

Chimica Farmaceutica e Tossicologica 2

- Trasduzione del segnale;
- Ormoni e recettori;
- Classificazione;
- Ormoni Ipotalamici;
- Ormoni Ipofisari.

I segnali cellula-cellula: ormoni e recettori

Nessuna cellula vive isolata.

Una complessa rete di comunicazione tra cellule regola crescita, maturazione, differenziamento, metabolismo, omeostasi di cellule che compongono tessuti ed organi.

Le cellule bersaglio sono a volte cellule che producono altri ormoni.

I recettori ormonali svolgono un ruolo essenziale nel mediare l'azione degli ormoni.

L'azione degli ormoni é determinata da differenti meccanismi intracellulari.

Gran parte del controllo della secrezione di ormoni dipende da meccanismi a feedback.

Esiste una stretta relazione tra l'attività del sistema nervoso centrale e la secrezione di ormoni

Alcuni segnali cui le cellule rispondono

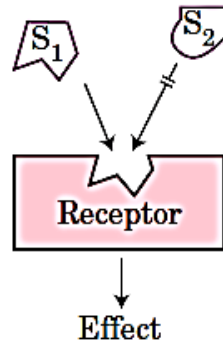
antigeni, luce, glicoproteine/oligosaccaridi (superficie cellulare), segnali di sviluppo, componenti della matrice extracellulare, fattori di crescita, ormoni, impulsi meccanici, neurotrasmettitori, nutrienti, odori, feromoni, sapori

When I first entered the study of hormone action, some 25 years ago, there was a widespread feeling among biologists that hormone action could not be studied meaningfully in the absence of organized cell structure. However, as I reflected on the history of biochemistry, it seemed to me there was a real possibility that hormones might act at the molecular level.

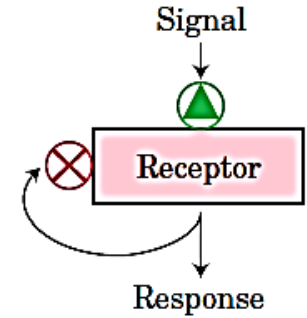
Earl W. Sutherland, Jr. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1971

Meccanismi Molecolari del Segnale di Transduzione

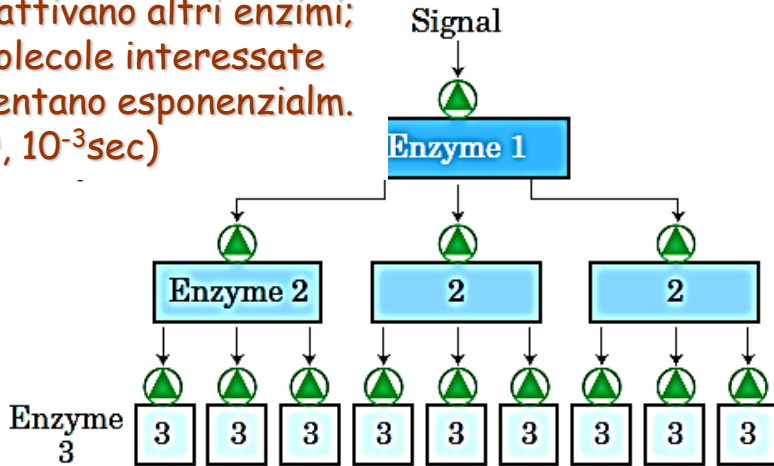
1) Specificità: molecole-segnale si legano al *binding-site* complementare del recettore (affinità K_D 10^{-10} , cooperatività)



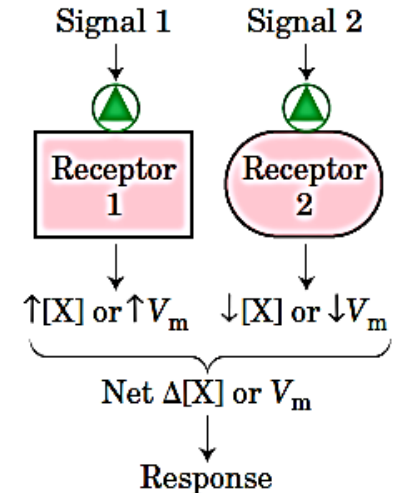
3) Desensibilizzazione/Adattamento: l'attivazione recettoriale attiva un circuito di *feedback* che spegne il recettore o lo rimuove dalla superficie cellulare



2) Amplificazione: enzimi che attivano altri enzimi; le molecole interessate aumentano esponenzialm. (10^n , 10^{-3} sec)



4) Integrazione: l'azione modulatrice deriva dall'integrazione dell'input di entrambi i recettori. X =secondo messaggero, V_m =potenziale di membrana



TRH (ormone ipotalamico di rilascio della tireotropina) ad esempio produce risposta nelle cellule dell'ipofisi anteriore e non negli epatociti che non hanno recettori per questo tipo di ormone. L'epinefrina altera il metabolismo del glicogeno negli epatociti e non negli eritrociti; in questo caso entrambi i tipi di cellule hanno recettori per l'ormone ma mentre gli epatociti hanno sia glicogeno che gli enzimi responsabili della sua metabolizzazione stimolata dall'epinefrina, gli eritrociti ne sono privi.

Il recettore cellulare è definito da alcune caratteristiche:

a) alta affinità di legame

K_D (costante di dissociazione) $\leq 10^{-10}$ (picomoli)

b) capacità limitata

Il recettore è saturabile. La concentrazione dei recettori per cellula bersaglio è compresa tra 10^3 e 10^5 .

c) specificità

Ogni recettore è specifico per una classe di ormoni (es.: il recettore per gli estrogeni lega solo le strutture di tipo estrogenico).

d) reversibilità di legame

Il complesso ormone-recettore (HR) è dissociabile; quando il legame è specifico la velocità di dissociazione è lenta.

e) specificità tessutale

Organi non ormone-responsivi ed organi ormone-responsivi (distribuzione sia quantitativa che qualitativa).

f) risposta biologica

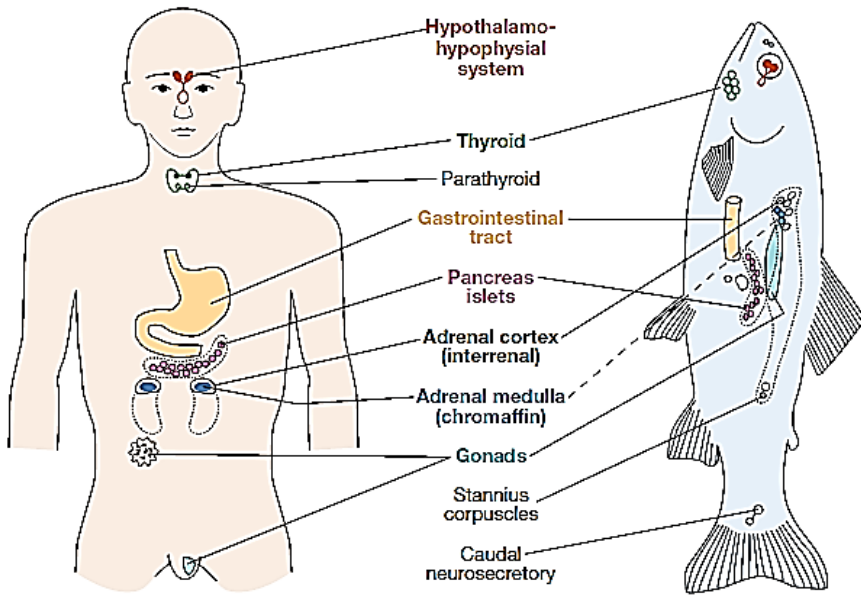
Una risposta biologica specifica definisce sia il recettore, sia l'organo bersaglio.

Il termine **ormone** è stato introdotto nel 1905 dal fisiologo inglese E.H. Sterling (hormone, dal verbo greco *horman*, stimolare muovere) per indicare un messaggero chimico endogeno secreto nel sangue da cellule specializzate e che, attraverso la circolazione sanguigna, raggiunge gli organi bersaglio dove regola diversi processi fisiologici e comportamentali.
... the history of science has repeatedly shown how the introduction of a new word can act as a catalyst for research...

Gli ormoni controllano, infatti **processi omeostatici a lungo termine**, quali crescita, sviluppo, metabolismo, riproduzione e regolazione dell'ambiente interno.

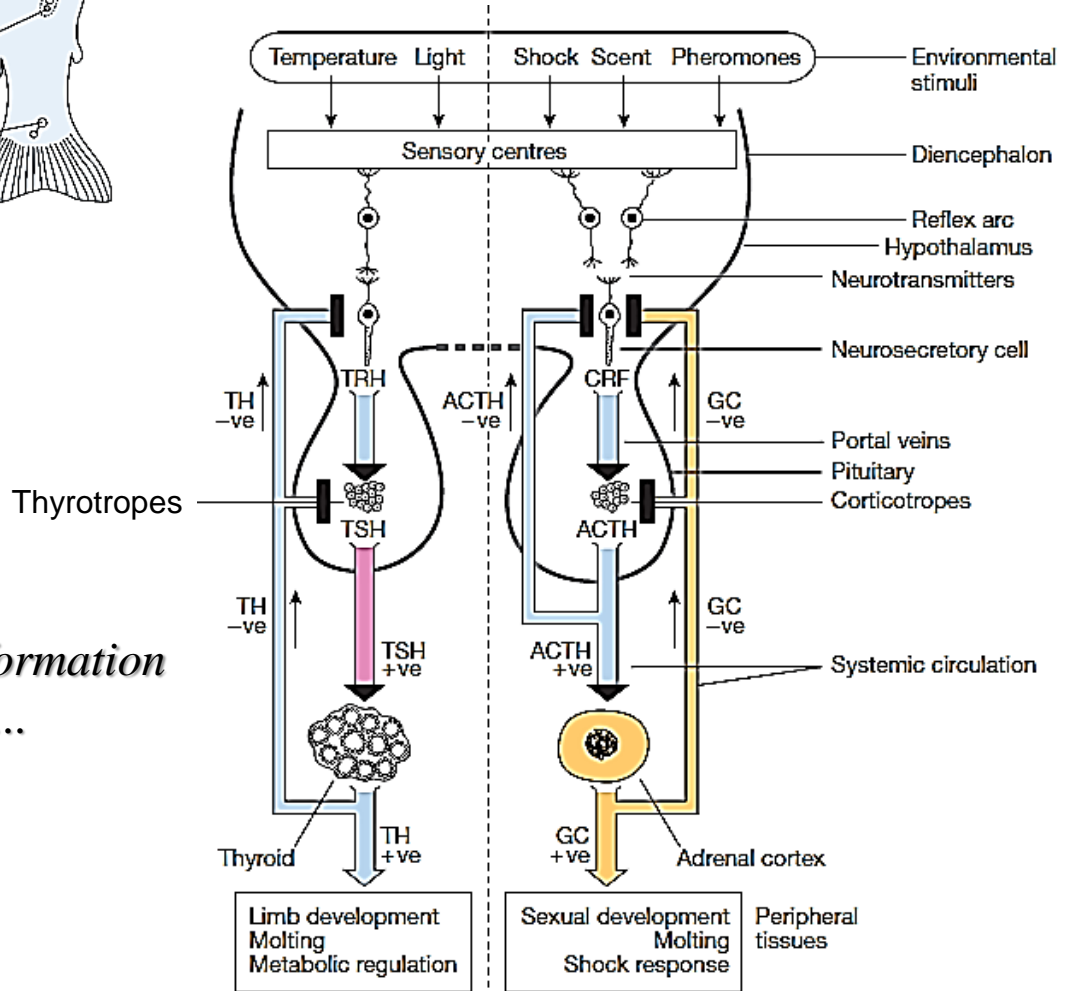
Gli ormoni sono prodotti e secreti da ghiandole endocrine epifisi, ipotalamo, ipofisi, paratiroidi, tiroide, surrenali, pancreas endocrino, ovaie, e testicoli ($10^{-9}/10^{-10}$ M) legandosi a specifici recettori delle cellule bersaglio da cui origina l'azione biologica.

Le ghiandole endocrine non sono l'unica fonte di ormoni, in quanto le cellule endocrine sono disseminate anche in altri organi quali intestino, rene e cuore. Alcuni ormoni originano da altri organi e strutture: ad esempio il fegato produce fattore di crescita insulino-simile (IGF-1), il tessuto adiposo produce leptina, così come i neuroni rilasciano **neurormoni**.



TRH: TSH-releasing hormone;
 CRF: corticotrophic-releasing factor;
 TSH: thyroid stimulating hormone;
 ACTH: adrenocorticotrophic hormone;

...intermediaries in the transfer of information from the environment to the organism...



Limb development
 Molting
 Metabolic regulation

Sexual development
 Molting
 Shock response
 Peripheral tissues

Sulla base dell'origine e delle modalità con cui esplicano la loro attività biologica, gli ormoni sono classificati in:

- endocrini**: ormone secreto da cellule endocrine e trasportato dal circolo sanguigno alle cellule bersaglio;
- paracrini**: ormone che attraverso i liquidi interstiziali raggiunge e agisce sulle cellule bersaglio adiacenti;
- autocrini**: ormone che agisce localmente sulle stesse cellule che lo hanno secreto

Classe chimica	Ormone	M.W. (aa)	Sede principale di Biosintesi
Amine	Adrenalina	183.20	Midollare surrene
	Dopamina	153.18	SNC
	Melatonina	232.28	Ghiandola pineale o epifisi
Aminoacidi (Iodotironine)	Tiroxina (T4)	776,87	Tiroide
	Triiodotironina (T3)	650,97	

Lipofilia vs diffusione membrane: ormoni peptidici → interazione recettori di membrana, ormoni steroidici → recettori intracellulari

	Ormone	M.W. (aa)	Sede principale di Biosintesi
Peptidi	Vasopressina ¹⁾ diabete insipido, tono vasomotorio, pressione sanguigna (Arg 8)	1084 (9)	Neuroipofisi
	Ossitocina ²⁾ cellule muscolari lisce, contrazione uterina e stimolazione della lattazione	1007 (9)	
	Peptide natriuretico atriale (ANP) ³⁾ peptide natriuretico e vasodilatatore. In realtà miscela di peptidi di differente grandezza (20aa) e basso peso molecolare derivati da comune precursore e secreto principalmente da atrio cardiaco	3064 (28)	Cuore
	Melanotropo (MSH) ⁴⁾ cleavage proteolitico dell'ormone aderenocorticotropo (ACTH) stimola sintesi e distribuzione di melanina	1664 (13)	Ipofisi (<i>pars intermedia</i>)
	Angiotensina II ⁵⁾ potente vasocostrittore prodotto dall'angiotensina I	1046 (8)	Sangue ³⁾
	Fattore Rilascio Tireotropina (TSH) e prolattina (TRH) ⁶⁾	362 (3)	Ipotalamo
	Fattore Rilascio Gonadotropine (FSH, LH) (GnRH)	1212 (10)	
	Fattore Rilascio ormone della crescita (GH) (GHRH)	5039 (44)	
	Fattore Rilascio Corticotropina (ACTH) (CRH)	4075 (41)	
	Somatostatina inibisce anche il rilascio di TSH, prolattina, insulina e glucagone agendo come neurotrasmettitore e neuromodulatore	1637 (14)	Ipotalamo, pancreas, intestino
Peptide intestinale vasoattivo (VIP) rilasciato dalla mucosa intestinale (sistemi cardiovascolare, gastrointestinale e respiratorio compresa un'azione neuroprotettiva	3326 (28)	Pancreas, duodeno	

Somatostatina (acetato) (o. inib. GH, TSH, ACTH, PRL, insulina, glucagone)	GHIH, GHRIH, SRIF, SRIH (14.28)	<i>(equiv, Zecnil)</i>
Gonadorelina (acetato) (o. rilascio gonadotropine (FSH, LH))	GnRH	<i>(Kryptocur, Lutrelef,)</i>
Somatotropina (somatropina, o. crescita)	STH, SH, GH 22005 Da (191)	<i>(Humatrope, Genotropin, Norditropin.....)</i>

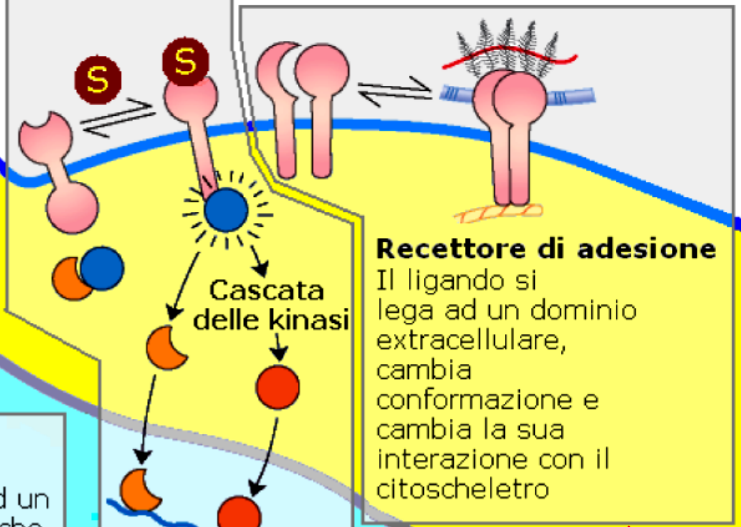
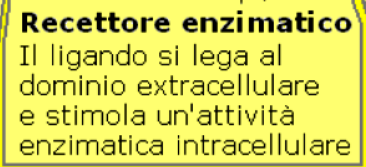
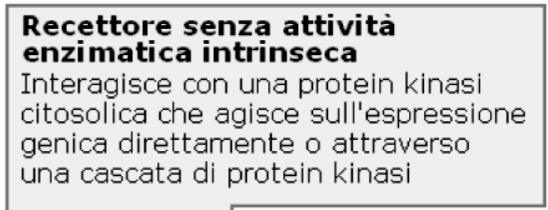
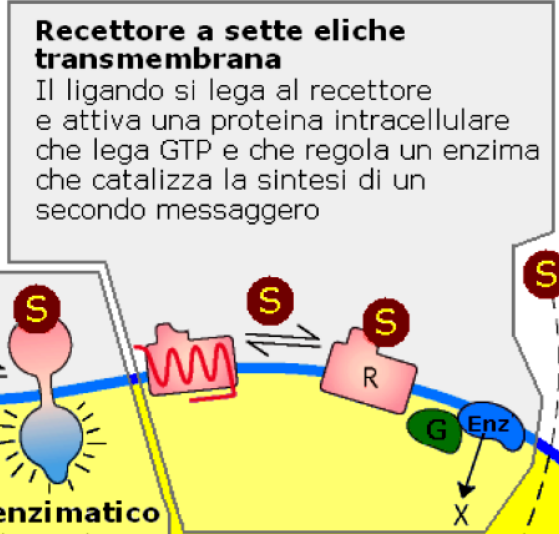
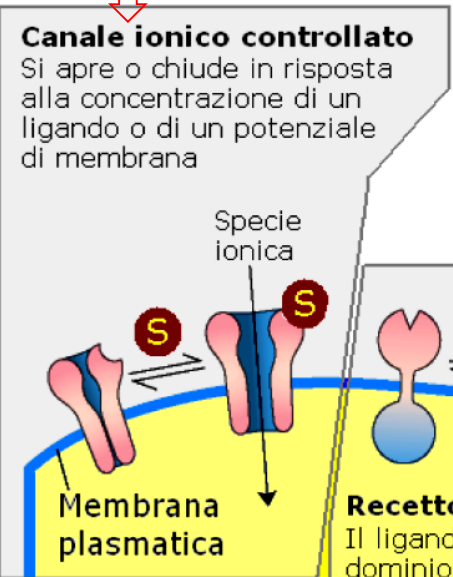
	Ormone	M.W. (aa)	Sede principale di Biosintesi
Proteine (peptidi)	Insulina	5807 (51)	Cellule β pancreas
	Glucagone	3482 (29)	
	Ormone della crescita (GH)	22124 (191)	Adenipofisi
	Prolattina (Prl)	~22000 (198)	
	Paratormone (PTH)	~9500 (84)	Paratiroidi
	β-Lipotropine ed encefaline	~10000 (84) ~ 570 (5)	Ipofisi
	Calcitonina	3454 (32)	Cellule parafollicolari (C) (tiroide)
	Adrenocorticotropo (ACTH)	4540 (39)	Adenoipofisi
	Secretina	3055 (27)	Tratto gastrointestinale, SNC
	Colecistochinine (CCK58, CCK33, CCK22, CCK8)		
	Gastrina (34, 17, 14)		
	Peptide inibitorio gastrico (GIP, 42 aa)		
	Fattori di crescita (es. IGF, Interleukine, TNF-α, VEGF)		

	Ormone	M.W. (aa)	Sede principale di Biosintesi
Glicoproteine	Follicolo stimolante (FSH)	35.5 kDa	Adenoipofisi
	Luteinizzante (LH)	~30 kDa	
	Gonadotropina corionica (hCG)	~36 kDa	Placenta
	Tiroide stimolante (TSH)	~30 kDa	Adenoipofisi
Steroidi	Estrogeni (estradiolo)	272	Ovaie, placenta
	Progesterone	314	Corpo luteo, placenta
	Testosterone	288	Cellule di Leydig (testicoli)
	Diidrotosterone	290	Prostata e tessuti sensibili a T
	Glucocorticoidi (cortisolo)	362	Corteccia surrenale
	Aldosterone	360	
	Vitamina D₃	384	Pelle, fegato, reni

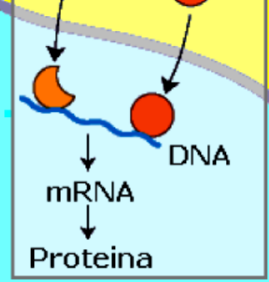
Recettori acetilcolina

Sistema adrenergico, proteina G

Sistema JAK/STAT: regolazione risposte cellulari alle citochine e fattori di crescita (EPO)

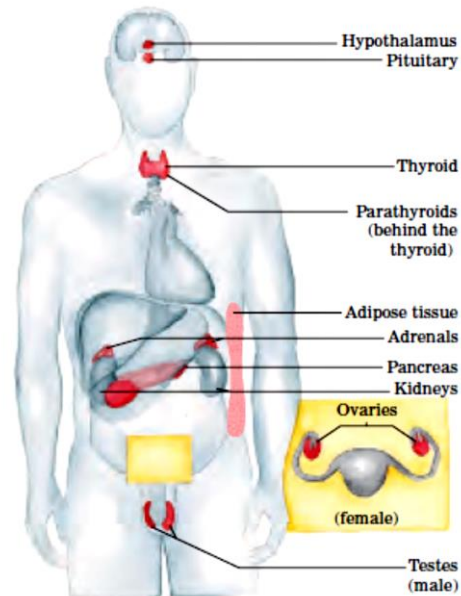
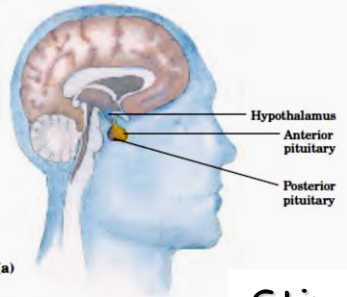


Recettori insulina



Macromolecole della matrice extracellulare (MEC): integrine.

Principali sistemi endocrini e loro targets



Stimoli sensoriali dall'ambiente

Stimoli di origine neuroendocrina

Sistema nervoso centrale

ipotalamo

Ormoni ipotalamici:
fattori di rilascio

Target I° livello

Ipofisi anteriore

Ipofisi posteriore

μg

Corticotropina
ACTH (4500)

Tirotropina
(28000)

O. follicolo
stimolante
(24000)

o. luteinico
(20500)

Somatotropina
o. crescita
(21500)

Prolattina
(22000)

Ossitocina
(1007)

Vasopressina
o. antidiuretica
(1040)

glucosio
ematico

Target II° livello

**Surreni
(corteccia)**

Tiroide

Ovaie/ testicoli

**Pancreas
(c. isole)**

**Surreni
(midollo)**

mg

Cortisolo
corticosterone
aldosterone

T_3 - T_4

Progesterone
estradiolo

testosterone

Muscolatura
liscia
ghiandole
mammarie

Insulina
glucagone
somatostatina

epinefrina

Target finale

Tessuti
diversi

Muscoli
fegato

Organi
riproduttivi

Fegato
ossa

Ghiandole
mammarie

Muscolatura
liscia
ghiandole
mammarie

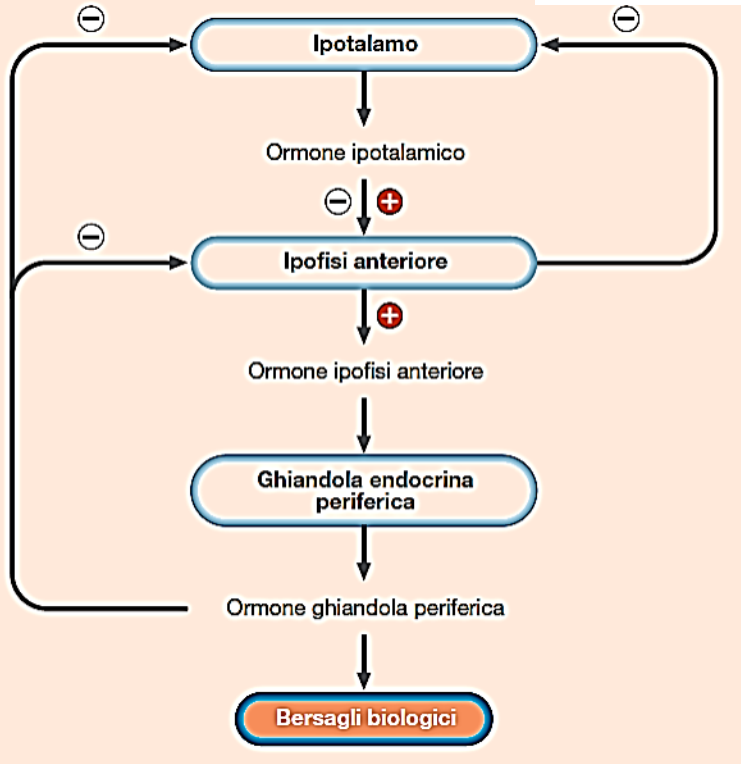
Arteriole
reni

Muscoli
fegato

Muscoli
fegato
cuore

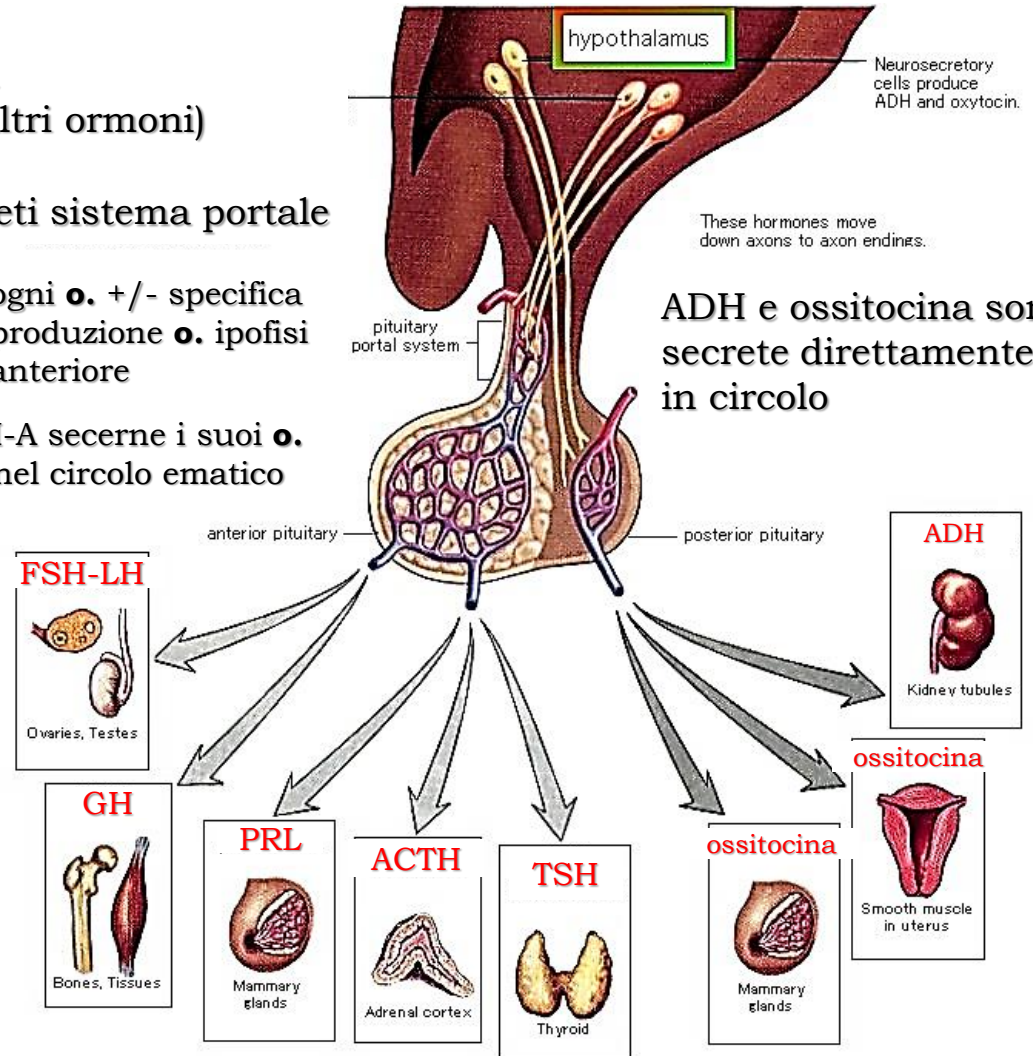
cellule neurosecretori: ormoni stimolanti/inibitori rilascio (altri ormoni)

ormoni secreti sistema portale



ogni o. +/- specifica produzione o. ipofisi anteriore

I-A secerne i suoi o. nel circolo ematico



Ormoni ipotalamici

ormone	Attività (o. ipofisari)
Gonadoliberina (gonadotropin-releasing hormone, GnRH , LRF, LHRH, secrezione pulsata) 10 a.a.	responsabile del rilascio dell'ormone ipofisario follicolo-stimolante (FSH), dell'ormone luteinizzante (LH) (stimolante le cellule interstiziali del testicolo (ICSH));
Tiroliberina (Thyrotropin-releasing hormone, TRH) 3 a.a. (E-H-P, Glu-His-Pro)	stimola il rilascio della tirotropina (TSH) e della prolattina (PRL); neuromodulatore cervello e rachide.
Somatolerina (Growth Hormone-Releasing Hormone, GHRH , SRH) 37-44 a.a. , varie isoforme.	stimola il rilascio (via specifici recettori) dell'ormone della crescita (GH/somatotropina) dall'adenoipofisi; bloccata da Somatostatina e inibita da Insulin-like growth factors.
Corticoliberina (Corticotropin-releasing hormone, CRH) singola catena 41a.a.	Neurotrasmettitore (stress). Stimola produzione ACTH. Sintetizzato anche in tessuti periferici (linfociti T, placenta (marker gestazione e parto). Eccesso→tumore corticotrofo→eccesso ACTH
Melanoliberina (melanotropin-releasing factor, MRF/H, melanocyte-stimulating-hormone releasing factor, MSHRF/H) 5/6 a.a.	Esapeptide simile all'oxitocina; stimola il rilascio della melanotropina.

Ormoni ipotalamici

ormone	attività
Melanostatina (Melanocyte-inhibiting factor, release-inhibiting hormone or MIF-1, MIH) 3 a.a. P-L-G-NH ₂	blocco degli effetti da attivazione recettori oppioidi; modulazione allosterica dei recettori dopaminergici D2 e D4; inibizione rilascio neuropeptidi (α -MSH); potenziamento attività melatonina
Prolactostatina (prolactin inhibitory factor, PIF, PIH)	Fattore inibente la secrezione di prolattina; si tratta della dopamina rilasciata a livello del circolo portale ipofisario dai terminali dopaminergici del sistema Tubero Infundibolare a Dopamina (TIDA).
Somatostatina (Somatotropin Release-Inhibiting Factor, SRIF, SRIF-14, GIH) 14 a.a.	inibisce la secrezione di GH dalle cellule somatotrope (feedback negativo); inibisce TSH (thyroid-stimulating hormone);

Ormoni peptidici

- Elevata specificità;
- Elevata potenza (range nM);
- Rapida inattivazione proteolitica;
 - somministrazione parenterale;
 - breve durata d'azione;
- Analoghi (peptidomimetici) con maggiore durata d'azione (biodisponibilità);
- Analoghi con diversa specificità;

Metabolismo di peptidi e proteine

Esteso effetto di primo passaggio, in larga misura nel **rene**, **fegato** e **tratto gastrointestinale**, ma anche nella mucosa nasale, nel polmone e nel sangue, mediante idrolisi enzimatica del legame peptidico.

Somministrazione orale poco efficace.

Peptidasi

- **Carbossipeptidasi** Staccano singoli aa o dipeptidi al C-terminale
- **Aminopeptidasi** Tagliano i residui all'N-terminale
- **Amidasi** Idrolizzano legami peptidici interni

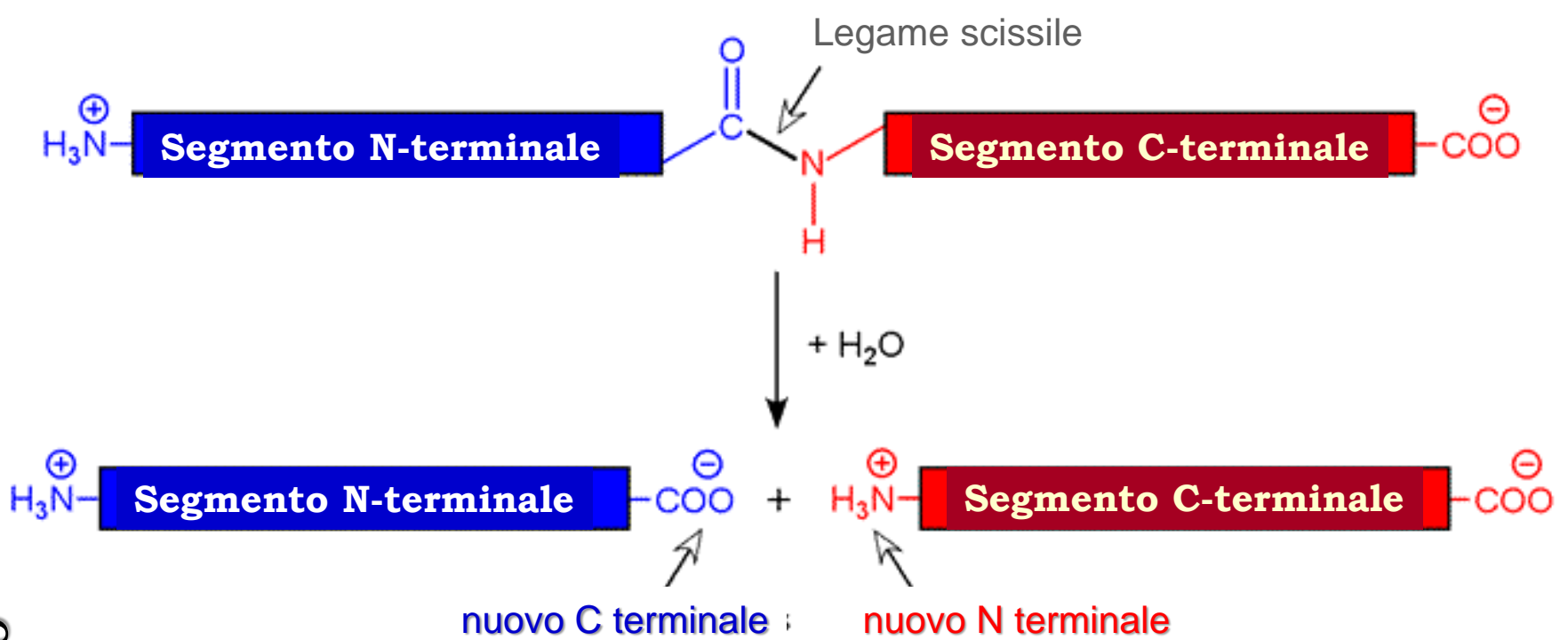
Esempio di biodisponibilità

Via di somministrazione	% dose assorbita	
	Insulina	Leuprolide*
Orale	0.05	0.05
Nasale (no effetto <i>first-pass</i> epatico; <i>aminopeptidasi</i> ; + <i>inibitori proteasi</i>)	30	2-3
Sublinguale	0.5	---
Rettale	2.5	8
Vaginale	18	38
Sottocutanea (< i.m., < potenza, lungo termine)	80	65

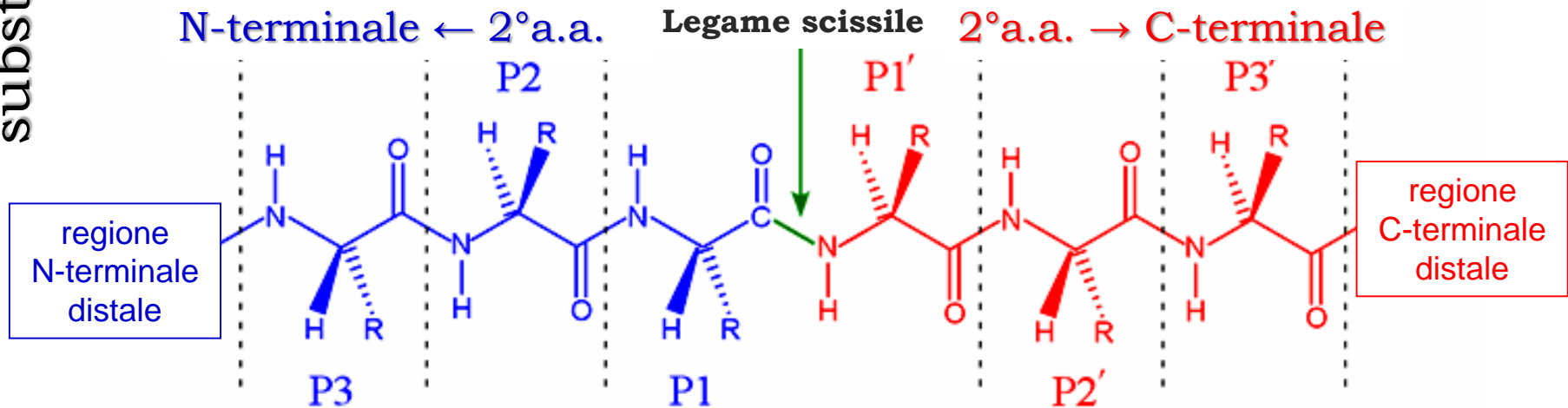
* Analogo dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH)

Obiettivo: rendere i peptidi più resistenti all'attacco delle peptidasi, aumentandone attività biologica e durata d'azione.

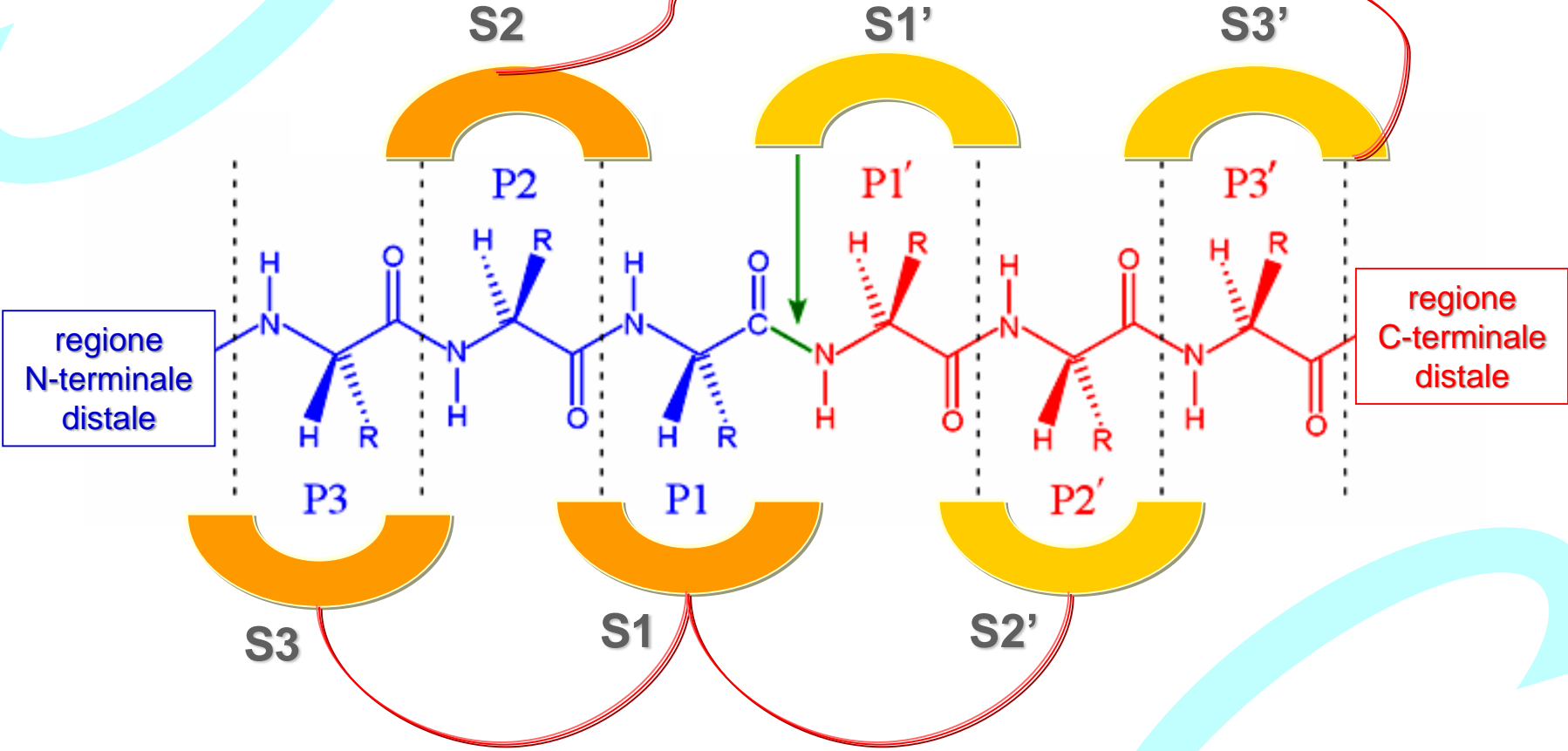
- ❑ Sostituzione di residui L con residui a configurazione D: aa D fraudolenti
- ❑ *N*-metilazione della funzione ammidica
- ❑ Introduzione di legami (ψ) pseudopeptidici
- ❑ Peptidi retro-inversi



substrato

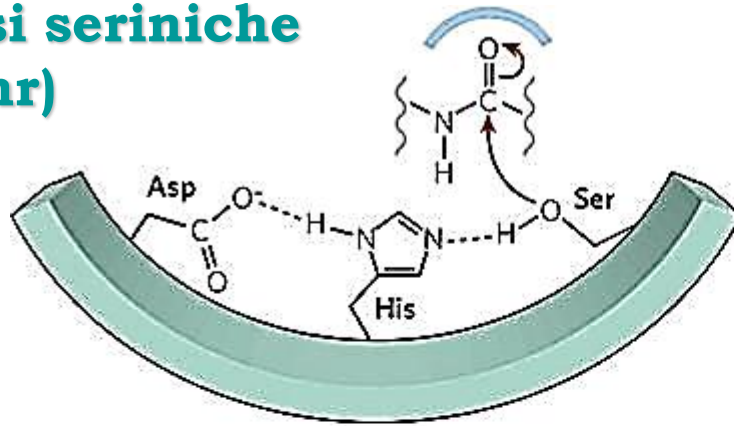


Enzima



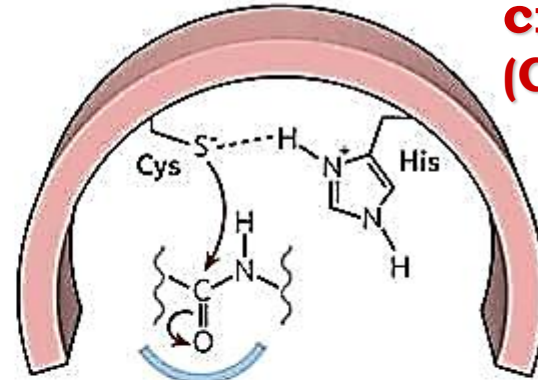
Enzima

proteasi seriniche (Ser/Thr)



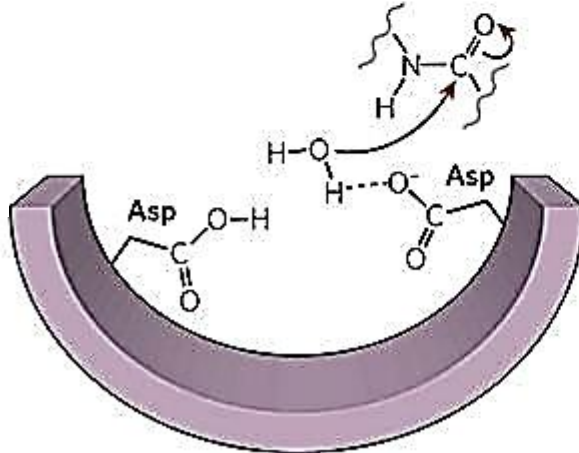
tripsina, chimotripsina, subtilisina

proteasi cisteiniche (Cys)



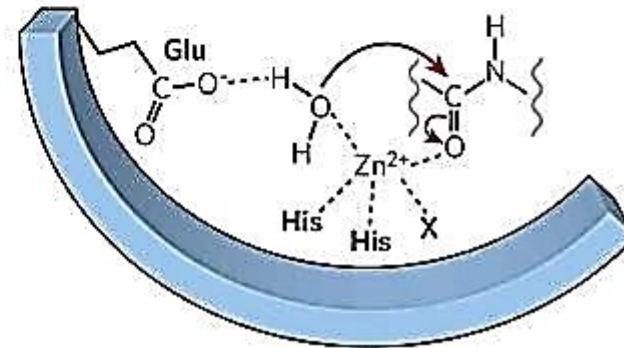
papaina, catepsina B, caspasi

proteasi aspartiche (Asp)



pepsina, chimosina, HIV proteasi

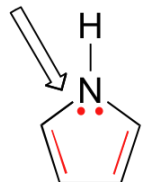
metalloproteasi



carbossipeptidasi, collagenasi

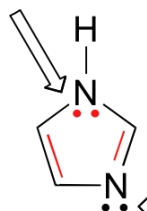
I polipeptidi possono essere idrolizzati chimicamente ed enzimaticamente (proteasi).
Le Proteasi comprendono 4 classi principali; nelle proteasi **seriniche e cisteiniche** il residuo eponimo è generalmente associato ad un gruppo H_Ba per promuoverne l'attacco nucleofilo. Le **aspartil** e **metallo** proteasi attivano una molecola d'acqua quale nucleofilo. NATURE, Vol 459, 21 May 2009

lone pair in 2p_z orbital, part of aromatic sextet



pyrrole

lone pair in 2p_z orbital, part of aromatic sextet



imidazole

lone pair in sp² orbital

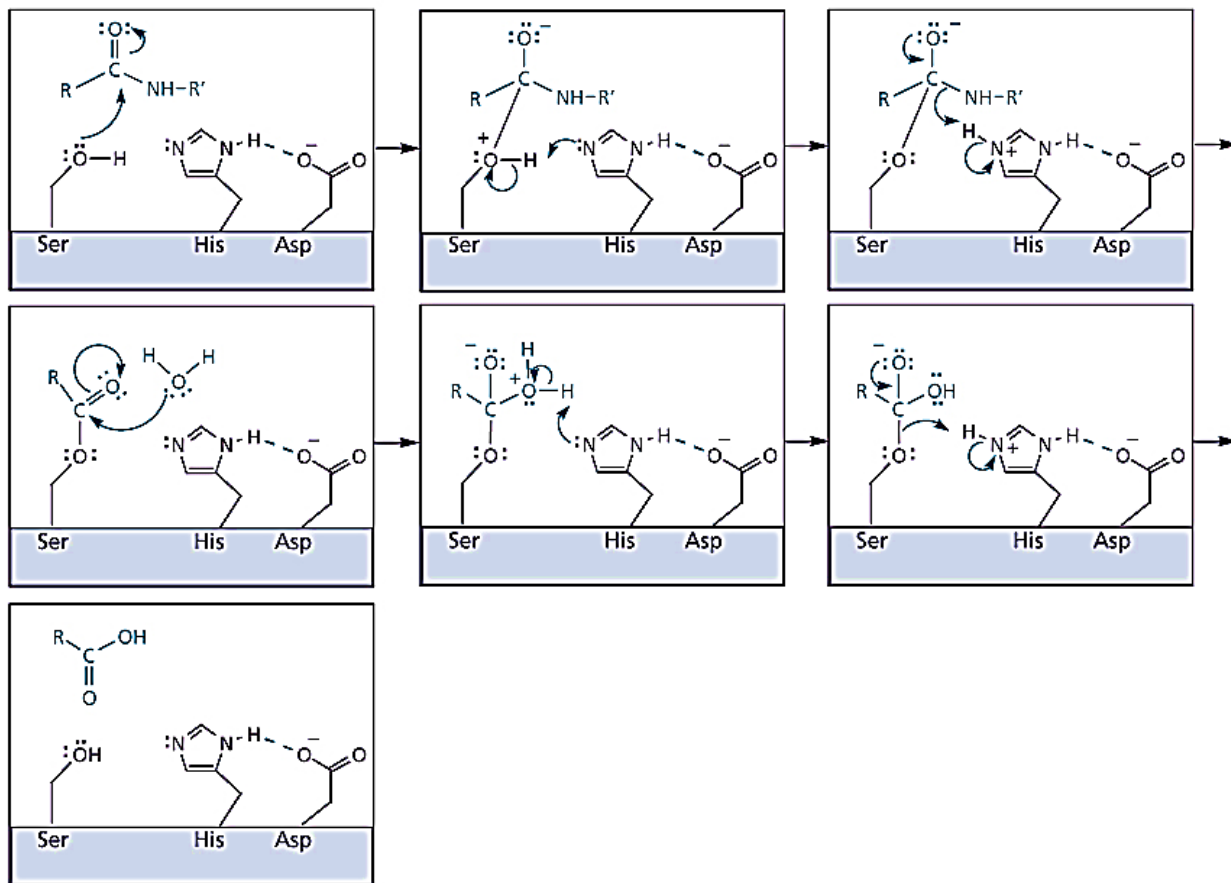
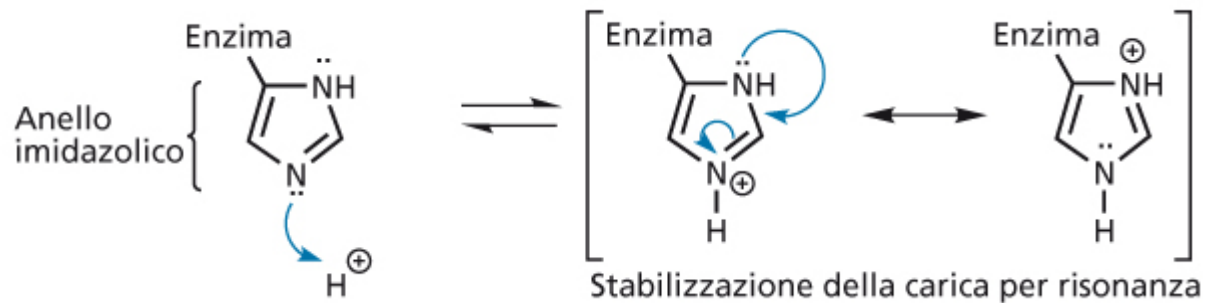
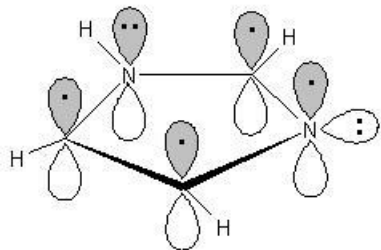
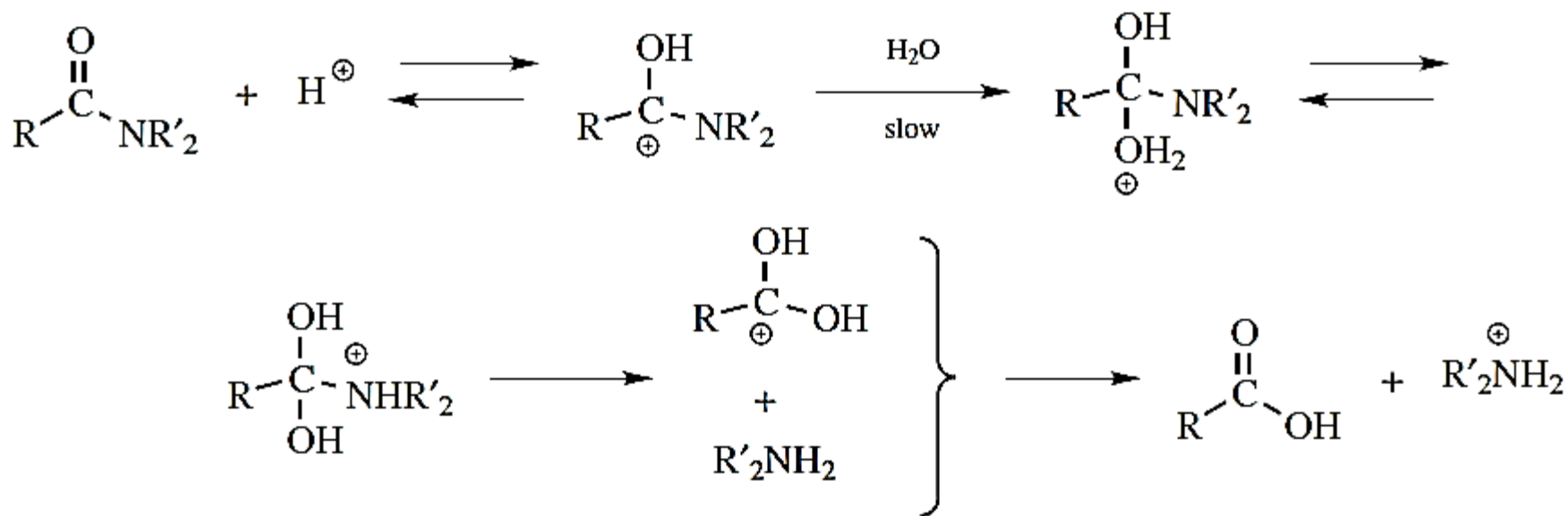
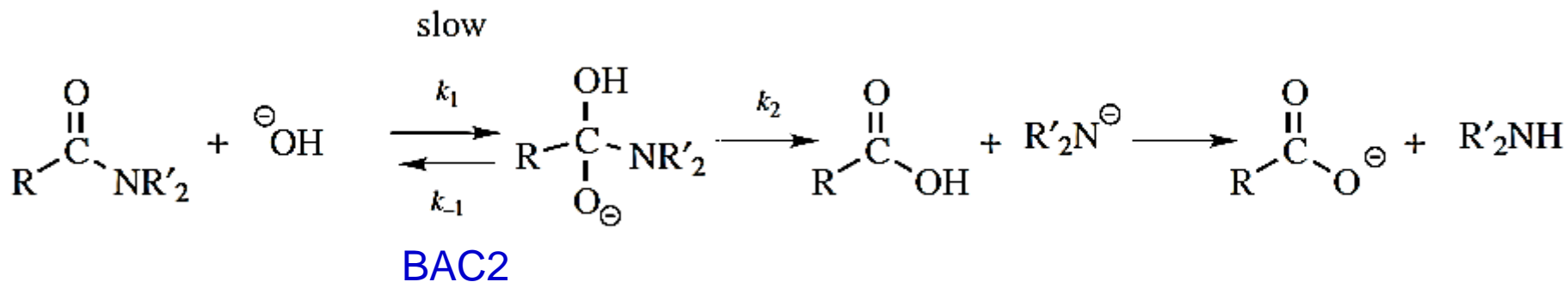
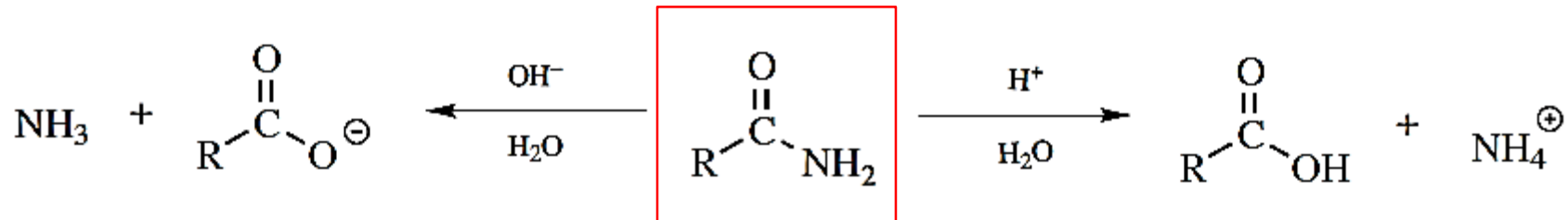
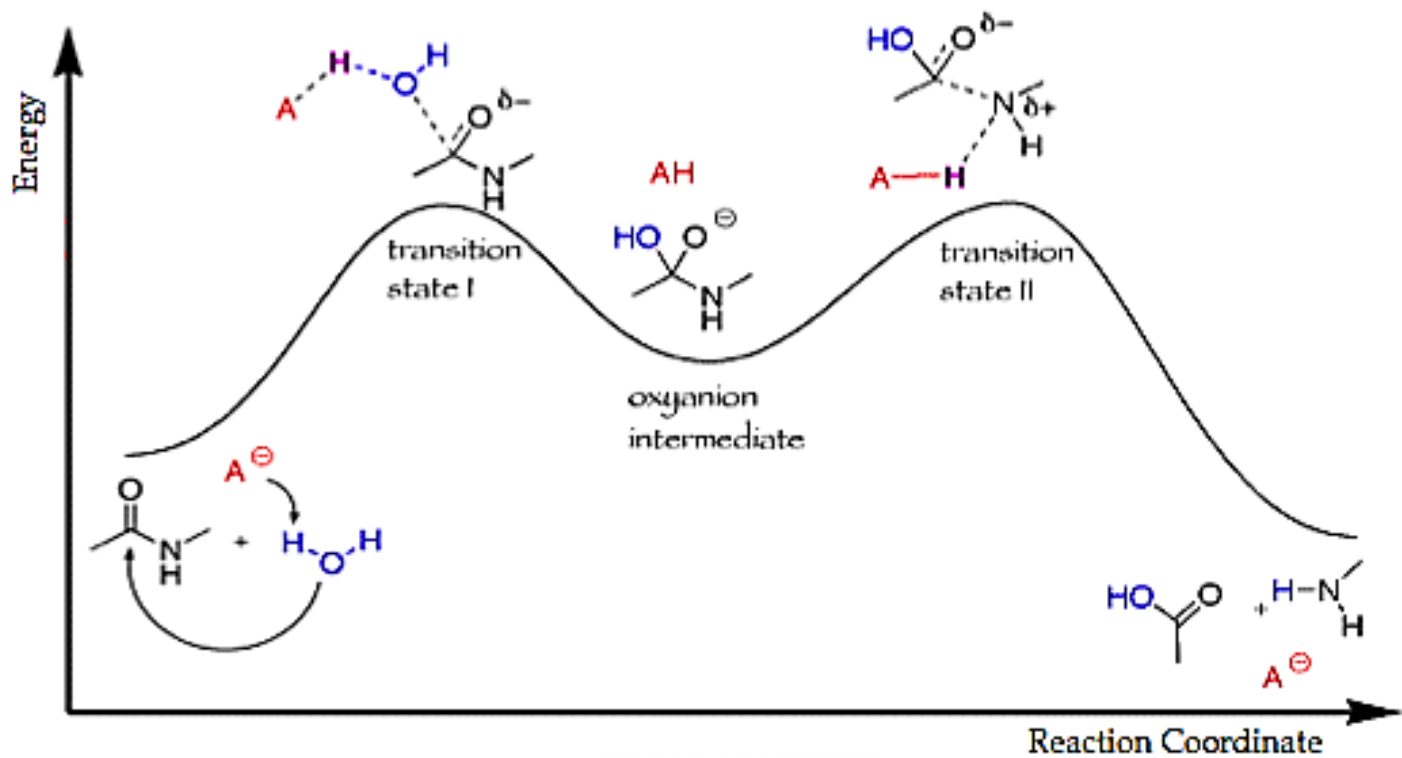
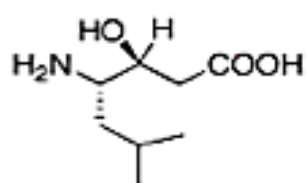


FIGURA 3.9 Idrolisi di legami peptidici catalizzata dall'enzima chimotripsina.

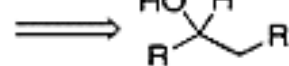




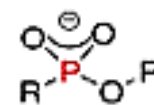
(A = assisting general acid/base in the enzyme active site)



(3S,4S)-statin



hydroxyethylene



phosphonate

Definizioni di **Isosteri**

Langmuir (1919): Composti o gruppi di atomi con lo stesso numero di atomi ed elettroni. Es: $N_2 \leftrightarrow CO$, $N_2O \leftrightarrow CO_2$, $N_3^- \leftrightarrow NCO^-$ **Grimm (1925)**: “legge dello spostamento dell'idruro”,

Hydride Displacement Law					
C	N	O	F	Ne	Na ⁺
	CH	NH	OH	FH	-
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				CH ₄	NH ₄ ⁺

Erlenmeyer (1932): atomi, ioni o molecole in cui lo “*strato*” periferico degli elettroni può essere considerato identico.

Es: Cl^- CN^- SCN^- (nonostante abbiano diverso numero di atomi)

Definizioni di **Bioisosteri**

Friedman (1951): atomi o molecole comprese nella più ampia definizione possibile di isosteri con medesima attività biologica.

Thornber (1979): gruppi o molecole con simili proprietà chimico-fisiche e in grado di produrre effetti biologici comparabili.

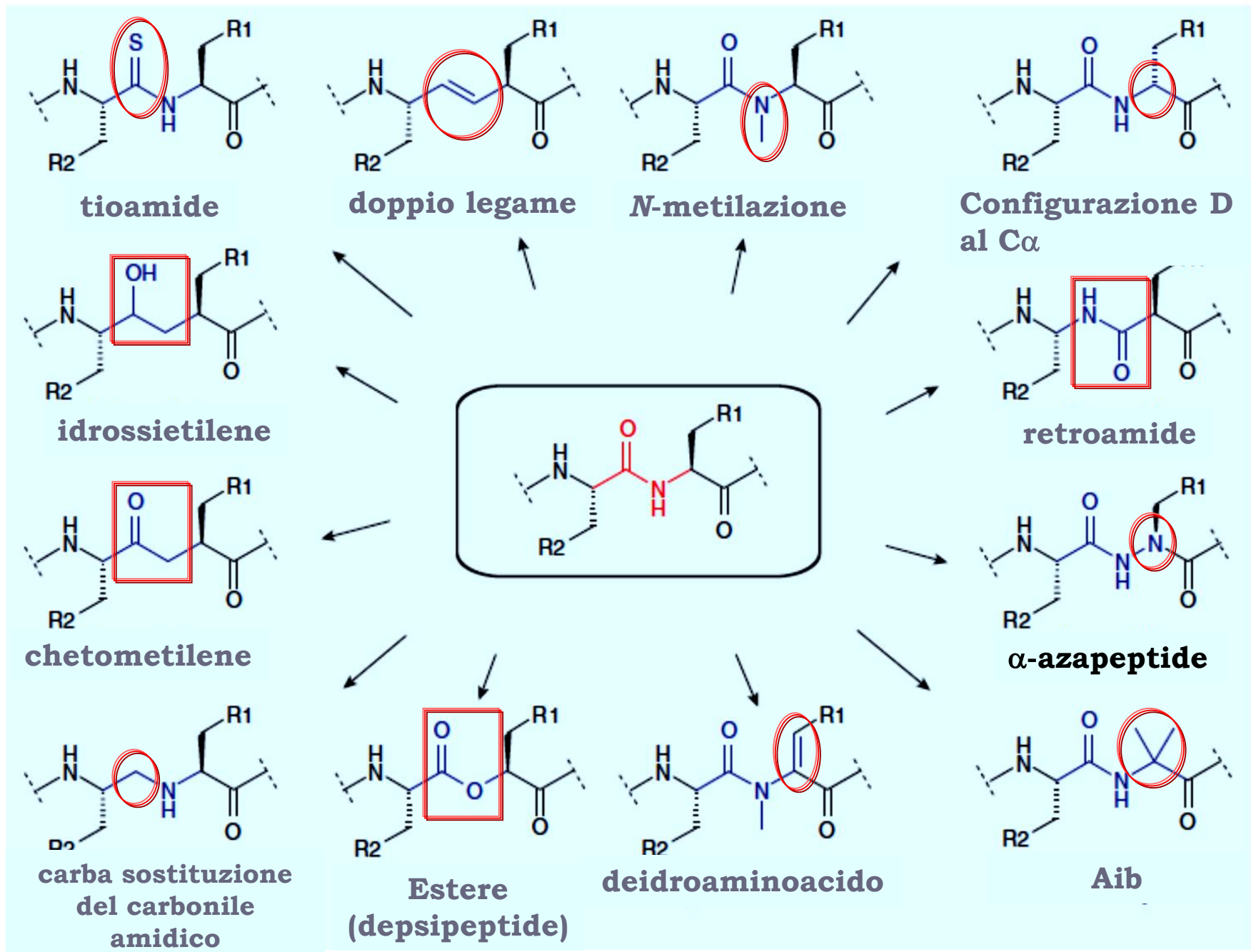
Proprietà modulate da sostituzioni bioisosteriche.

dimensioni, conformazioni, effetti induttivi e mesomerici, polarizzabilità, capacità H-bond, pKa, solubilità, idrofobicità, reattività, stabilità.

Possibili vantaggi

- > selettività;
- < effetti indesiderati;
- < tossicità;
- > profilo farmacocinetico (solubilità, idrofobicità)
- > stabilità;
- sintesi più semplice;
- brevettabilità

Trasformazioni peptidomimetetiche → funzioni bioisosteriche del gruppo ammidico



Trasformazioni peptidomimetetiche II

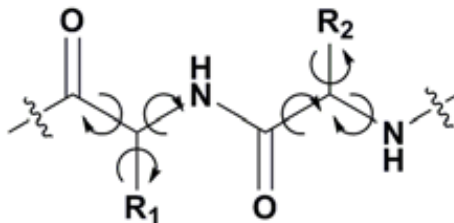
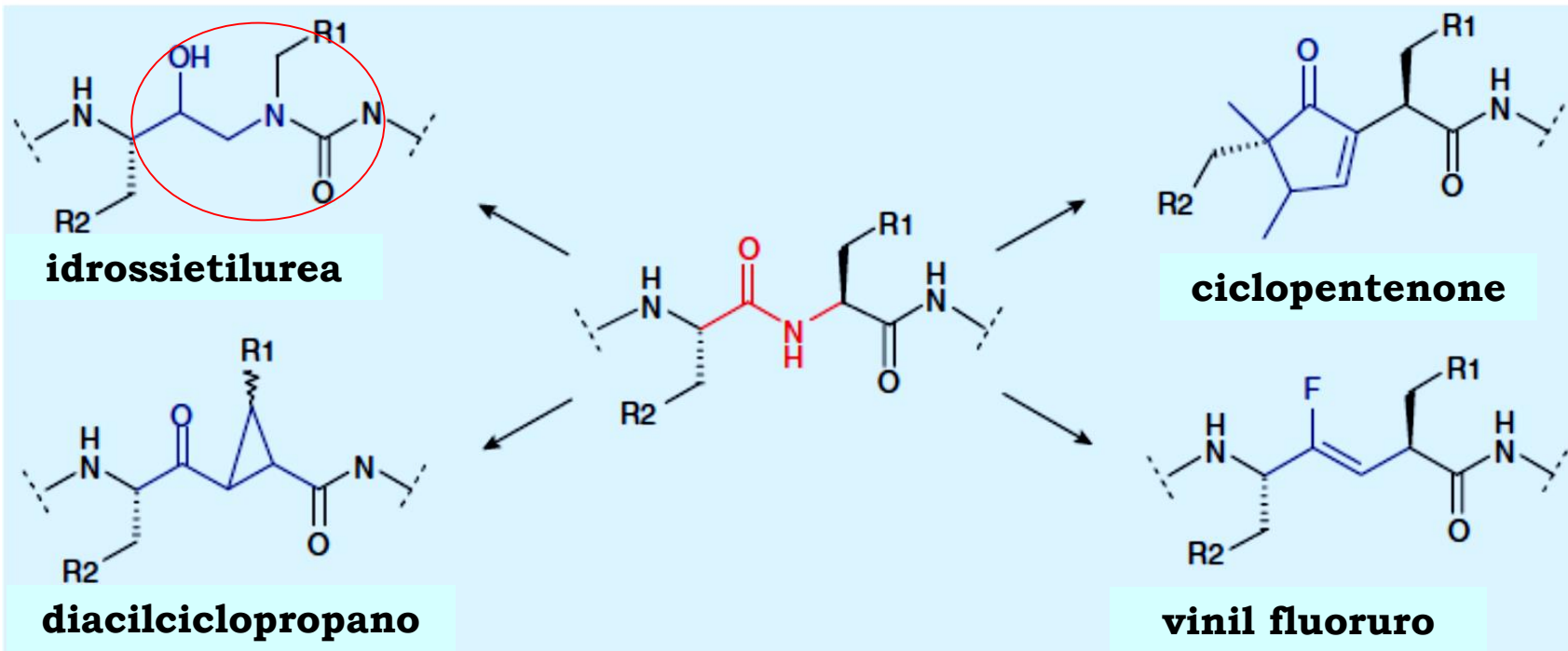


Table 13: Bioisosteres of the amide bond

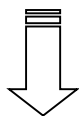
<p>Amide</p>	<p>2-isoxazoline</p>
	<p>Imidazoline</p>
	<p>1,2,4-oxadiazoles</p>
	<p>1,3,4-oxadiazoles</p>
	<p>1,2,4-triazoles</p>

The Use of Bioisosterism in Drug Design and Molecular Modification
 Am. J. PharmTech Res. 2012; 2(4)

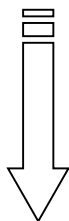
PSEUDOPEPTIDI (ψ)

Ottenuti per sostituzione del normale legame peptidico **CONH** con un'unità isosterica che, generalmente, non altera le dimensioni complessive del peptide.

Ala-Gly



Ala ψ [CH₂S]Gly



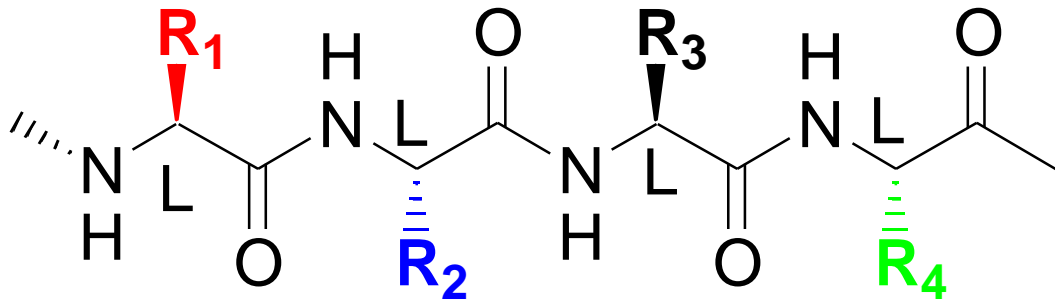
Gruppo sostituyente	Simbolo
-CH ₂ S-	ψ [CH ₂ S]
-CONCH ₃ -	ψ [CONCH ₃]
-COO-	ψ [COO]
-COS-	ψ [COS]
-COCH ₂ -	ψ [COCH ₂]
-CSNH-	ψ [CSNH]
-CH₂NH-	ψ[CH₂NH]
-NHCO-	ψ[NHCO]
-CH ₂ CH ₂ -	ψ [CH ₂ CH ₂]
-CHCH-	ψ [CHCH]
-CH ₂ CONH-	ψ [CH ₂ CONH]
-CONHO-	ψ [CONHO]
-CHOHCH ₂ NH-	ψ [CHOHCH ₂ NH]
-COCH ₂ NH-	ψ [COCH ₂ NH]
-CHOHNH-	ψ [CHOHNH]
-CHOHCH ₂ O-	ψ [CHOHCH ₂ O]
-CHOHCH ₂ -	ψ [CHOHCH ₂]

Amino acid	Three letter code	One letter code
alanine	ala	A
arginine	arg	R
asparagine	asn	N
aspartic acid	asp	D
asparagine or aspartic acid	asx	B
cysteine	cys	C
glutamic acid	glu	E
glutamine	gln	Q
glutamine or glutamic acid	glx	Z
glycine	gly	G
histidine	his	H
isoleucine	ile	I
leucine	leu	L
lysine	lys	K
methionine	met	M
phenylalanine	phe	F
proline	pro	P
serine	ser	S
threonine	thr	T
tryptophan	try	W
tyrosine	tyr	Y
valine	val	V

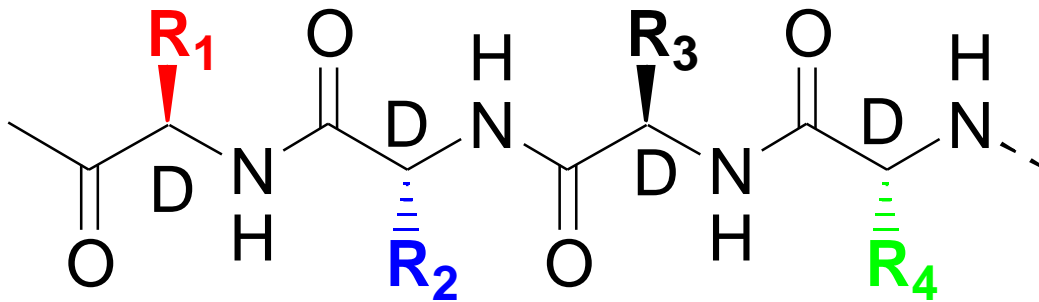
PEPTIDI RETRO-INVERSI

Ottenuti invertendo uno o più gruppi ammidici all'interno del backbone; gli analoghi retro-inversi, in particolare quelli parziali, dimostrano in generale aumentata **stabilità enzimatica**, **biodisponibilità** e **potenza**.

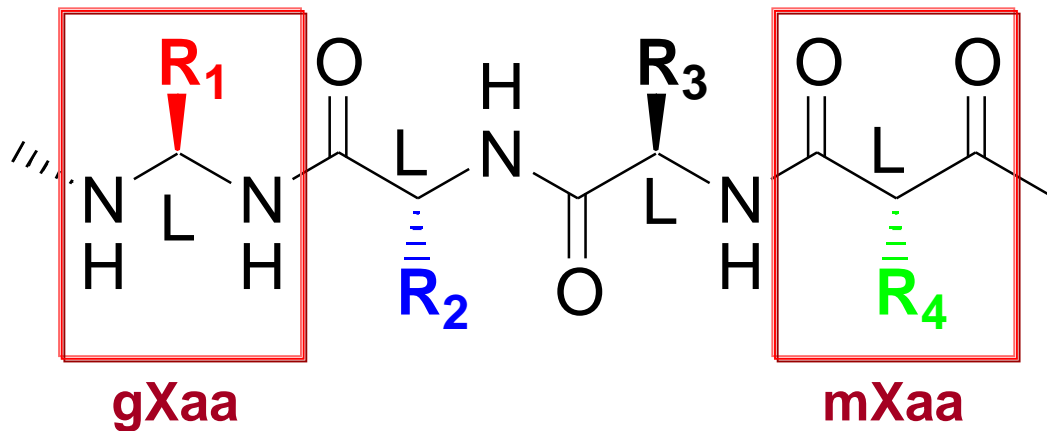
- residuo N-terminale → residuo gem-diamminoalchilico **gXaa**
- residuo C-terminale → residuo malonico **mXaa**
- direzione invertita del legame peptidico **rXaa**



Peptide normale



Peptide retroinverso



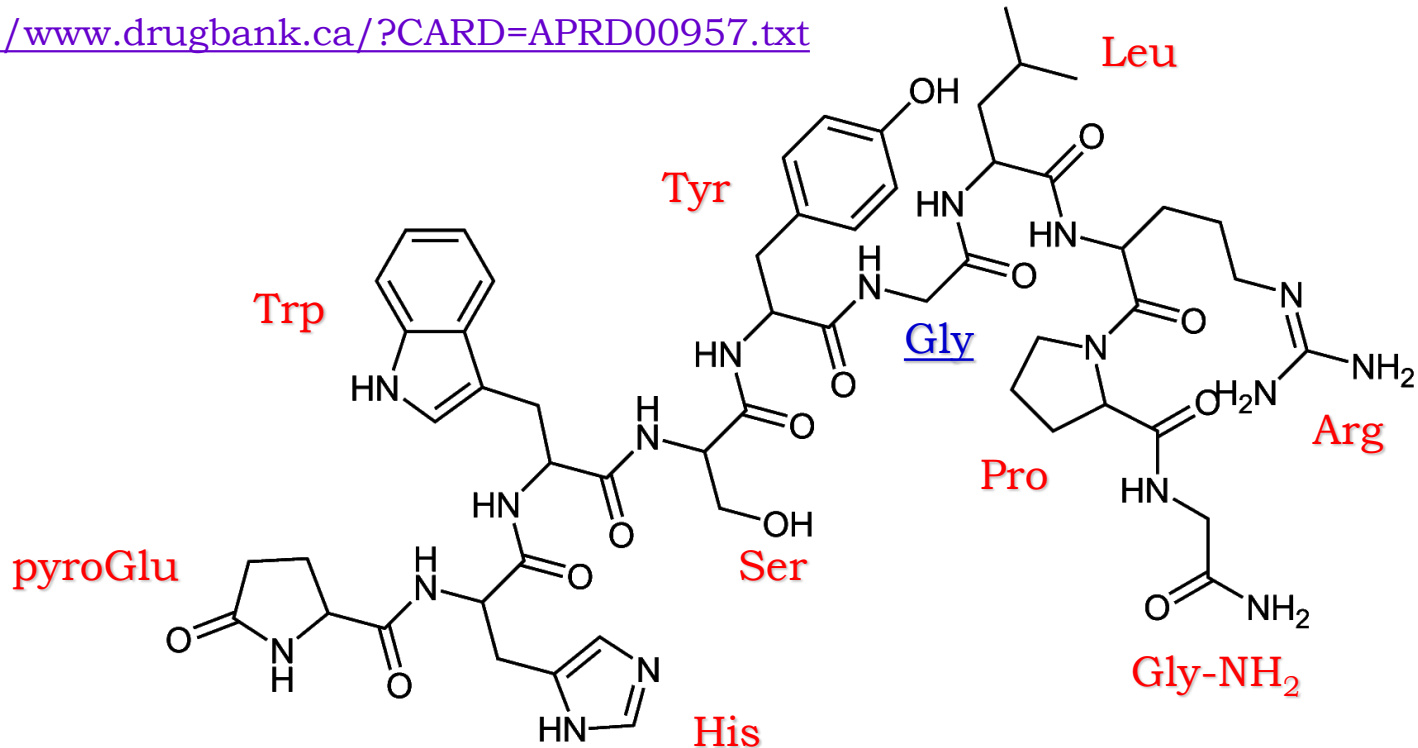
Peptide parzialmente modificato

Gonadorelina (GnRH, LRF, LHRH) (10 aa)

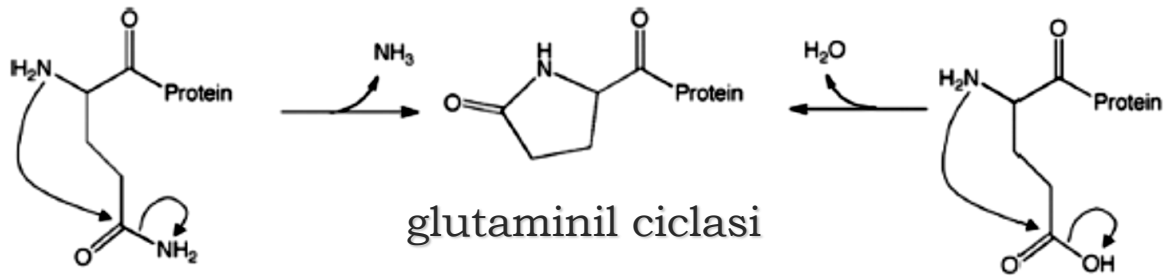
pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂

Kryptocur, Lutrelef

<http://www.drugbank.ca/?CARD=APRD00957.txt>



- rilascio di FSH, LH;
- stimolazione pulsata (60-90min), feedback di androgeni ed estrogeni;
- controllo della crescita follicolare, ovulazione, corpo luteo, spermatogenesi;
- capacità funzionale gonadotropica (tumore dell'ipofisi);
- amenorrea ipotalamica, pubertà ritardata (ipogonadismo), infertilità, criptorchidismo monolaterale e bilaterale
- **rapido assorbimento, rapida inattivazione (emivita 2-10min);**



glutaminil ciclasi

**fibrina, fibrinogeno e
proteine tipo
collagene;**

Quasi la metà degli anticorpi descritti contiene un glutammato N-terminale

N-terminale Gln

N-terminale pGlu

N-terminale Glu

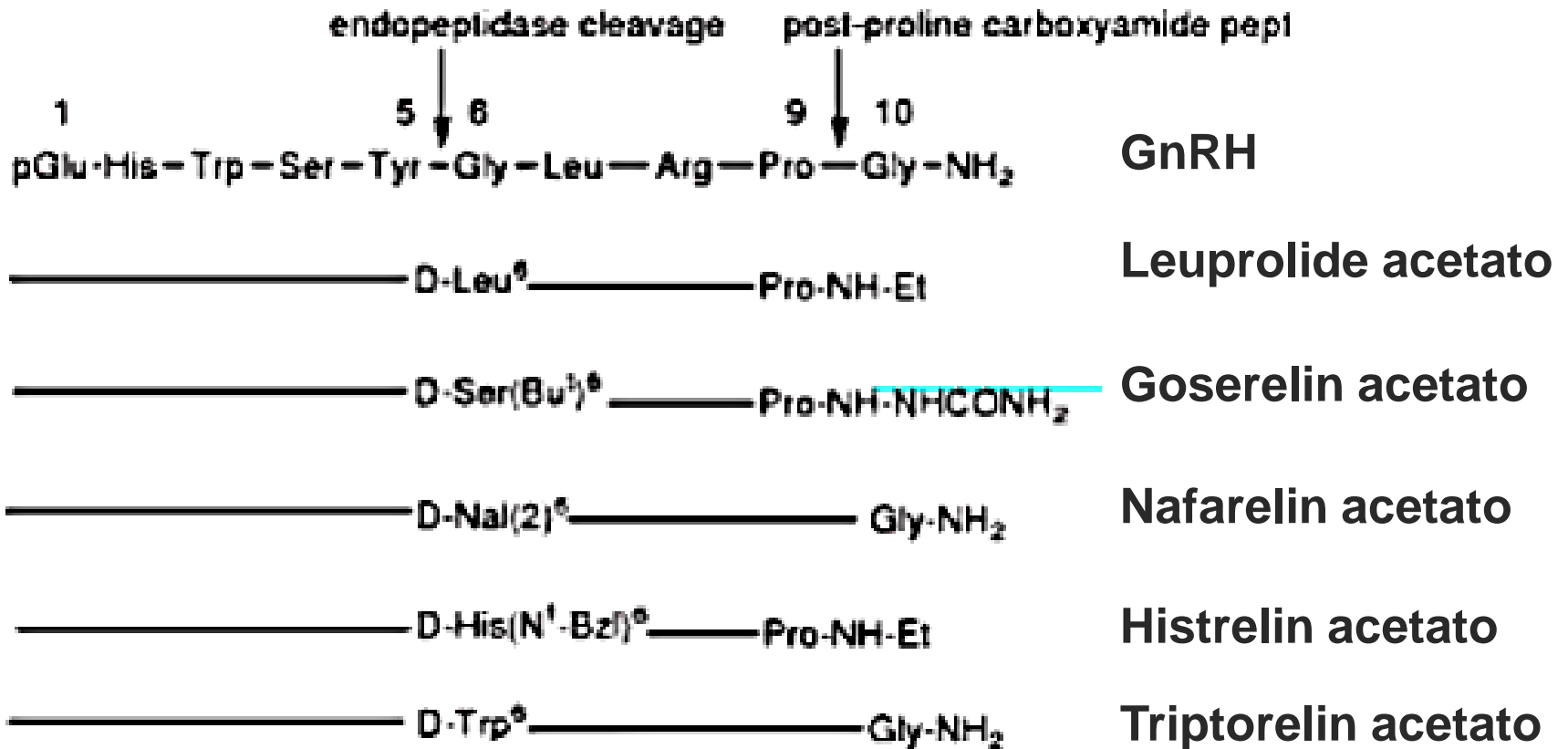
pGlu preserva le proteine da una rapida degradazione da parte di aminopeptidasi

Table 1. Some human peptides and proteins with an amino terminal pGlu residue

Protein/peptide	Sequence
TRH ←	pGlu-His-Pro-NH ₂
TRH-like peptide (prostate)	pGlu-Glu-Pro-NH ₂
Anorexigenic peptide	pGlu-His-Gly-OH
Eisenine	pGlu-Glu-Ala-OH
Colon mitosis-inhibitory peptide	pGlu-Glu-His-Gly-OH
Peptide-inhibiting epidermal mitosis	pGlu-Glu-asp-Cys-Lys-OH
Vasoactive polypeptide ←	pGlu-Val-Pro-Gln-Trp
LHRH	pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Gln-Pro-Gly-NH ₂
GnRH-II ←	pGlu-His-Trp-Ser-His-Gly-Trp-Tyr-Pro-Gly-NH ₂
Eledoisin	pGlu-Pro-Ser-Lys-Asp-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH ₂
Neurotensin	pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-NH ₂
Fibrinopeptide B	pGlu-Gly-Val-Asn-Asp-Asn-Glu-Glu-Gly-Phe-Phe-Ser-Ala-Arg
Gastrin	pGlu-Gly-Pro-Trp-Leu-Glu-Glu-Glu-Glu-Ala-Tyr-Gly-Trp-Met-
Aβ11(pE)-40/42 ←	pGlu-Val-His-His-Gln-Lys-Leu-Val-Phe-Phe-Ala-Glu-Asp-Val-Gly-Ser-
Aβ3(pE)-40/42- ←	pGlu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu-Val-His-His-Gln-Lys-Leu-Val-
Orexin A	pGlu-Pro-Leu-Pro-Asp-Cys-Cys-Arg-Gln-Lys-Thr-Cys-Ser-Cys-Arg-Leu-
Apelin	pGlu-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe

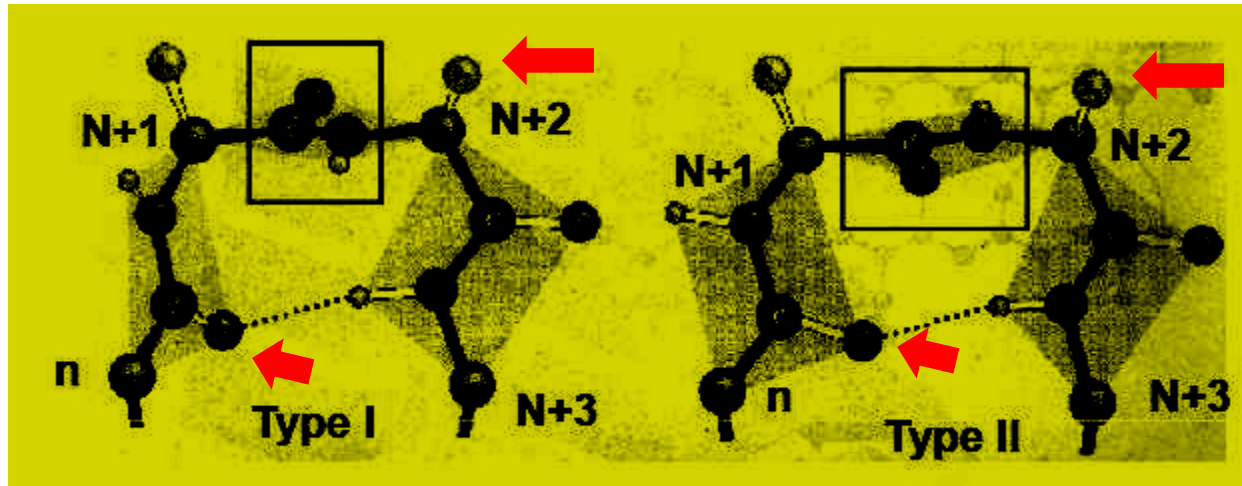
pGlu è essenziale per la funzione TRH

Analoghi del GnRH: superagonisti o antagonisti



I superagonisti producono un immediato aumento della secrezione di LH e FSH cui segue una fase di inibizione della produzione di gonadotropine e steroidi → esempio di **downregulation (indotta) dei recettori ligando**.

Usi terapeutici: endometriosi, pubertà primaria precoce, cancro prostatico,



β -turn tipo I e II più comuni

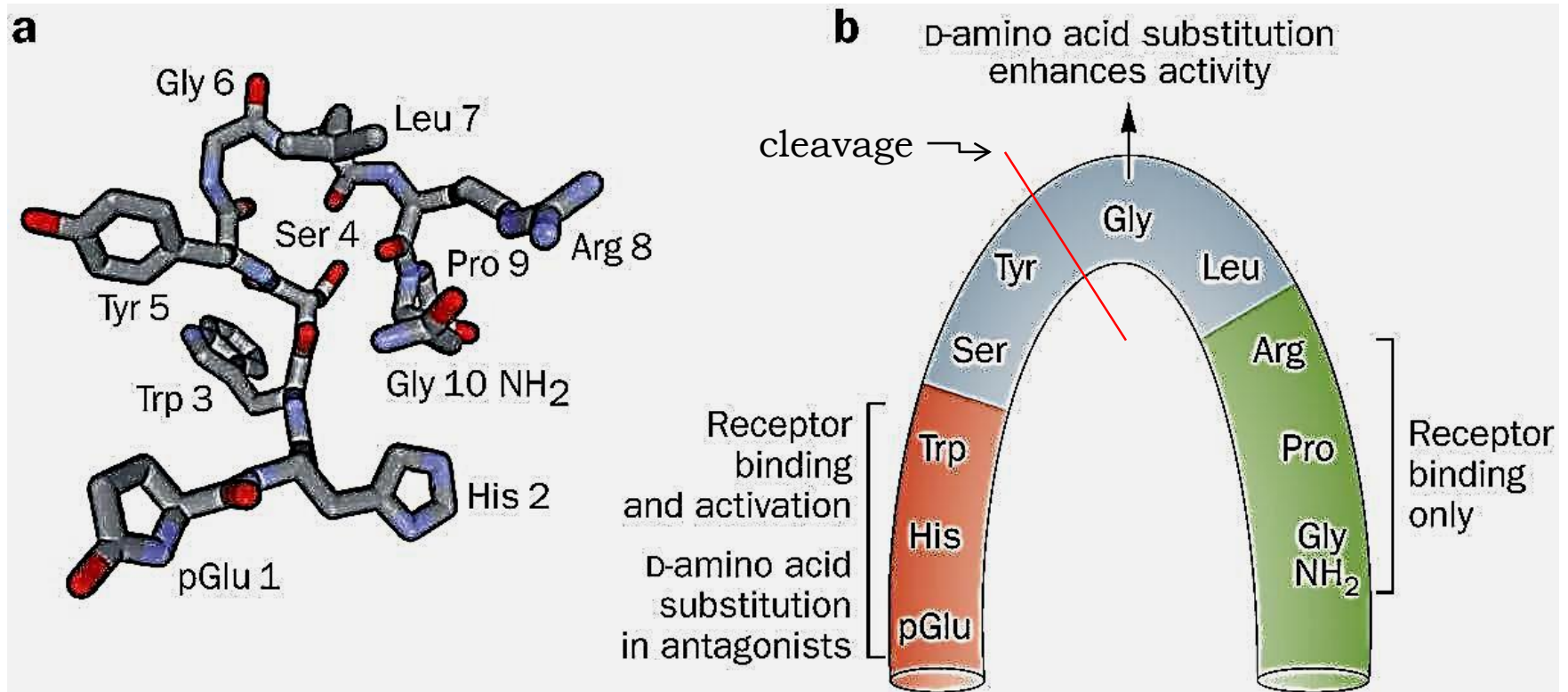
4 a.a. che instaurano HB intramolecolare tra CO (I a.a.) e NH (III a.a.).

Il turn inverte la direzione della catena.

Nel turn tipo I il CO di n+1 punta lontano dalla catena laterale dei residui n+2 and n+3.

Nel turn tipo II il CO di n+1 punta nella stessa direzione della catena laterale n+2 (sempre Gly)

elemento β -II' intorno alla glicina in posizione 6. L'elemento strutturale β -II' ricorre quando una regione del peptide composta da 4 aminoacidi si ripiega su stessa con un angolo di quasi 180°.

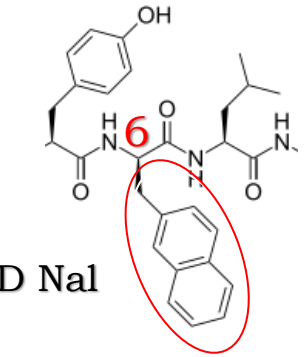


Analoghi del GnRH: superagonisti o antagonisti

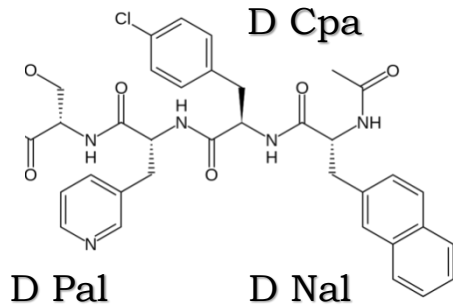
GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly	NH ₂
	agonisti										
Leuprorelina						D Leu					NEt
Goserelina						D Ser (tBu)					AZNH ₂
Istrelina						D His (ImBzl)					NH ₂
Nafarelina						D Nal					NH ₂
Triptorelina						D Trp					NH ₂
Deslorelina						D Trp					NEt
Buserelina						D Ser (tBu)					NEt
	antagonisti										
Cetrorelix	D Nal	D Cpa	D Pal			D Cit				D Ala	NH ₂
Ganirelix	D Nal	D Cpa	D Pal			D hArg (Et) ₂		D hArg (Et) ₂		D Ala	NH ₂
Abarelix	D Nal	D Cpa	D Pal		N Me Tyr	D Asn		Lys (iPr)		D Ala	NH ₂
Antide	D Nal	D Cpa	D Pal		Lys (Nic)	D Cit		Lys (iPr)		D Ala	NH ₂
Teverelix	D Nal	D Cpa	D Pal			D hCit		Lys (iPr)		D Ala	NH ₂
Degarelix	D Nal	D Cpa	D Pal		Aph (Hor)	D Aph (Cba)		Lys (iPr)		D Ala	NH ₂
Nal-Glu	D Nal	D Cpa	D Pal		Arg	D Glu (AA)				D Ala	NH ₂

Eligard, Enantone, Leptoprol

Zoladex



Nafarelina



Cetrorelix

Cetrotide

Orgalutran

Firmagon

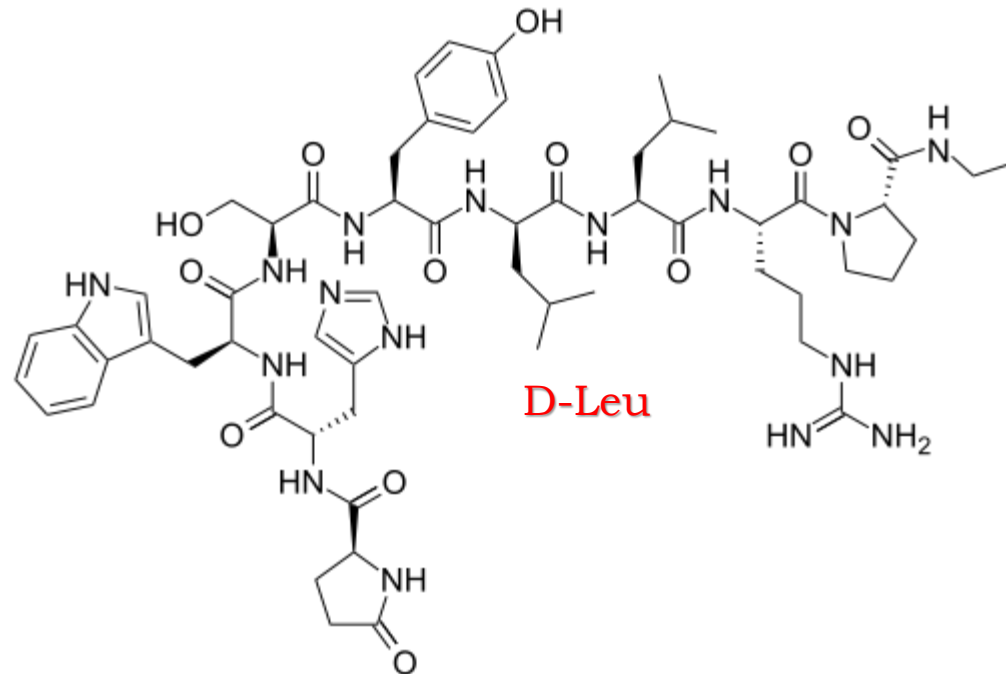
Leuprolina (acetato)

pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-**D-Leu**-Leu-Arg-Pro-NEt₂

Eligard, Enantone, Leptoprol

Half life ~3 hours (cfr Gonadorelina 2-10min)

(GnRH, pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂)



- terapia ormonale;
- agonista di LH e FSH dall'ipofisi, con conseguente riduzione della concentrazione serica di testosterone negli uomini (castrazione chimica) e di estradiolo nelle donne;
- trattamento del carcinoma della prostata nei casi in cui sia indicata la soppressione della produzione di testosterone.

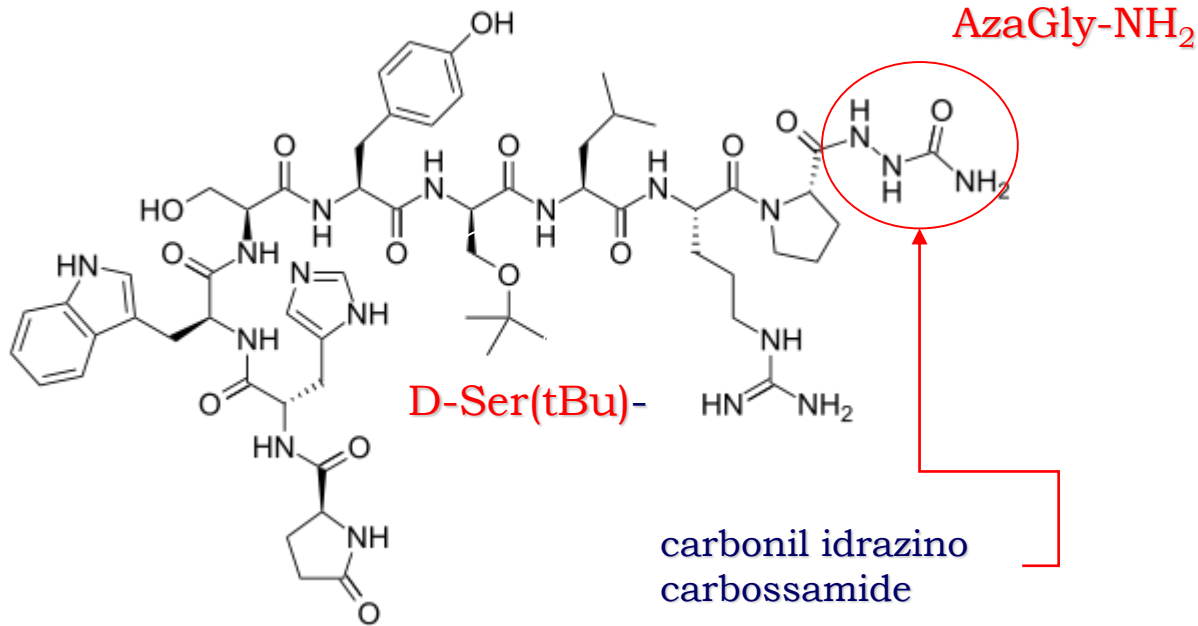
Goserelina (acetato)

Zoladex®

p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(tBu)-Leu-Arg-Pro-AzaGly-NH₂,

Half life 4-5 hours (cfr Gonadorelina 2-10min)

(**GnRH**, pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂)



- terapia ormonale;
- ↓ secrezione LH e FSH (funzione gonadotropa) ↘ ↘ testosterone U (castrazione chimica) e di estradiolo D;
- carcinoma della mammella
- carcinoma della prostata

DeSombre (Science. 1976 Oct 15;194(4262):329-30. Endocrine-dependent rat mammary tumor regression: use of a gonadotropin releasing hormone analog)

Analoghi del GnRH: antagonisti

Cetrorelix (acetato)

Cetrotide®

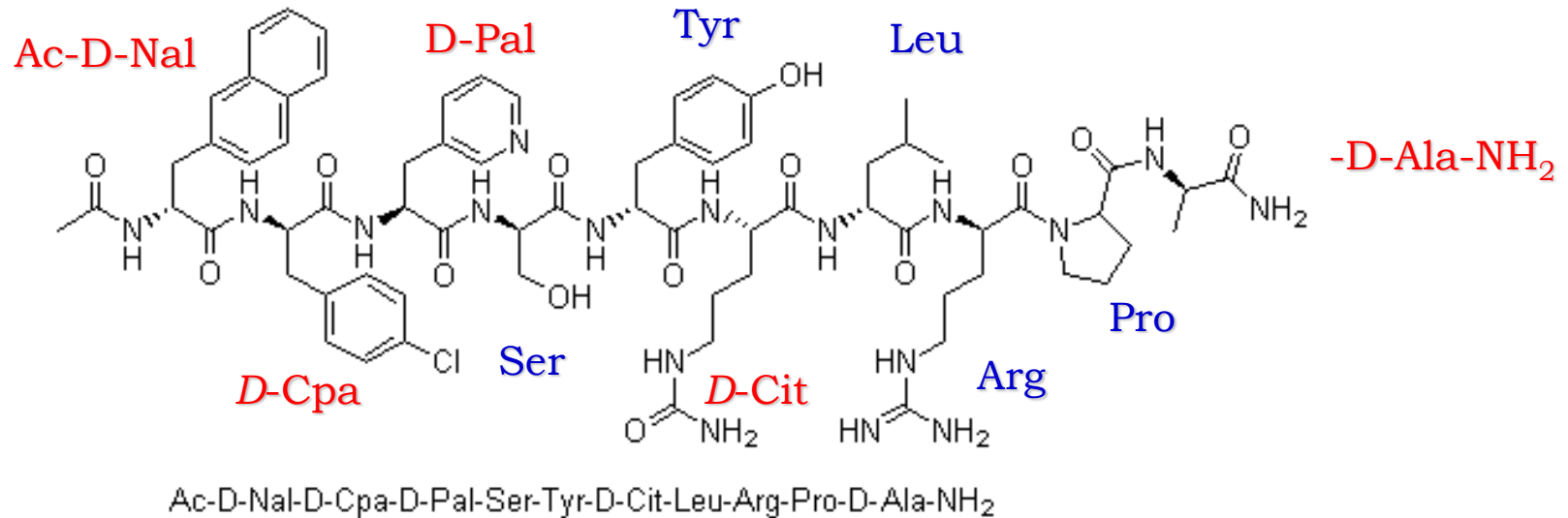
Ac-D-Nal-D-Cpa-D-Pal-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH₂

(GnRH, pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂)

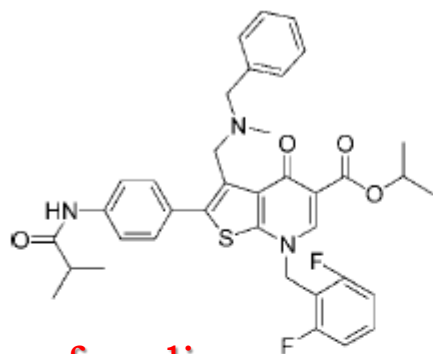
Decapeptide sintetico inibitore competitivo GnRH.

Half life ~63 hours

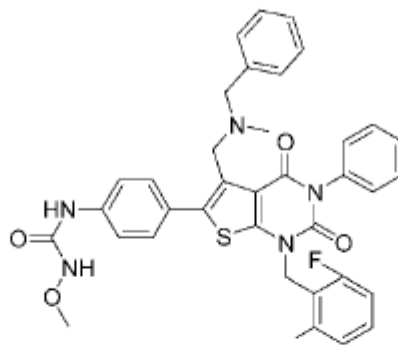
Trattamento dell'ovulazione prematura in pazienti sottoposte a stimolazione ovarica controllata.



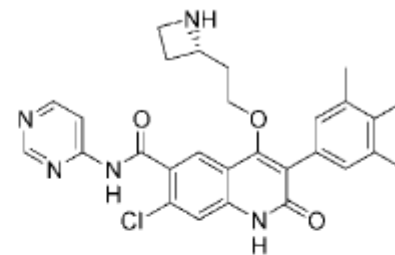
feedback positivo estradiolo ciclo mestruale (14g), GnRH ↑ → LH FSH↑ → ovulazione (foll .dom.) → meiosi ovcita → luteinizzazione → prog ↑. Antagonista GnRH: blocca effetti GnRH (ovulazione prematura)



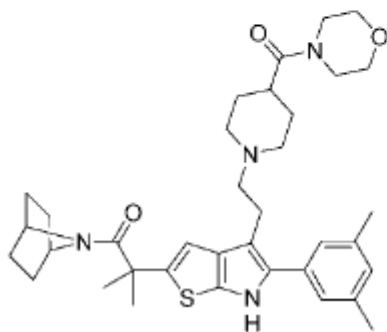
sufugolix



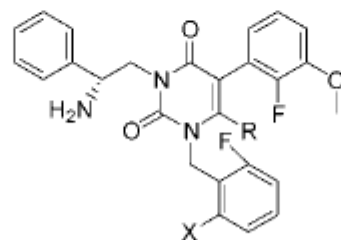
T-98475



quinolone derivative

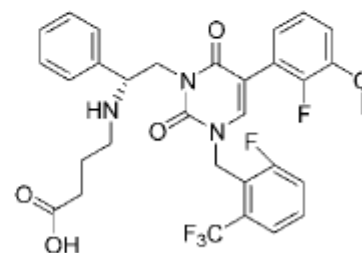


thienopyrroles



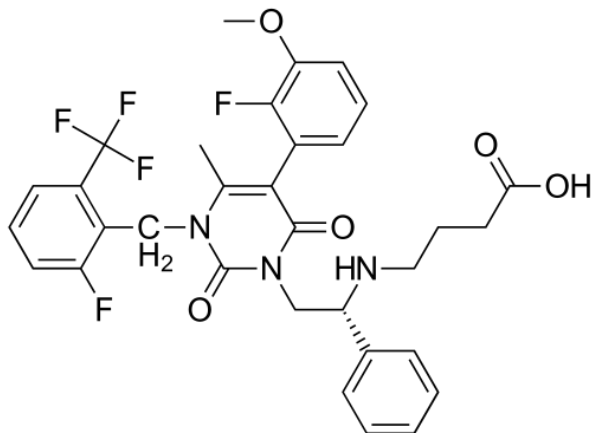
- 4a:** R = Me, X = F
4b: R = Me, X = CF₃
5a: R = H, X = F
5b: R = H, X = CF₃

NBI-42902

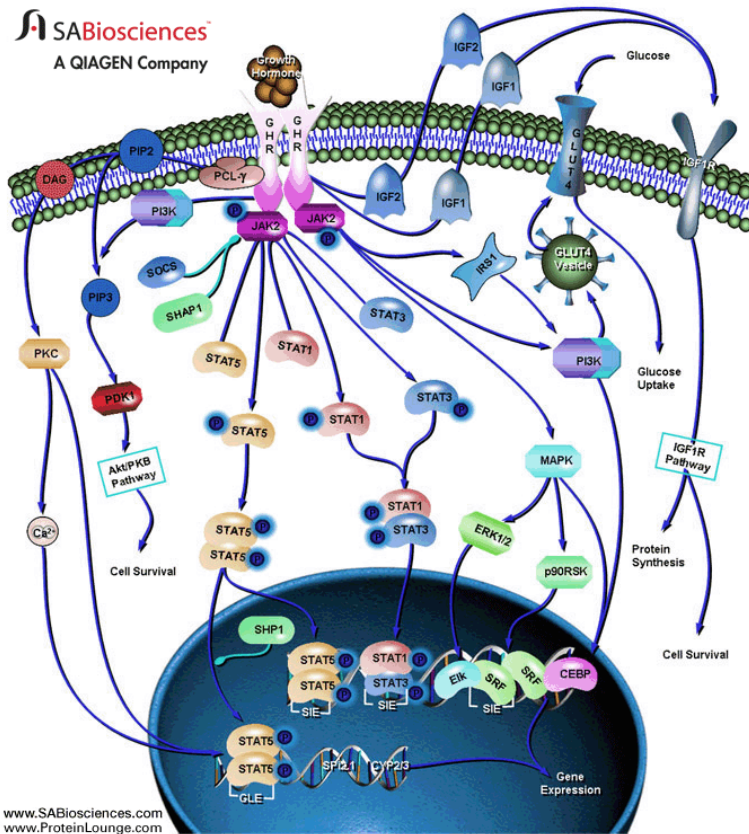


6

J. Med. Chem. 2008, 51, 7478–7485



Elagolix



GHRH/GRF (Growth Hormone-Releasing Hormone, somatostatin) 44aa

*Reichlin 1960: dimostrazione dell'esistenza;
Guillemin et al. 1982 isolano e caratterizzano un peptide di 44aa da un raro tumore del pancreas (acromegalia non dipendente da tumore ipofisario)*

- stimola il rilascio (via specifici recettori, GHRHR) dell'ormone della crescita (GH/somatotropina) dall'adenipofisi;
- **appare nell'ipotalamo tra la 18^a e 29^a settimana di gestazione;**
- eccesso di GHRH è associato a iperplasie (neoplasie);
- antagonisti di GHRH sono utili in disordini endocrini (acromegalia, retinopatia, nefropatia diabetica);

HO - Tyr - Ala - Asp - Ala - Ile - Phe - Thr - Asn - Ser - Tyr - Arg - Lys - Val - Leu - Gly - Gln - Leu - Ser - Ala - Arg - Lys - Leu - Leu - Gln - Asp - Ile - Met - Ser - Arg - Gln - Gln - Gly - Glu - Ser - Asn - Gln - Glu - Arg - Gly - Ala - Arg - Ala - Arg - Leu - NH₂

Sermorelin (*Geref*)

YDAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQ (3357.882 Da)

H-Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-NH₂

(Half life 11-12 min)

Sermorelina acetato: sale del peptide di sintesi corrispondente al segmento amino terminale **1-29** del fattore di rilascio ipotalamico dell'ormone della crescita (GHRH, 44 aa).

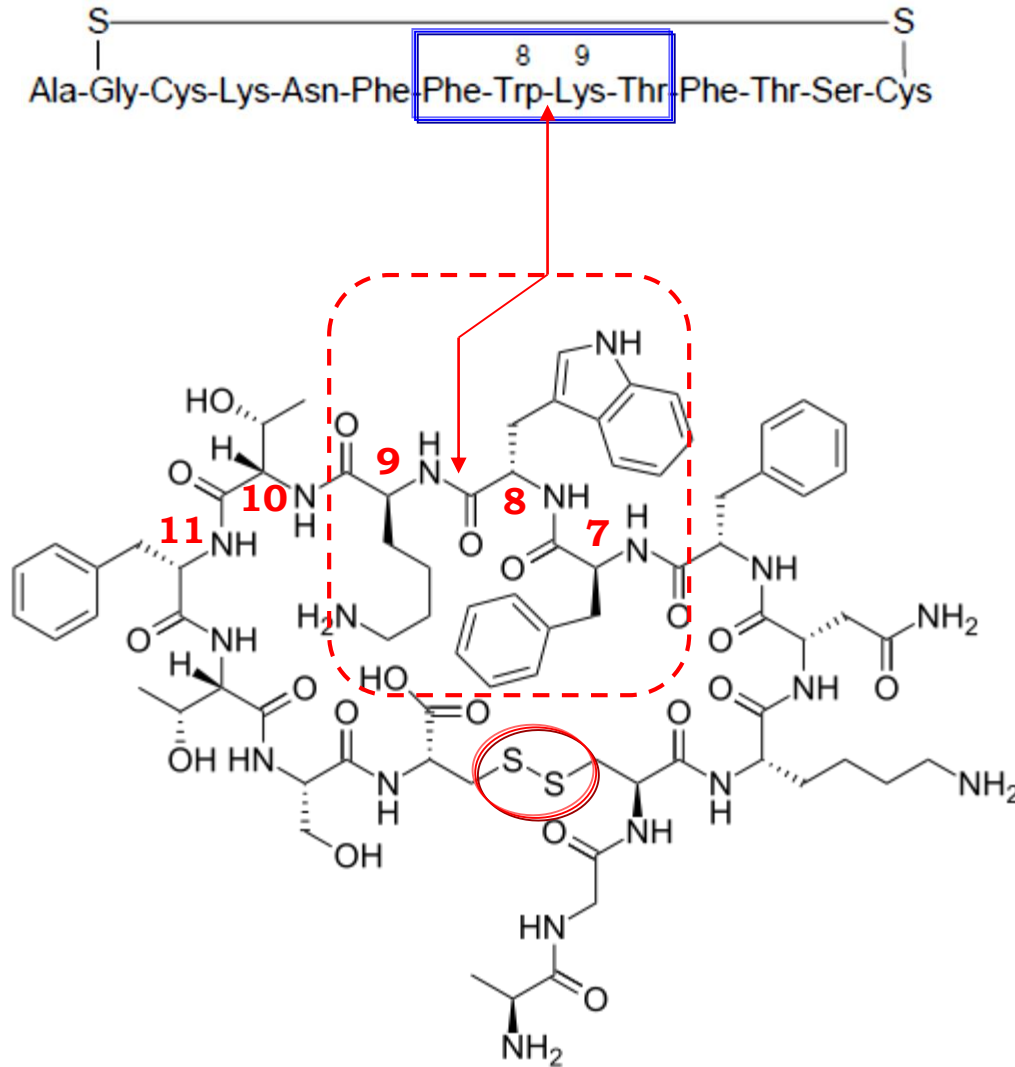
Diagnostico per deficienza di ormone della crescita.

Uso in pediatria nel trattamento di deficienza dell'ormone della crescita (GH). *Geref* incrementa la concentrazione plasmatica di GH stimolando le cellule somatotrope dell'ipofisi. Il rilascio di GH induce la produzione di IGF-1 (fattore di crescita insulino-simile) implicato nella rigenerazione tissutale.

Somatostatina-14

(equiv, Zecnil)

(Somatotropin Release-**Inhibiting** Factor; SRIF; SRIF-14)

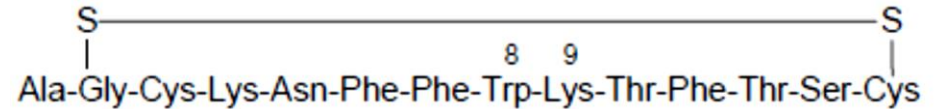
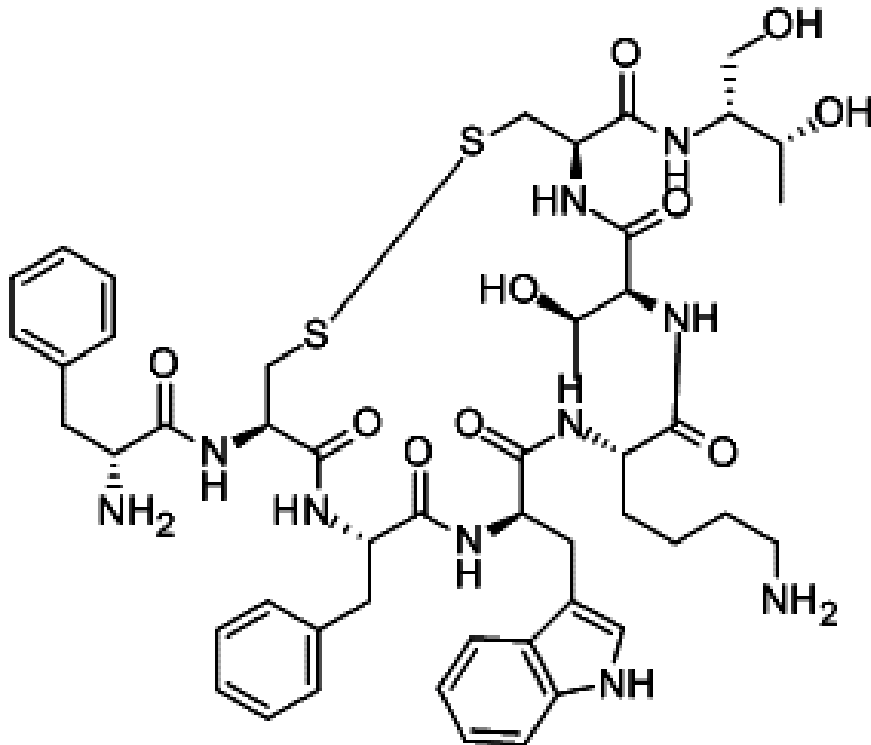


- Neurotrasmissione, proliferazione cellulare (recettori G-protein, nM);
- ↓ **GH** dalle cellule somatotrope (feedback negativo) **opponendosi a GHRH**;
- nucleo, ippocampo, nuclei tronco encefalico, cellule delta pancreas;
- ↓ TSH;
- ↓ gastrina, colecistochinina, secretina, motilina...);
- ↓ rilascio di insulina;
- **emiv. pochi min.), idrolisi trp-lys.**
- emorragie tratto gastroenterico superiore (ulcere gastriche, duodenali e gastroduodenali, gastriti emorragiche, varici esofagee).
- profilassi complicanze post-operatorie (interventi sul pancreas).

Analoghi Somatostatina:

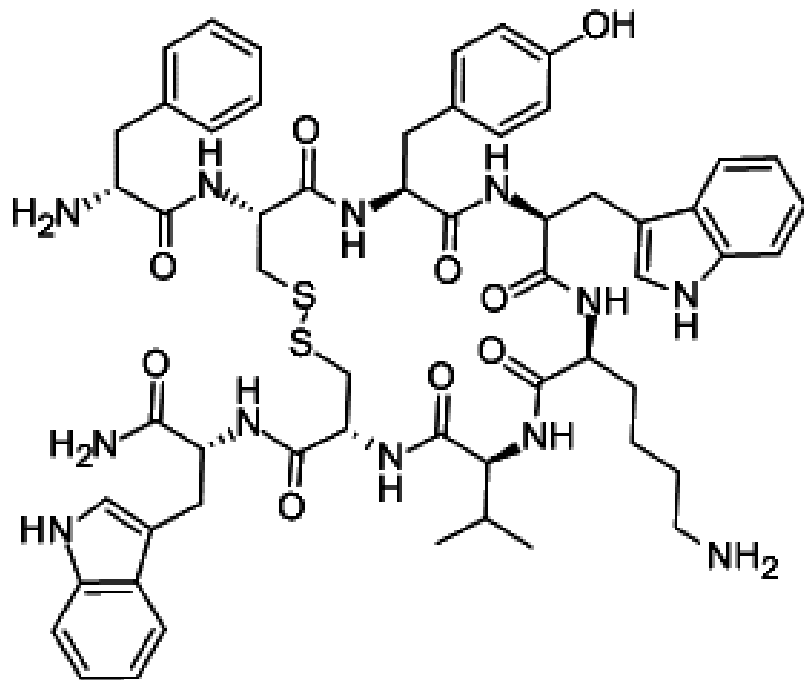
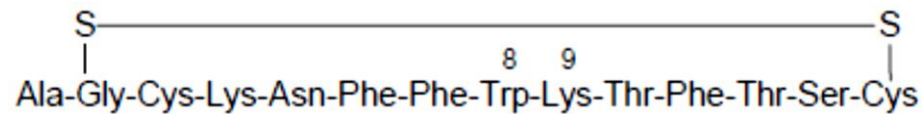
Octreotide (8 aa)

(equiv., Longastatina, Sandostatina, Siroctid, Treject,)



- sequenza **Phe-D-Trp-Lys-Thr** (cfr simile sequenza della S., essenziale per attività);
- resistente proteolisi (emiv. 1.5 hr);
- simile profilo fisiologico, minore inibizione rilascio insulina);
- **terapia per acromegalia;**
- **approvato per cura sintomatica di tumori secernenti VIP (peptide intestinale vasoattivo**

Analoghi Somatostatina: Vapreotide (8 aa)

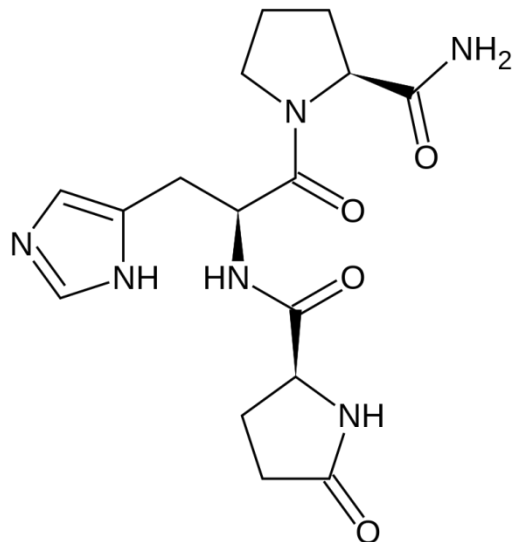


- sequenza **Phe-D-Trp-Lys-** (cfr simile sequenza della S., essenziale per attività);
trattamento di emorragia esofagea in pazienti cirrotici;
diarrea in pazienti AIDS;
- **Half time 30 min**

Ormone di rilascio della tirotropina (**TRH**, Protirelina o Tiroliberina)

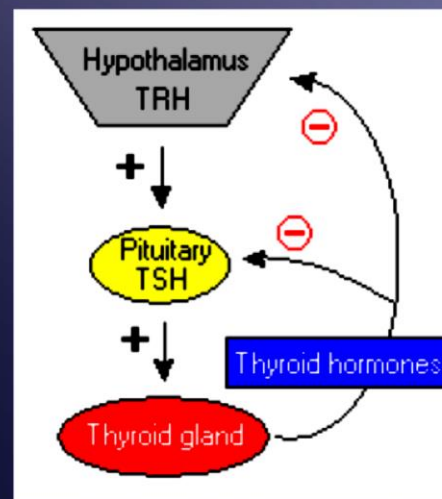
- Tripeptide;
- Stimola il rilascio TSH e PRL;
- agente diagnostico ausiliario per distinguere ipotiroidismo ipotalamico (terziario) e ipofisario (secondario).
- Azione neurotrofica; stimolante cerebrale nelle alterazioni della coscienza e vigilanza, conseguenti a trauma cranico o trombosi emorragiche.

Roger Guillemin and Andrew Schally teams (Nobel 1977) TRH estratto da 20 tonnellate di ipotalamo (2 milioni di pecore-1 milione maiali)



(pyro)Glu-His-Pro-NH₂

Regolazione della secrezione di ormoni tiroidei



TRH, Ormone di rilascio della tirotropina

pGlu-His-Pro-NH₂

TSH, tirotropina

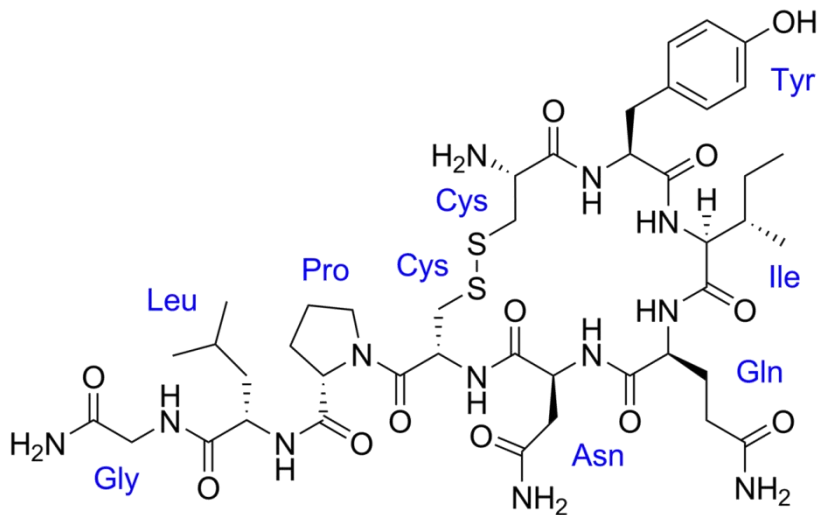
Glicoproteina (28000 D), due catene polipeptidiche di dimensioni simili: catena α (presente anche in altri peptidi ipofisari), catena β (tipica di TSH)

Ossitocina (9aa)

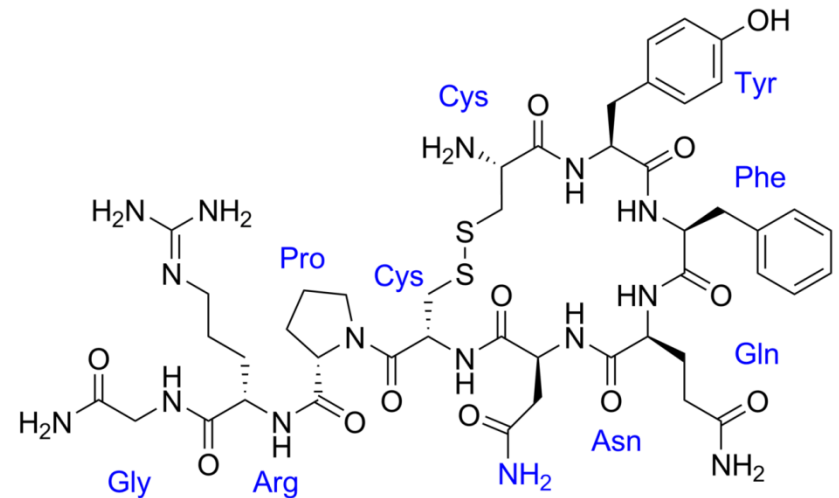
(sintesi)

H-Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂
(Disulfide Bridge Cys1-Cys6)

t_{1/2} 3 - 5 min



Induzione del travaglio e contrazioni uterine tramite incremento del Ca⁺⁺ intracellulare che a sua volta attiva la chinasi della miosina a catena leggera.



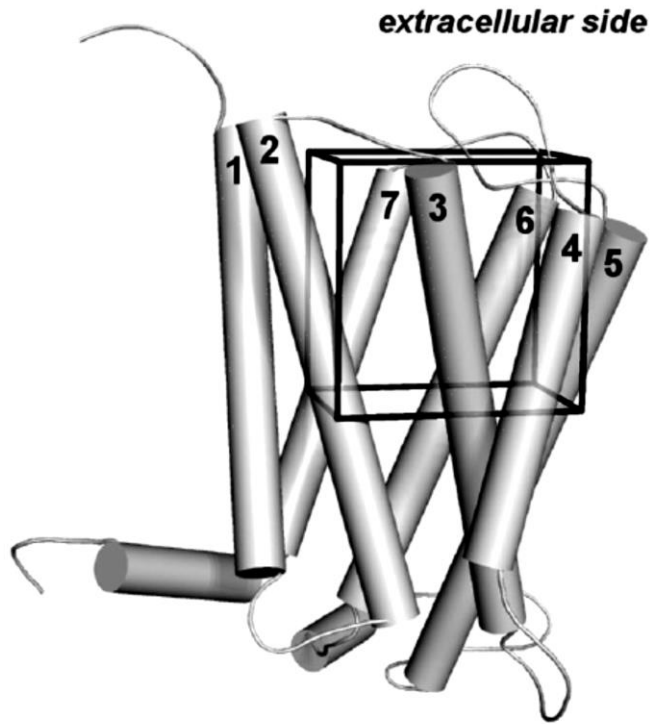
Ormone antidiuretico ipotalamico secreto in circolo dalla ipofisi posteriore. Si lega ai recettori del tubulo distale e collettore del rene e promuove il riassorbimento di acqua.

Vasopressina (9aa)

H-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂
(Disulfide Bridge Cys1-Cys6)

t_{1/2} 10 - 20 min

I recettori della vasopressina e ossitocina appartengono alla superfamiglia dei recettori accoppiati alla proteina G (GPCRs)

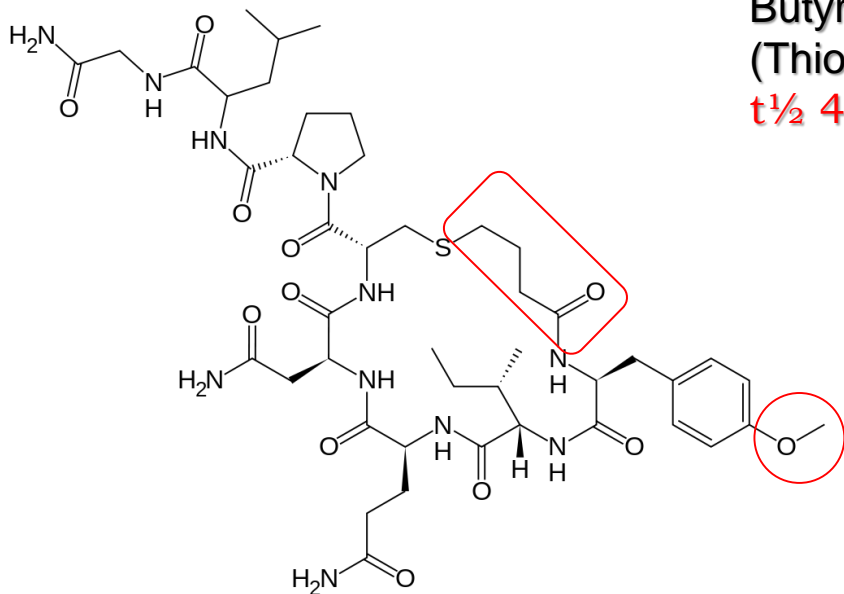


V1aR, V1bR ed OTR innescano una cascata di segnali che provocano l'attivazione della fosfolipasi C e mobilizzazione citosolica del Ca^{++} . V2R stimola il sistema adenil ciclasi-AMP.

Sono noti **3 recettori della vasopressina** (V1aR, V1bR e V2R) ed un solo recettore per l'ossitocina (OTR). Come tutti i GPCRs, sono proteine di membrana con 7 eliche trans-membrana (TM1-TM7), legate da 3 loops extracellulari (EL1-EL3) e 3 intracellulari /citosolici (IL1-IL3), con il segmento extracellulare N-terminale e citosolico C-terminale .

Ossitocina

H-Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ $t_{1/2}$ 3-5 min



Carbetocina (*Duratocin*)

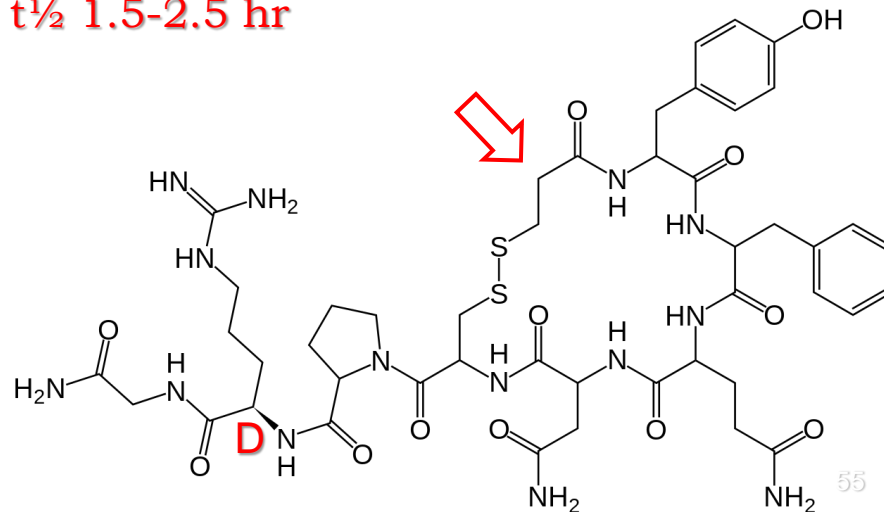
Butyryl-Tyr(Me)-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂
(Thio ether Bridge Butyryl-4-yl -Cys)

$t_{1/2}$ 40 min

Desmopressina (*Minirin/ddavp, equiv.*)

Mpr-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-D-Arg-Gly-NH₂
(Disulfide Bridge Mpr1-Cys6)

$t_{1/2}$ 1.5-2.5 hr



Vasopressina

H-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂
(Disulfide Bridge Cys1-Cys6)

$t_{1/2}$ 10 - 20 min

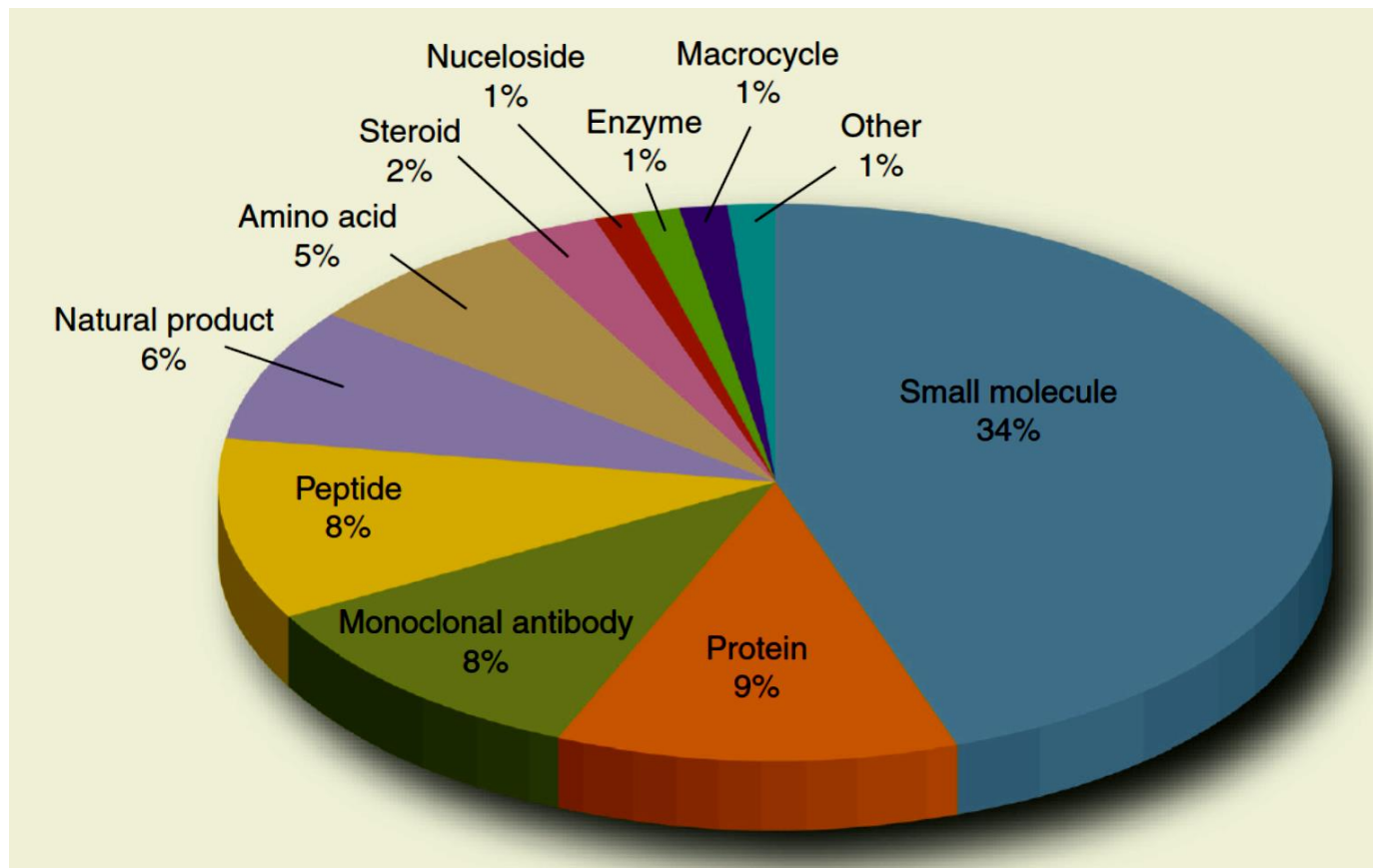
SAR per ossitocine-vasopressine

Polipeptidi naturali e sintetici

		Att. Ossitoc.	Att. Vasopr.	Rapporto
<u>CH₂S</u>				
CH ₂ CO-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH ₂	Deammino-ossitocina	150	0.3	500 : 1
Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH ₂	Ossitocina (uomo)	100	1.3	75 : 1
Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Ile-Gly-NH ₂		64	1.6	40 : 1
Cys-Tyr-Ile-Ser-Asn-Cys-Pro-Ile-Gly-NH ₂	Isotocina	33	0.02	1650 : 1
Cys-Tyr-Ile-Asn-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH ₂		24	0.03	800 : 1
Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂	Lys ⁸ -vasotocina (uccelli)	17	34	1 : 2
Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂	Arg ⁸ -Vasotocina (pollo)	16	32	1 : 2
Cys-Phe-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂	Phe ² -Arg ⁸ -Vasotocina	0.5	32	1 : 64
Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂	Lipressina (suini)	1	70	1 : 70
Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Orn-Gly-NH ₂	Ornipressina	2	94	1 : 47
Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂	Vasopressina (uomo)	3.3	100	1 : 30
Cys-Phe-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂	Felipressina	0.02	20	1 : 1000
Cys-Phe-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂		0.04	32	1 : 800
Cys-Tyr-Tyr-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂		~0	0.4	31
Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Sar-NH ₂		~0	0.1	-

Distribution of the drugs approved by the US FDA by chemical species

About 60 peptide drugs sold worldwide had combined sales approaching \$13 billion in 2010. Among these, the multiple sclerosis therapy Copaxone* and the hormone-related products **leuprolide, octreotide, and goserelin** have annual sales of more **than \$1 billion each**.



Therapeutic peptides *Future Med. Chem.* 2012, 4(12), 1527–1531

* EAYKAAEKAYAAKEAAKEAAKAKAEKKAAYAKAKAAKYEKKAKKAAAAYK