

Farmacologia Cellulare e Molecolare

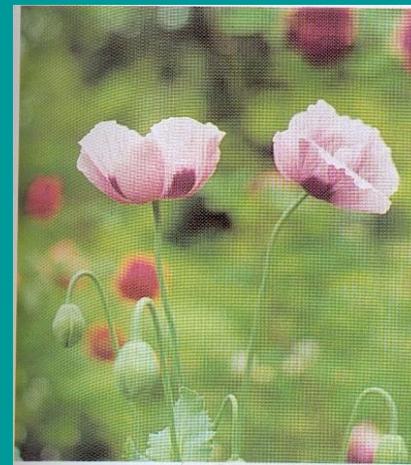
2023

Prof.ssa Patrizia Romualdi



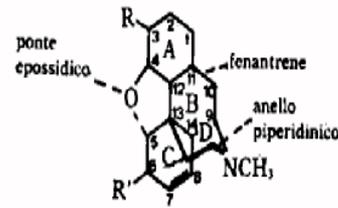
Il sistema oppioide

Patrizia Romualdi



Cosa sono gli oppiacei?

Morfina
Metadone
Idromorfone
Ossicodone
Fentanil
Tapentadolo



| R | R' | Composto |
|--------------------------------|--------------------|---------------------------|
| OH | OH | morfina |
| OCH ₃ | OH | codeina |
| OCH ₃ | OCH ₃ | tebaina |
| OC ₂ H ₅ | OH | etilmorfina (dionina) |
| OCOCH ₃ | OCOCH ₃ | diacilmorfina (eroina) |
| OCH ₃ | = O ⁽¹⁾ | diidrocodeinone (dicodid) |

⁽¹⁾ Con saturazione del doppio legame 7-8.

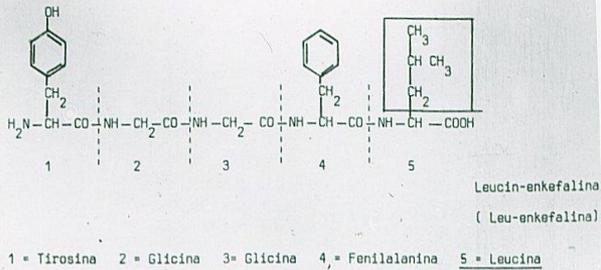


Buprenorfina
Codeina
Tramadolo
Pentazocina
Naloxone

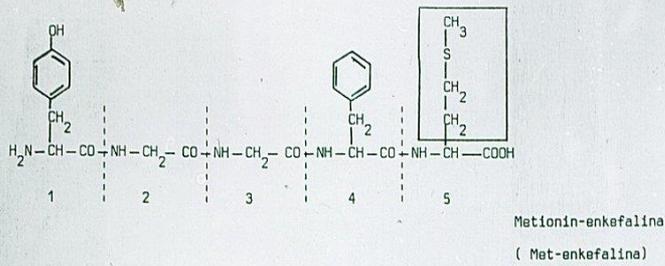
Gli **Oppiacei** sono farmaci naturali e di sintesi, che interagiscono con i recettori oppioidi.

Gli **Oppioidi** sono sostanze peptidergiche endogene, naturali ligandi dei recettori oppioidi.

Gli oppioidi si legano ad almeno 3 tipi recettoriali altamente specifici : μ (MOP, MOR), κ (KOP, KOR), e δ (DOP, DOR).

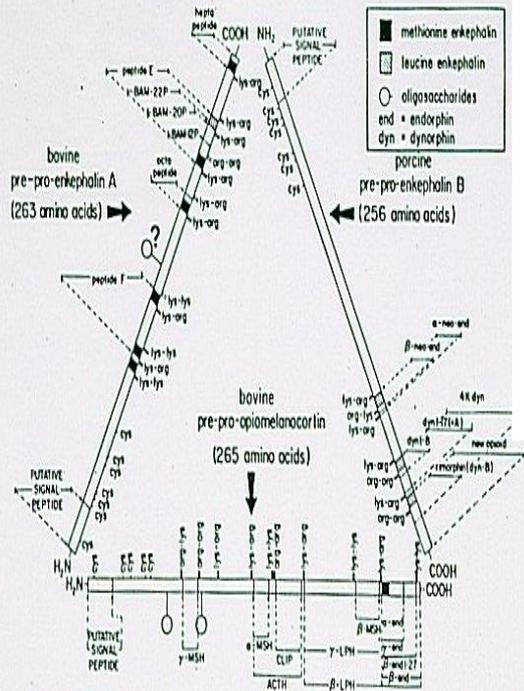


1 = Tirosina 2 = Glicina 3 = Glicina 4 = Fenilalanina 5 = Leucina

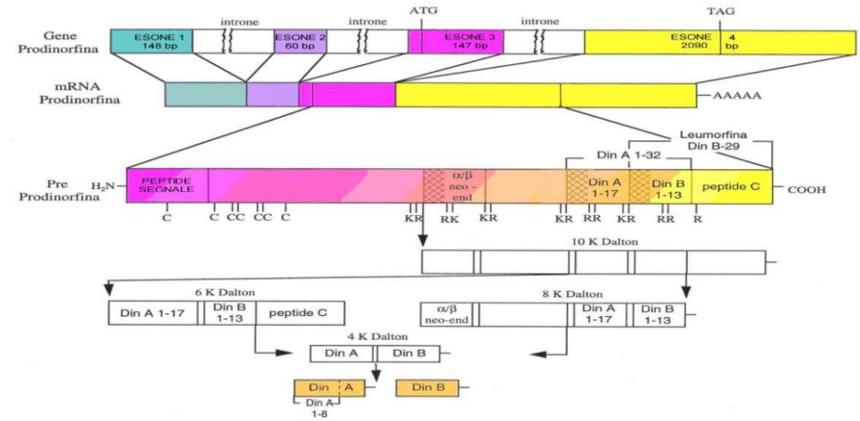
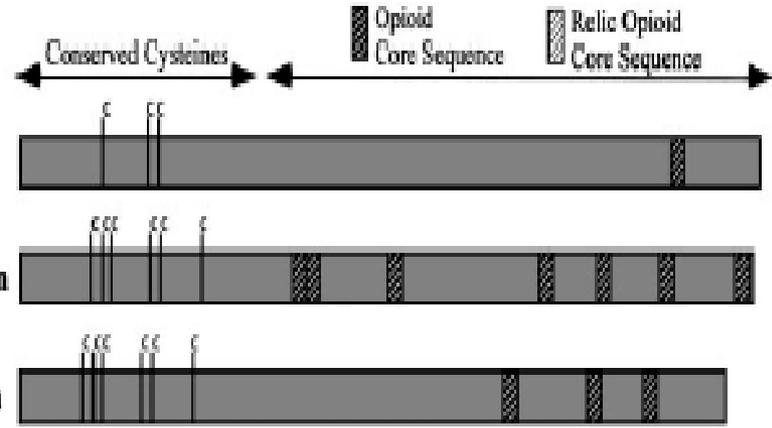


1 = Tirosina 2 = Glicina 3 = Glicina 4 = Fenilalanina 5 = Metionina

Gli oppioidi = molecole endogene

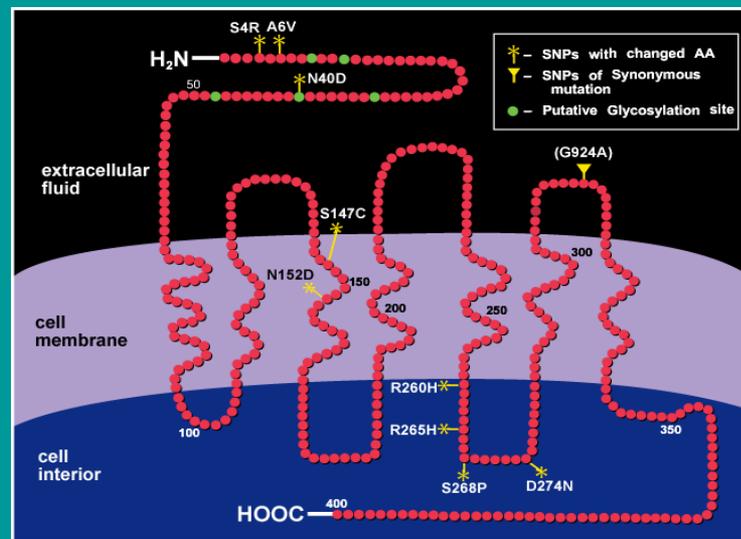
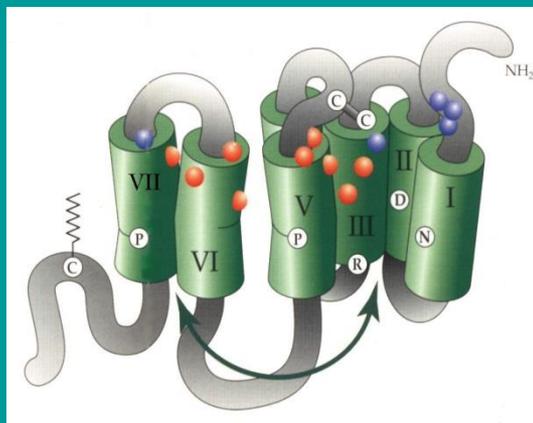
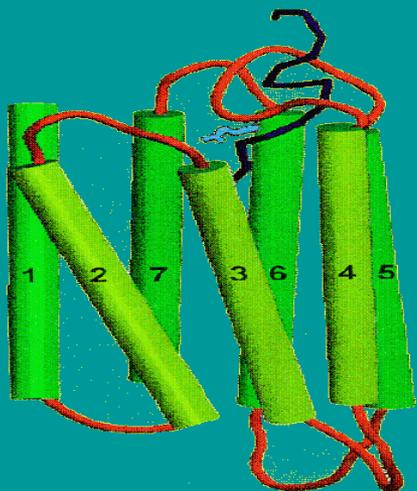


Schematic representation of bovine pre-pro-opiomelanocortin, bovine pre-pro-enkephalin A and porcine pre-pro-enkephalin B. The figure is based on the data from Refs 11, 20 and 22. The heptapeptide is Met-enkephalin-Arg⁶-Phe⁷; the octapeptide is Met-enkephalin-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸; BAM-P = bovine adrenal medulla peptides (see Ref. 19).



I RECETTORI OPIOIDI

I recettori oppioidi appartengono alla superfamiglia GPCR a 7TM, accoppiati prevalentemente a Proteine G α i/o



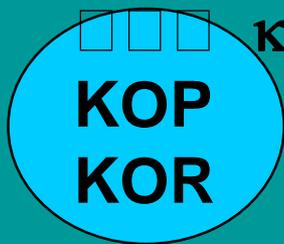
hMOP, Kreek et al, 2005



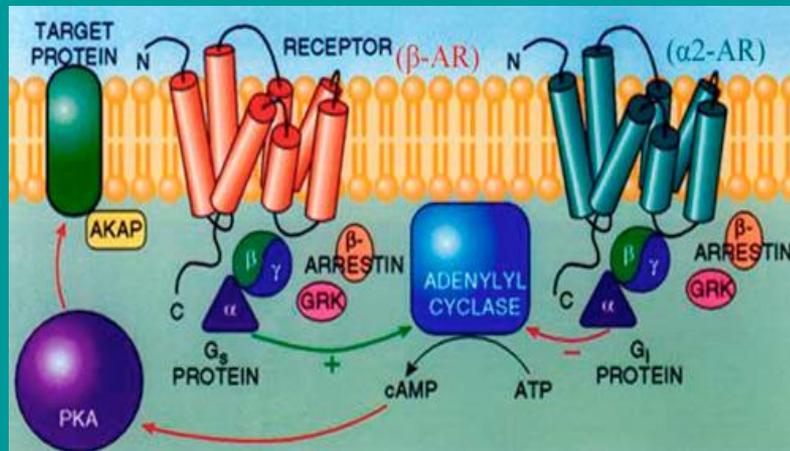
Enkefaline



Beta
Endorfina



Dinorfine



- L'inibizione della adenilato ciclastasi diminuisce il livello di AMP ciclico e quindi dell'attivazione cellulare
- L'attivazione dei canali K induce iperpolarizzazione (K esce dalla cellula)
- La soppressione di correnti di Ca^{++} , canali di tipo L postsinaptici, e di tipo N presinaptici inibisce il rilascio di neurotrasmettitori



- Tutti questi meccanismi contribuiscono all'inibizione della trasmissione degli stimoli nocicettivi in varie vie neuronali

Il neuropeptide nocicettina o orfanina FQ

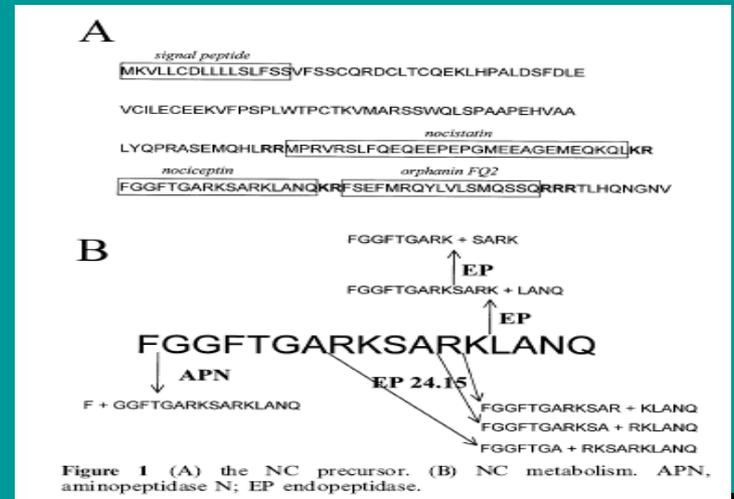
Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln

dinorfina A
 γ-endorfina
 met-enkefalina

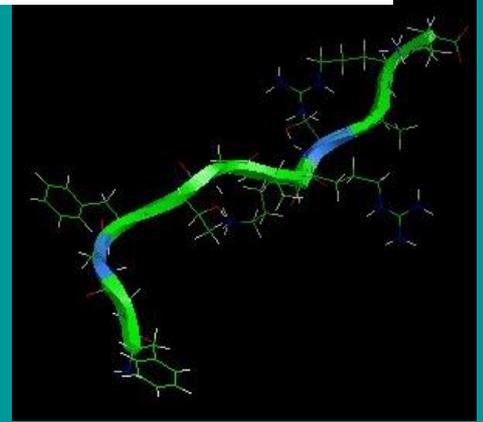
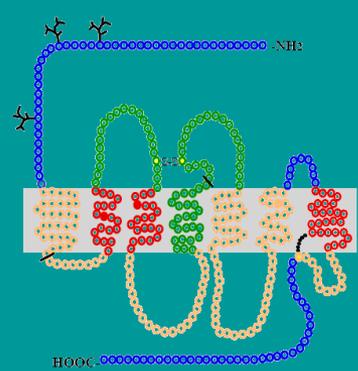
Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln
 Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu
 Tyr-Gly-Gly-Phe-Met

| | | |
|-------|---|--------------------------------|
| Mouse | MKILFCDVLLLSLLSSVFSSCPDCLTCQEKLHPAPDSFNLKTCILQCEEKVPFRPLWTVCTKVM | |
| Rat | MKILFCDVLLLSLLSSVFSSCPEDCLTCQERLHPAPGGSFNLKLCILQCEEKVPFRPLWTLCTKAM | |
| Human | MKVLLCDL LLLSLFSSVFSSCQRDCLTCQEKLHPALDSFDLEVCILECEEKVPFSPPLWTPCTKVM | |
| | | Nocistatin |
| Mouse | ASGSGQLSPADPELVSAALYQPKASEMQHLKRM PRVRS LVQVRDAEPGADAEPGADAE | 187 |
| Rat | ASDSEQLSPADPELTSAAALYQSKASEMQHLKRM PRVRS VVQARDAEPEA-----D | 181 |
| Human | ARSSWQLSPAAPPEHVAAALYQPRASEMQHLRRM PRVRS LFQEQEE-PEP----- | 176 |
| | | OFQ/N |
| Mouse | EVEQKQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFS EPMRQYLVL SMQSSQRRRTLHONGNV | 187 |
| Rat | EVEQKQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFS EPMRQYLVL SMQSSQRRRTLHONGNV | 181 |
| Human | EMEQKQLQKRFGGFTGARKSARKLANQKRFS EPMRQYLVL SMQSSQRRRTLHONGNV | 176 |
| | | OFQ2/NocII |
| | | OFQ/N₁₆₀₋₁₈₇ |

Fig. 3. Schematic of the prepro-OFQ/N gene.



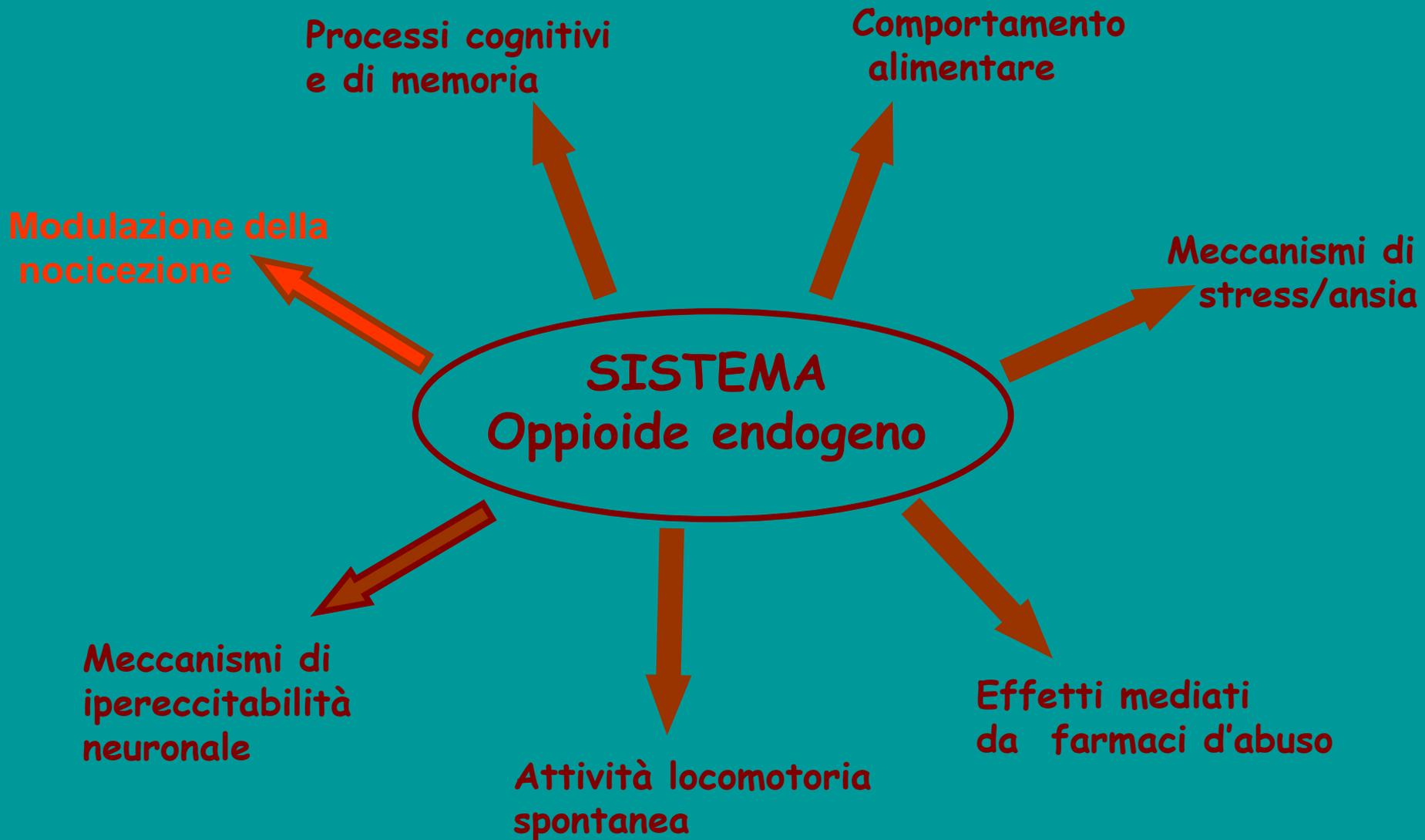
Il recettore NOP (ex-ORL-1, XOR1, LC132, KOR3)



Meunier J.C. et al., Nature, 377, 532, 1995

Reinscheid R. et al., Science, 270,792, 1995

RUOLO BIOLOGICO



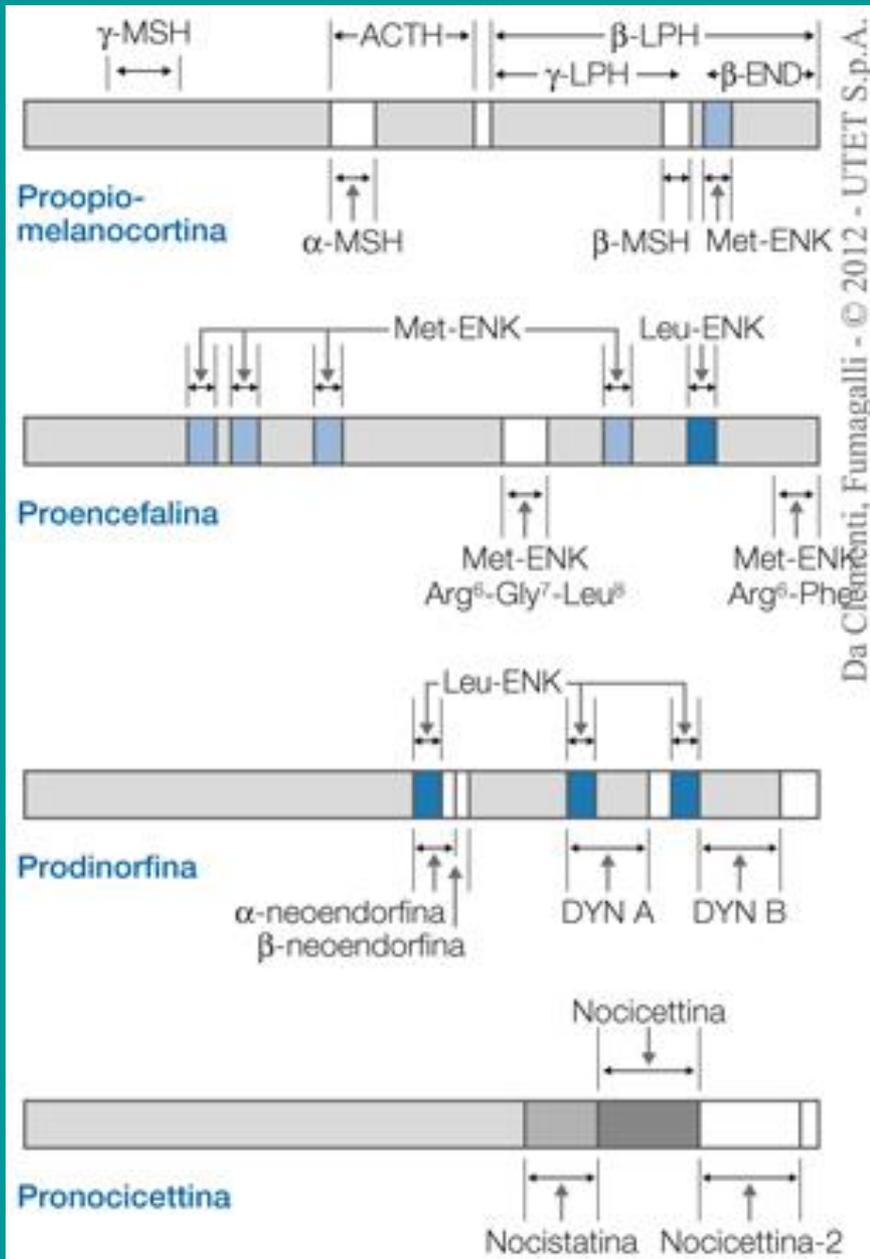


Figura 41.1 Rappresentazione schematica dei quattro precursori dei peptidi oppioidi: la proopiomelanocortina, la proencefalina, la prodinorfina e la pronocicettina. Coppie di amminoacidi basici lisina e arginina rappresentano i punti di attacco da parte di enzimi litici che tagliano i precursori fino a ottenere i peptidi biologicamente attivi.

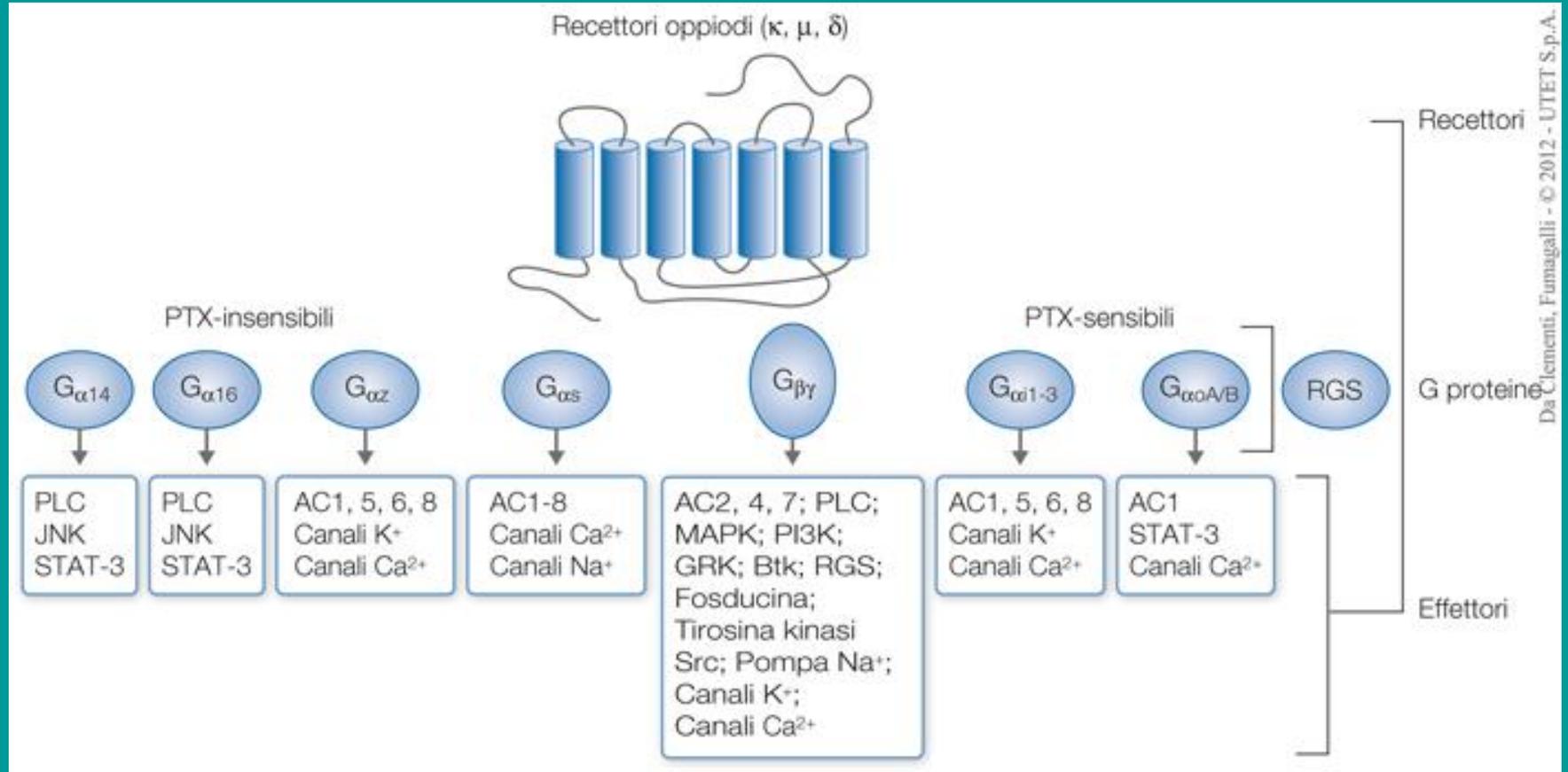


Figura 41.2 Differenti vie di trasduzione del segnale attivate dai recettori oppioidi. I recettori oppioidi sono accoppiati a proteine G sensibili o insensibili alla tossina della pertosse (PTX). L'attività GTPasica di $G_{\alpha i}$, $G_{\alpha o}$ e $G_{\alpha z}$ viene modulata da proteine RGS (*Regulators of G-protein Signalling*). AC: adenilato ciclasi; STAT-3: *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*; PLC: fosfolipasi C; MAPK: *Mitogen Activated Protein Kinase*; PI3K: *Phospho Inositide 3-Kinase*; GRK: *G-protein-coupled Protein Kinase*; Btk: *Burton's tyrosine kinase*; JNK: *c-Jun N-terminal Kinase*.

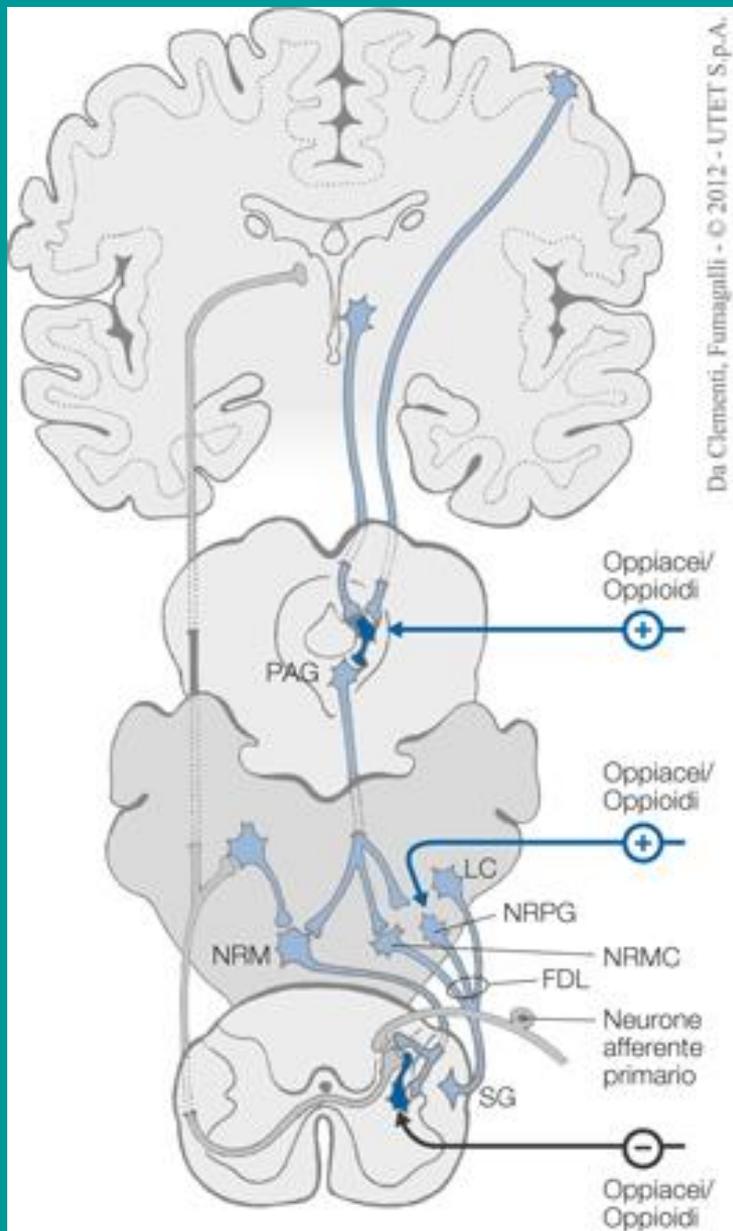


Figura 41.3 Illustrazione schematica delle vie inibitorie discendenti deputate al controllo delle afferenze nocicettive. I neuroni della sostanza grigia periacqueduttale (PAG) ricevono impulsi di controllo dalla corteccia (+/-), dal talamo (+) e dall'ipotalamo (+/-). I neuroni della PAG proiettano, nel midollo allungato, sul nucleo magno del rafe (NRM) e sul nucleo reticolare magnocellulare (NRM). Da qui originano fibre discendenti che giungono alla sostanza gelatinosa (SG) del midollo spinale attraverso il funicolo dorso-laterale (FDL). Altre proiezioni spinali rilevanti ai fini del controllo del dolore partono dal nucleo reticolare paraventricolare (NRPG), a sua volta controllato dalla PAG, e da gruppi di cellule noradrenergiche pontomidollari (locus coeruleus, LC). L'NRM riceve segnali di attivazione dall'adiacente NRPG che a sua volta viene attivato da impulsi portati attraverso i fasci ascendenti spino-talamici. I neuroni nocicettivi spinali subiscono quindi il controllo inibitorio delle vie discendenti per afferenza sia diretta sia per afferenza mediata da interneuroni della SG. In azzurro: sistema inibitore discendente; in grigio: neuroni ascendenti spino-talamici; in blu: interneuroni contenenti peptidi oppioidi.

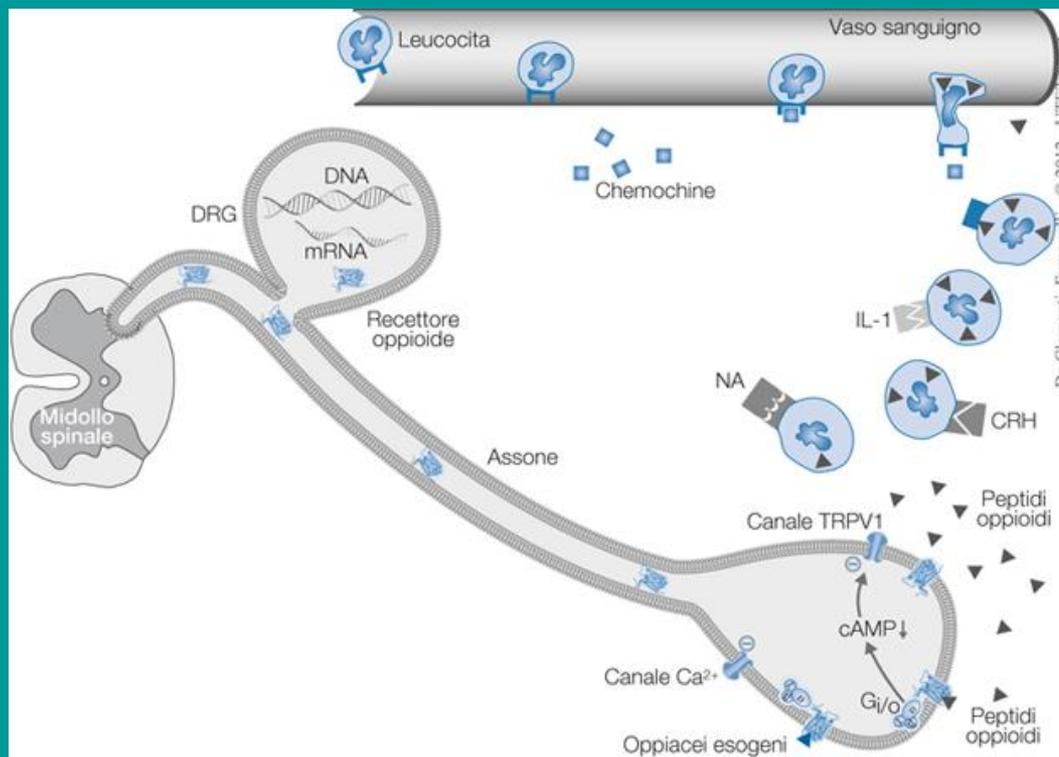
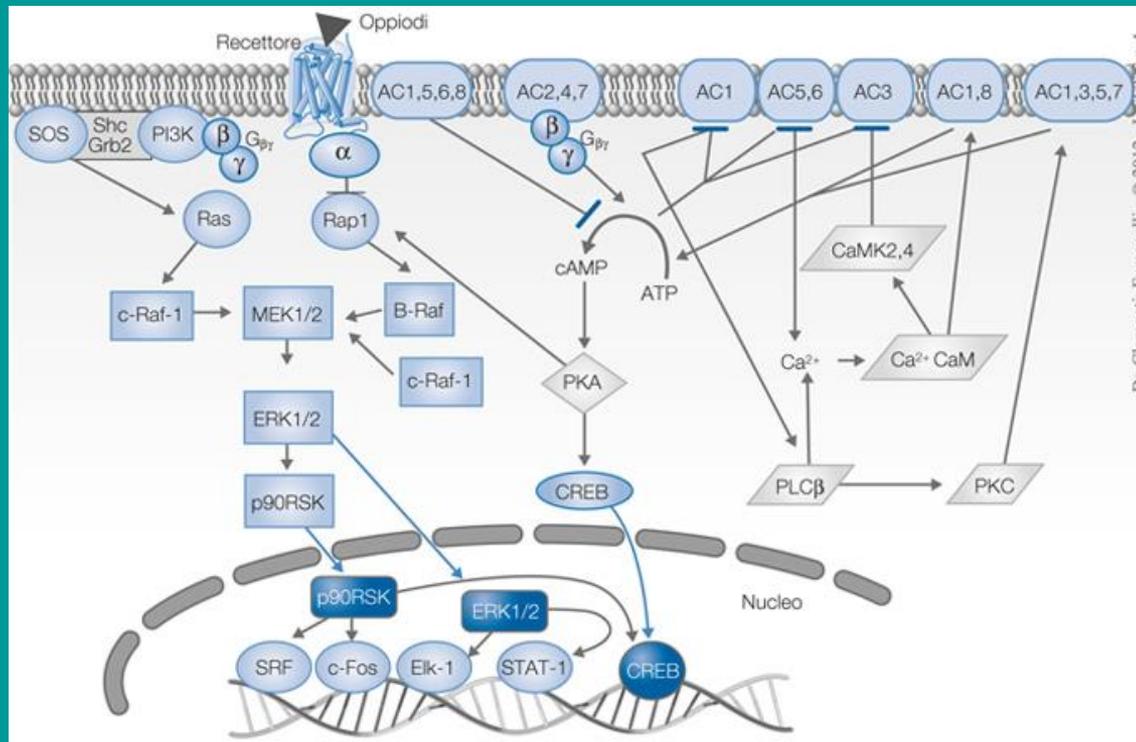


Figura 41.4 Rappresentazione schematica di strutture e molecole coinvolte nell'analgia periferica mediata dal sistema oppioidi. Leucociti contenenti peptidi oppioidi migrano dal vaso al tessuto infiammato dove liberano peptidi sotto lo stimolo di numerosi fattori quali chemochine, CRH e noradrenalina. Recettori oppioidi, sintetizzati nel ganglio delle radici dorsali e trasportati sia verso il corno posteriore del midollo spinale sia verso la terminazione periferica del neurone afferente primario, in condizioni di infiammazione aumentano la loro espressione e sono disponibili per il legame sia con i peptidi oppioidi liberati sia con molecole esogene applicate in periferia. (Da: Busch-Dienstfert M, Stein C. Brain Behav Immun 2010;24:683-94, modificata)



Da Clementi, Fumagalli - © 2012 - U.S.P.A.

Figura 41.5 Vie di trasduzione del segnale che collegano i recettori oppioidi ad AC (adenilato cilclasi), CREB (*cAMP Responsive Element-Binding protein*), MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) e differenti fattori di trascrizione. Le proteine G α i/osopprimono la PKA (*cAMP-dependent Protein Kinase*) inibendo AC1, 5, 6 e 8. Il complesso G $\beta\gamma$ stimola direttamente AC2, 4 e 7, ma inibisce AC1. Inoltre, G $\beta\gamma$ inibisce AC1, 3, 5 e 6 attraverso la mobilizzazione di Ca²⁺ mediata da fosfolipasi C β (PLC β) e attivazione di calmodulin-kinase 2,4 (CaMK2,4), ma stimola AC1 e 8 attraverso Ca²⁺/calmodulina attivata dalla PLC β e stimola AC1-3, 5 e 7 attraverso la PKC. L'attività di CREB è regolata dalla cascata delle MAPK attraverso β -Raf o c-Raf-1. I recettori oppioidi possono modulare la cascata delle MAPK e diversi eventi trascrizionali non solo attraverso le proteine G α i/o, ma anche attraverso G $\beta\gamma$ in seguito al reclutamento di PI3K (fosfatidilinositolo 3-kinasi), Shc, Grb2 e SOS.

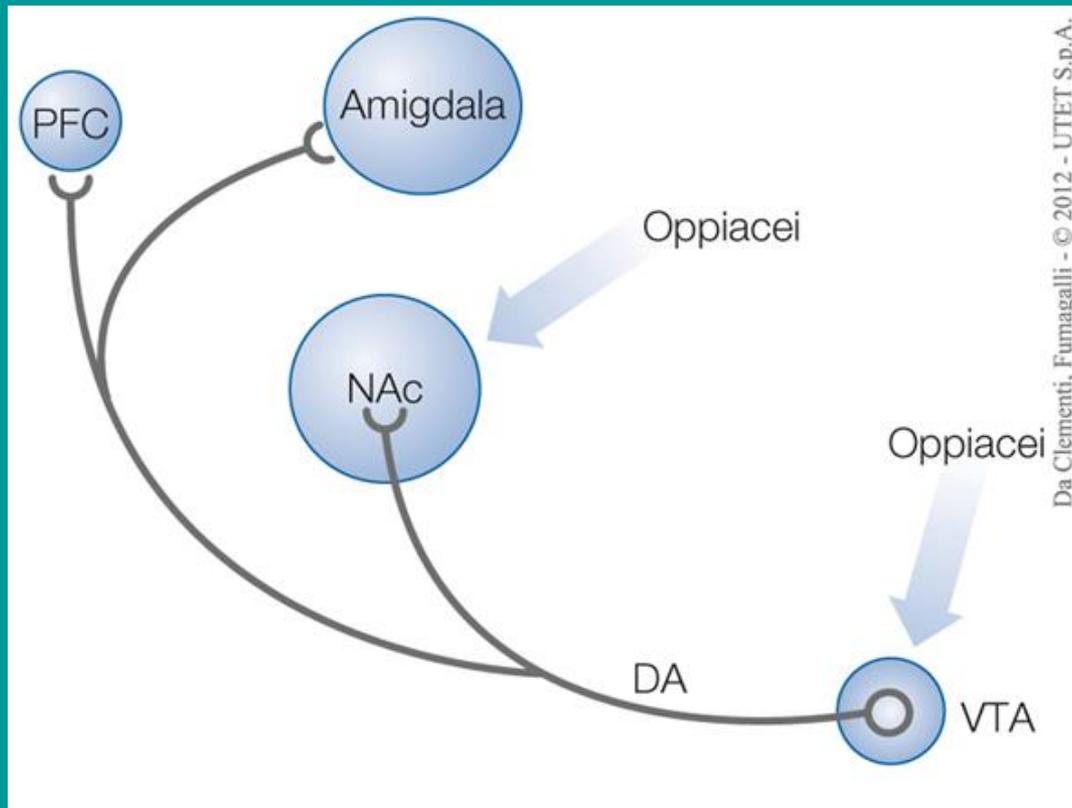
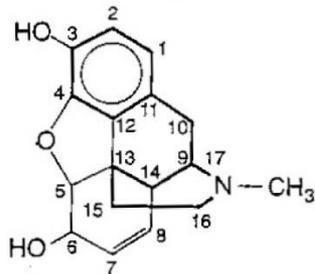


Figura 41.6 Schema del sistema mesolimbicocorticale. Neuroni di natura dopaminergica (DA) proiettano dall'area ventrale tegmentale (VTA) al nucleo accumbens (NAc), alla corteccia prefrontale (PFC) e all'amigdala.

TABELLA 41.1 Peptidi oppioidi endogeni, selettività recettoriale e sequenze amminoacidiche (codice a una lettera)*

| | | Recettori | Sequenza amminoacidica |
|---|-------------------------|------------------|---|
| Peptidi oppioidi endogeni | Met-enkefalina | δ μ | Y-G-G-F-M |
| | Leu-enkefalina | δ μ | Y-G-G-F-L |
| | β -Endorfina | μ δ | Y-G-G-F-M-Y-S-E-K-S-Q-T-P-L-V-T-L-F-K-N-A-I-I-K-N-A-Y-K-K-G-E |
| | Dinorfina A | κ μ | Y-G-G-F-L-R-R-I-R-P-K-L-K-W-D-N-Q |
| | Dinorfina B | κ | Y-G-G-F-L-R-R-Q-F-K-V-V-T |
| | α -Neoendorfina | κ | Y-G-G-F-L-R-K-Y-P-K |
| | β -Neoendorfina | κ | Y-G-G-F-L-R-K-Y-P |
| Nuovi peptidi endogeni correlati agli oppioidi | Nocicettina/Orfanina FQ | NOP | F-G-G-F-T-G-A-R-K-S-A-R-K-L-A-N-Q |
| | Endomorfina-1 | μ | Y-P-W-F-NH ₂ |
| | Endomorfina-2 | μ | Y-P-F-F-NH ₂ |

*Il requisito necessario per il legame ai recettori oppioidi consiste nella presenza dell'amminoacido tirosina (Y) in posizione 1, seguita a distanza sterica critica (posizione 3 o 4) dalla fenilalanina (F). La nocicettina manca della Y in posizione 1 e non si lega ai recettori oppioidi classici.



| NOME | POSIZIONE | | | |
|--------------|---------------------|---------------------|--|-------|
| | 3 | 6 | 17 | |
| Morfina | —OH | —OH | —CH ₃ | altra |
| Eroina | —OCOCH ₃ | —OCOCH ₃ | —CH ₃ | |
| Idromorfone | —OH | =O | —CH ₃ | a |
| Ossimorfone | —OH | =O | —CH ₃ | a, b |
| Levorfanolo | —OH | —H | —CH ₃ | a, c |
| Codeina | —OCH ₃ | —OH | —CH ₃ | |
| Idrocodone | —OCH ₃ | =O | —CH ₃ | a |
| Ossicodone | —OCH ₃ | =O | —CH ₃ | |
| Naloxone | —OH | =O | —CH ₂ CH=CH ₂ | a, b |
| Naltrexone | —OH | =O | —CH ₂ —  | a, b |
| Buprenorfina | —OH | —OCH ₃ | —CH ₂ —  | a, d |

a: legame singolo tra C7 e C8

b: OH su C14

c: manca l'atomo di O tra C4 e C5

d: ponte endoetenico tra C6 e C14; 1-OH-1,2,2-trimetilpropile su C7.

Figura 41.1.1 Struttura di agonisti e antagonisti oppiacei correlati alla morfina.

Tabella 41.1.1 Attività e selettività di alcuni oppiacei nei confronti dei differenti recettori oppioidi

| Oppiacei | Recettori | | |
|--------------|-----------|----------|----------|
| | μ | δ | κ |
| Morfina | +++ | | + |
| Metadone | +++ | | |
| Etorfina | +++ | +++ | +++ |
| Levorfanolo | +++ | | |
| Fentanil | +++ | | |
| Sufentanil | +++ | + | + |
| Butorfanolo | A.P. | | +++ |
| Buprenorfina | A.P. | | -- |
| Naloxone | --- | - | -- |
| Pentazocina | A.P. | | ++ |
| Bremazocina | +++ | ++ | +++ |

+: attività agonista; -: attività antagonista; A.P.: agonista parziale; il numero dei simboli è un indicatore della potenza ottenuta da studi in vivo

Approfondimento 41.1

Tabella 41.1.1

Attività e selettività di alcuni oppiacei nei confronti dei differenti recettori oppioidi.

Tabella 41.3.1 Effetti prodotti dall'attivazione dei recettori oppioidi e loro localizzazione nel SNC

| Effetti | Tipo recettoriale | Localizzazione recettori |
|---|--------------------------|--|
| Analgesia spinale sopraspinale | μ, κ, δ | Lamine I e II del midollo spinale, sostanza grigia periacqueduttale, nuclei talamici mediali, nucleo talamico intralaminare, nuclei del rafe |
| Inibizione della tosse Ipotensione ortostatica Inibizione della secrezione gastrica | μ | Nucleo del tratto solitario, nucleo commissurale, nucleo ambiguo, locus coeruleus, nuclei ipotalamici |
| Depressione respiratoria | μ | Sostanza reticolare pontobulbare, nucleo del tratto solitario, nucleo motore dorsale del vago |
| Nausea e vomito | μ, δ | Area postrema (CTZ) |
| Miosi | μ, δ | Nucleo di Edinger-Westphal, area pretettale, collicolo superiore |
| Inibizione della secrezione di vasopressina | μ | Ipotalamo, ipofisi posteriore |
| Altri effetti endocrini | μ, δ | Infundibolo ipotalamico, eminenza mediana, sistema ottico accessorio, amigdala |
| Comportamento, affettività, memoria | μ, κ, δ | Amigdala, sistema settoippocampale, corteccia, talamo mediale, VTA, nucleo accumbens |
| Attività motoria | μ | |
| Catalessia Acinesia | μ | Nucleo accumbens |
| Rigidità muscolare | μ | Nucleo caudato |