare dei disolfuri che ne abbreviano la durata d'azione.
- Sia i carbossilati che i fosfinati, legandosi allo zinco, mimano lo stato di transizione dell'idrolisi dei peptidi.
- L'esterificazione dei carbossilati o dei fosfinati produce profarmaci biodisponibili per os.
- X è di norma un metile per mimare la catena laterale dell'istidina. Nella serie dei carbossilati, quando X è la *n*-butilammina (catena laterale della lisina), si ottiene un composto che è attivo per via orale di per sé, senza necessità di derivatizzarlo a profarmaco.
- L'attività ottimale si raggiunge quando la stereochimica degli inibitori è confrontabile con quella degli L-amminoacidi naturali.

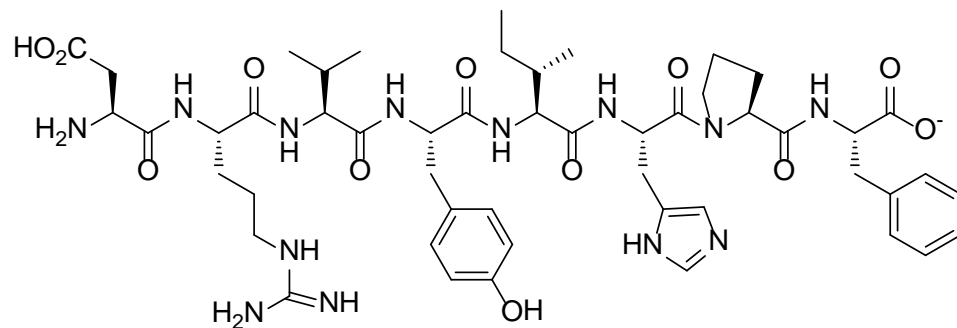
# APPLICAZIONI TERAPEUTICHE ACE INIBITORI

- IPERTENSIONE
- INSUFFICIENZA CARDIACA CONGESTIZIA
- DISFUNZIONE O IPERTROFIA VENTRICOLARE SINISTRA
- INFARTO DEL MIOCARDIO
- NEFROPATIE DA DIABETE

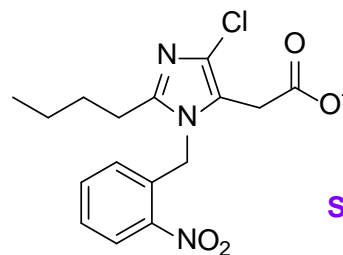
## EFFETTI COLLATERALI:

- Esantemi maculopapulari e disturbi del gusto
- Iperkalemia Soppressione dell'angiotensina II porta a una diminuzione dei livelli di aldosterone. Poiché l'aldosterone è responsabile dell'aumento di escrezione di potassio, ACE inibitori in definitiva causano ritenzione di potassio
- Ipotensione
- Tosse secca

# ANTAGONISTI DEL RECETTORE DELL'ANGIOTENSINA II (AT1)

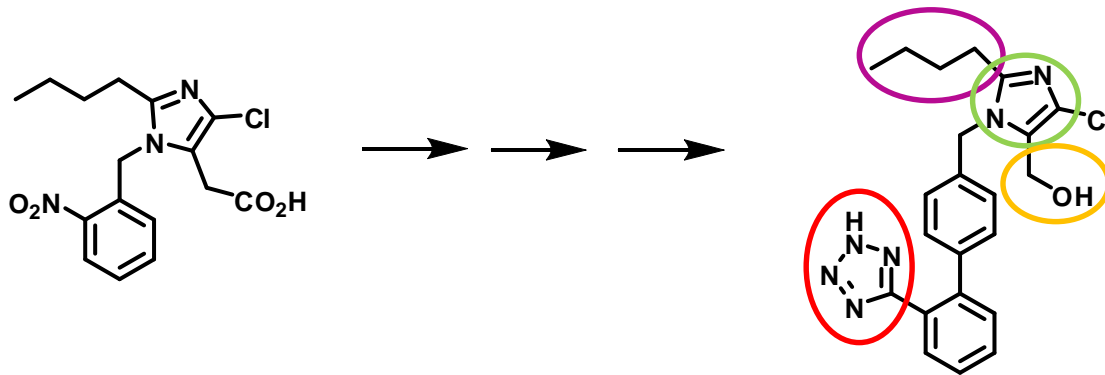


Angiotensina II



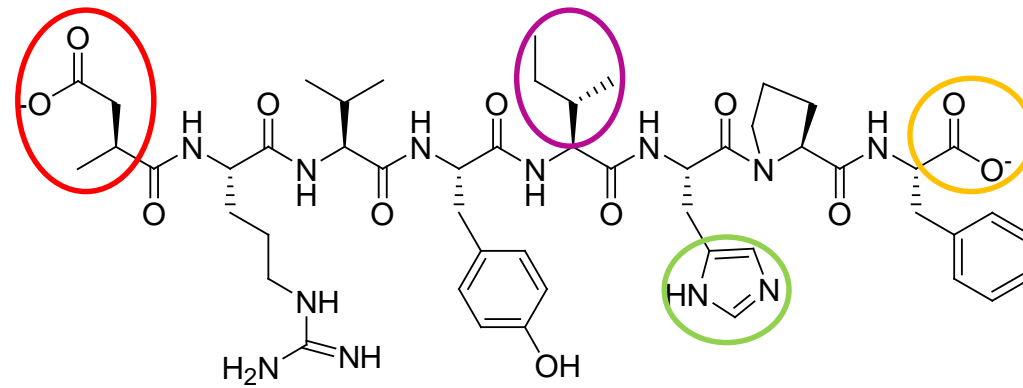
S-8308

# SVILUPPO DEL LOSARTAN



S-8308 ( $IC_{50} = 15\mu M$ )

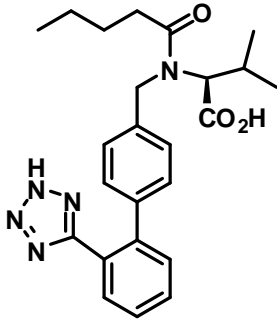
Losartan ( $IC_{50} = 19nM$ )



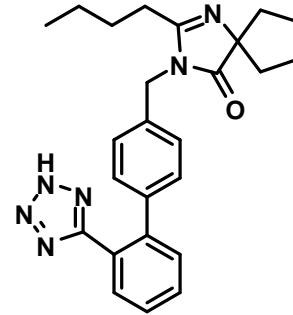
ANGIOTENSINA II



# ANALOGHI DEL LOSARTAN



VALSARTAN



IRBESARTAN