- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.217.7 Tue, 15 Jul 2025, 21:15:14

Nitroderivati e ossido nitrico

Evasio Pasini, Ermanno Eleuteri*

*Laboratorio di Fisiopatologia Cardiovascolare, Fondazione Salvatore Maugeri, IRCCS, Centro Medico, Gussago (BS), *Divisione di Cardiologia, Fondazione Salvatore Maugeri, Clinica del Lavoro e della Riabilitazione, IRCCS, Istituto Scientifico, Veruno (NO)*

Key words:
Nitric oxide; Nitrovasodilators; Organic nitrates.

Nitrovasodilators are pro-drugs able to release nitric oxide. They have been used in clinical practice for about 100 years and they are still widely used in the treatment of several diseases such as angina pectoris, acute pulmonary edema, and hypertensive crises.

This article discusses the pharmacological differences of nitrovasodilators, describes the biochemical pathway of nitric oxide formation, and suggests some criteria to achieve the best therapeutic results.

(Ital Heart J Suppl 2000; 1 (9): 1160-1163)

Ricevuto il 21 luglio 2000; accettato il 3 agosto 2000.

Per la corrispondenza:

Dr. Evasio Pasini

Laboratorio di Fisiopatologia Cardiovascolare Fondazione Salvatore Maugeri, IRCCS Via Pinidolo, 23 25064 Gussago (BS)

Riflessioni introduttive

L'uso dei nitroderivati come farmaci antianginosi è noto da più di un secolo[1]. Le prime osservazioni sperimentali hanno suggerito che i nitroderivati svolgevano la loro azione farmacologica vasodilatando il distretto venoso ed in parte il distretto arterioso (incluse le coronarie). Facendo ciò essi riducevano il lavoro del cuore e facilitavano l'apporto ematico al cardiomiocita.

Le prime osservazioni di farmacocinetica e farmacodinamica evidenziarono che la nitroglicerina fosse metabolizzata producendo nitriti (NO_2^-). Tuttavia nel 1940 Krantz et al.[2] dimostrarono che le quantità di NO_2^- presenti nel sangue dopo somministrazione di nitroglicerina non erano sufficienti a spiegare l'importante azione vasodilatante esplicata dalla nitroglicerina stessa.

Solo quasi 40 anni dopo (nel 1977) si scoprì che i nitroderivati incrementavano in modo dose-dipendente la concentrazione di guanosinmonofosfato ciclico nel citoplasma di cellule muscolari lisce e che questo incremento correlava con il loro rilasciamento[3]. Mancava però ancora una risposta. Attraverso quale/quali molecola/e i nitroderivati agivano?

La risposta a questa domanda è stata fornita solo di recente. Oggi si sa che i nitroderivati, sebbene classe di molecole chimicamente eterogenee, sono accomunate dal fatto che esse possono rilasciare ossido nitrico (NO).

L'ossido nitrico e le ossido nitrico-sintetasi

L'NO è una molecola semplice estremamente reattiva, a basso ingombro molecolare, altamente diffusibile (è un gas). In condizioni fisiologiche l'NO è prodotto da diverse cellule del nostro organismo (endoteliali, globuli bianchi, cervello e cervelletto, miocita, ecc.).

Tra le azioni che questa molecola esplica è di sicuro interesse per il cardiologo la marcata azione vasodilatante e antiaggregante piastrinica.

Le cellule hanno degli apparati enzimatici specializzati per produrre NO. Tali enzimi sono le NO-sintetasi (NOS). Esistono almeno due isoforme di NOS costitutive: la forma endoteliale e la forma neuronale. Esse possono essere co-espresse in diversa misura nelle cellule che producono NO. Le NOS hanno forma complessa simile a quella del citocromo P450. Esse hanno un gruppo *eme* con un dominio ossidante ed uno riducente e per funzionare hanno bisogno di diversi co-fattori in grado di regolare lo stato *redox* della molecola: tra questi co-fattori si ricordano la flavina mono/dinucleotide, la nicotinamide adenina dinucleotide fosfato e la calmodulina. Tali enzimi sintetizzano NO partendo dall'aminoacido L-arginina[4].

La complessità del sistema delle NOS spiega come in molte patologie quali l'aterosclerosi, l'ipertensione arteriosa e lo scompenso cardiaco, sia presente una disfunzione endoteliale caratterizzata da ridotta sintesi di NO[5].

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.217.7 Tue, 15 Jul 2025, 21:15:14

Tuttavia, come già sottolineato, la farmacologia moderna ci mette a disposizione molecole quali i nitroderivati in grado di riequilibrare in modo esogeno le quantità di NO necessarie per mantenere l'omeostasi circolatoria.

Vediamo ora come l'NO si forma dai vari nitroderivati.

Nitroderivati e ossido nitrico

I nitroderivati sono una classe eterogenea di composti. Tuttavia essi hanno in comune la loro azione farmacodinamica che si esplica attraverso la produzione di NO.

Per molto tempo si è pensato che solo il fegato svolgesse un ruolo importante nel metabolismo dei nitroderivati. Oggi si sa che i nitroderivati possono essere metabolizzati dai reni, dai polmoni, dalla mucosa intestinale, dall'endotelio e dalle cellule muscolari lisce vasali[6-9].

Dal punto di vista metabolico possiamo dividere i nitroderivati in due classi: 1) i nitroderivati che per rilasciare NO hanno bisogno di specifici co-fattori, 2) i nitroderivati che per rilasciare NO non hanno bisogno di specifici co-fattori (Fig. 1).

Da quanto detto se ne deduce che le vie metaboliche endocellulari dei vari nitroderivati sono sostanzialmente diverse. La capacità di produrre NO, e quindi di svolgere l'azione farmacologica, dipenderà di fatto non solo dalla natura della molecola ma in gran parte anche dalla disponibilità/azione dei vari co-fattori endocellulari.

Le vie biochimiche attraverso le quali i nitroderivati liberano NO sono illustrate nella figura 1.

Nitrati organici. I nitrati organici sono le molecole più utilizzate nella pratica clinica. Tra questi si ricordano: la nitroglicerina, l'isosorbide mononitrato e l'isosorbide dinitrato. Tutte queste molecole, pur avendo diversa affinità per i lipidi (quindi diversa diffusione all'interno della cellula), hanno uguale profilo farmacodinamico: hanno bisogno di specifici co-fattori per rilasciare NO. Infatti, sia la nitroglicerina che l'isosorbide mono/dinitrato devono reagire con gruppi tiolici SH[10]. Tuttavia recenti osservazioni suggeriscono che questa reazione non enzimatica sia di fatto la seconda reazione. La prima reazione è invece enzimatica e verosimilmente coinvolge gli enzimi glutatione-S-transferasi e citocromo P450[11-13]. È interessante notare che la produzione di NO da questi composti è lineare con la loro concentrazione ed ha un andamento sigmoide rispetto alla concentrazione di tioli. Tale osservazione suggerisce la stretta dipendenza della reazione di produzione dell'NO dai gruppi SH. In altre parole i nitrati organici possono liberare NO (e quindi svolgere la loro azione farmacologica) esclusivamente in presenza di gruppi tiolici e di enzimi con sito attivo libero. Se ne deduce che i dosaggi ottimali di nitrati organici saranno i dosaggi che al meglio utilizzeranno la disponibilità individuale delle singole cellule sia dei gruppi SH sia degli enzimi coinvolti nei loro processi metabolici.

Tuttavia dalla figura 1 si evince che non tutte le molecole con gruppi SH sono coinvolte nel processo di produzione di NO dai nitrati organici. In questo contesto solo molecole quali l'aminoacido cisteina e la N-acetil cisteina prendono parte in modo attivo alla reazione. Questa osservazione rinforza ulteriormente la nostra precedente affermazione: il massimo effetto farmacologico dei nitrati organici si ottiene quando esiste un equilibrio endocellulare ottimale tra farmaco e cofattori specifici. Tra le linee cellulari in grado di metabolizzare i nitrati organici come descritto in precedenza si deve ricordare le cellule muscolari lisce vasali. Esse infatti producono NO dai nitrati organici in modo molto dipendente dalla concentrazione di cisteina[8].

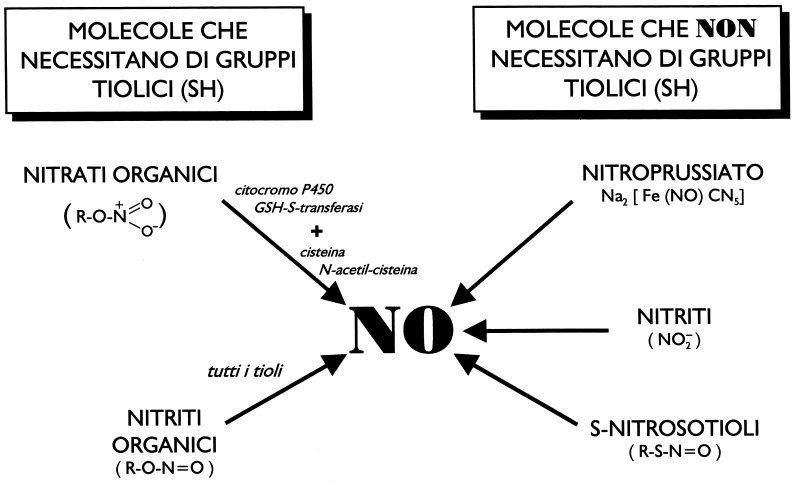

Figura 1. *L'ossido nitrico (NO) può originare dai nitroderivati con o senza l'intervento di molecole dotate di gruppi tiolici (SH). È interessante notare che i nitrati organici (che rappresentano le molecole più utilizzate nella pratica clinica) necessitano di specifici enzimi e molecole per poter produrre NO e quindi esercitare la loro azione farmacologica. Tali specifici enzimi e molecole sono presenti in concentrazioni limitate nelle cellule. Questo fa sì che la migliore azione terapeutica dei nitrati si esplichi identificando il dosaggio ottimale del farmaco.*

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.217.7 Tue, 15 Jul 2025, 21:15:14

Nitriti organici. Tra essi si ricorda la S-nitroso-N-acetil-DL-penicillamina. Anche i nitriti organici necessitano di co-fattori per produrre NO. Tuttavia, al contrario dei nitrati organici i nitriti non hanno bisogno di specifici tioli come co-fattori. Qualsiasi molecola che possiede gruppi SH può essere utilizzata nella reazione di produzione di S-nitrosotioli che sono le molecole intermedie dalle quali si libera poi NO.

I nitriti organici non sono usati nella pratica clinica. Infatti sono molecole costose e con stabilità di molecola in acqua più bassa dei nitrati. Di fatto la S-nitroso-N-acetil-DL-penicillamina è usata esclusivamente nei laboratori di ricerca come donatore puro di NO.

Sodio nitroprussiato. Il sodio nitroprussiato per la sua spiccata azione vasodilatante è utilizzato in clinica in condizioni di urgenza ed in ambiente protetto. Tale molecola è esclusivamente usata in soluzione ed in queste condizioni è sensibile alla temperatura ed alla luce. Essa rilascia in modo spontaneo NO in modo non lineare ed indipendentemente dal pH. Il meccanismo attraverso il quale il sodio nitroprussiato rilascia NO non è stato ancora identificato. È solo noto che esso non necessita di gruppi tiolici[14]. In questo contesto è interessante notare che *in vitro* si producono scarse quantità di NO dal sodio nitroprussiato mentre *in vivo* il sodio nitroprussiato ha una potente azione farmacologica. Questa osservazione suggerisce che *in vivo* il sodio nitroprussiato verosimilmente interferisce con altre vie metaboliche correlate all'NO e/o che può agire indipendentemente dalla sintesi di NO.

Altri nitroderivati. Tra questi si ricordano i nitrati/nitriti inorganici normalmente presenti nel sangue. In condizioni normali essi non producono NO. Tuttavia in particolari condizioni quali l'acidosi si può avere produzione di NO da tali molecole. Questo avviene attraverso una via puramente chimica che non necessita né di enzimi né di gruppi tiolici[15].

Come deve essere il nitrocomposto ideale?

Tutt'oggi i nitroderivati usati nella pratica clinica sono di fatto i nitrati organici ed il sodio nitroprussiato. Costantemente vengono proposte nuove formulazioni e/o vie di somministrazione.

Di fatto la ricerca in questo campo propone di continuo nuovi spunti e nuove informazioni che ci aiutano a capire sempre meglio come usare questi farmaci. Tuttavia, alla luce delle attuali conoscenze biochimiche, ci sentiamo di formulare alcuni suggerimenti indipendenti dalla via di somministrazione del nitroderivato.

Abbiamo visto quanto sia complessa la produzione di NO dai nitroderivati. Sono molte le molecole e le vie biochimiche che prendono parte a questa trasformazione. Spesso queste si influenzano a vicenda ed in alcuni casi possono addirittura ridurre se non rendere vani gli effetti della somministrazione del farmaco.

Risulta quindi evidente che quando si usano nitroderivati la terapia deve essere estremamente personalizzata con una molecola in grado di fornire la migliore risposta clinica al minor dosaggio. Il dosaggio terapeutico deve essere aggiustato da individuo ad individuo in base alla risposta clinica che può variare da persona a persona sia all'inizio della terapia sia nel tempo. Un recente articolo ha infatti evidenziato come una percentuale che va dal 20 al 50% di pazienti ischemici in terapia con nitrati organici ha un peggioramento dei sintomi con il passare del tempo. Tale situazione richiede un aggiustamento del dosaggio dei nitrati[16].

In questo articolo sono state in parte presentate e discusse le basi molecolari che supportano le nostre affermazioni.

Riteniamo pertanto che il nitroderivato ideale sia quello che consenta di avere il migliore risultato terapeutico su ogni singolo paziente/persona. Questo si ottiene usando il nitroderivato che permetta la migliore gestione del dosaggio somministrabile intesa come adeguata copertura clinica al più basso dosaggio possibile.

Riassunto

I nitroderivati vengono usati nella pratica clinica da più di 100 anni. Di recente è stato dimostrato che essi attuano la loro azione farmacologica rilasciando ossido nitrico.

Questo articolo discute le differenze farmacologiche e biochimiche tra i vari nitroderivati, illustra le vie biochimiche cellulari che portano alla sintesi di ossido nitrico e propone alcuni criteri per identificare la terapia con nitroderivati in grado di ottenere il miglior effetto terapeutico personalizzato su ogni singolo paziente.

Parole chiave: Ossido nitrico; Nitroderivati; Nitrati organici.

Bibliografia

1. Murrell W. Nitroglycerin as a remedy for angina pectoris. Lancet 1879; 1: 80.
2. Krantz JC, Carr CJ, Forman S, Cone M. Alkyl nitrates: a contribution to the mechanism of action of organic nitrates. J Pharmacol Exp Ther 1940; 70: 323-7.
3. Katsuki S, Arnold W, Mittal C, Murad F. Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. J Cyclic Nucleotide Res 1977; 3: 23-5.
4. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. J R Soc Med 1999; 92: 164-9.
5. Puddu P. Strategie terapeutiche nel trattamento della disfunzione endoteliale: fatti e prospettive. Ital Heart J Suppl 2000; 1: 212-21.
6. Blei AT, Gottstein J, Fung HL. Role of the liver in the disposition of intravenous nitroglycerin in the rat. Biochem Pharmacol 1984; 33: 2681-6.
7. Fung HL, Sutton SC, Kamiya A. Blood vessel uptake and

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.217.7 Tue, 15 Jul 2025, 21:15:14

metabolism of organic nitrates in the rat. J Pharmacol Exp Ther 1984; 228: 334-41.
8. Feelisch M, Kelm M. Biotransformation of organic nitrates to nitric oxide by cultured vascular smooth muscle and endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1991; 180: 286-93.
9. Salvemini D, Mollace V, Pistelli A, Anggard E, Vane J. Metabolism of glyceryl trinitrate to nitric oxide by endothelial cells and smooth muscle cells and its induction by Escherichia coli lipopolysaccharide. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 982-9.
10. Feelisch M, Noack E. Correlation between nitric oxide formation during degradation of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. Eur J Pharmacol 1987; 139: 19-30.
11. Lau DTW, Chan EK, Benet LZ. Glutathione S-transferase-mediated metabolism of glyceryl trinitrate in subcellular fractions of bovine coronary arteries. Pharm Res 1992; 9: 1460-4.
12. Hill KE, Hunt RW, Jones R, Hoover RL, Burk RF. Metabolism of nitroglycerin by smooth muscle cells. Involvement of glutathione and glutathione-S-transferase. Biochem Pharmacol 1992; 43: 561-6.
13. Servent D, Delaforge M, Ducrocq C, Mansuy D, Lenfant M. Nitric oxide formation during microsomal hepatic denitration of glyceryl trinitrate: involvement of cytochrome P-450. Biochem Biophys Res Commun 1989; 163: 1210-6.
14. Leeuwenkamp OR, Van Bennekom WP, Van Der Mark EJ, Bult A. Nitroprusside, antihypertensive drug and analytical reagent. Pharm Weekbl 1984; 6: 129-40.
15. Pasini E, Bachetti T, Cremona G, et al. Non-enzymatic production of nitric oxide: does it occur in vivo? (abstr) J Mol Cell Cardiol 1998; 30: A46.
16. Brown RE, Kendal MJ, Halpem MT. Cost analysis of once-daily ISMN versus twice-daily ISMN or transdermal patch nitrate prophylaxis. J Clin Pharm Ther 1997; 22: 67-76.