

UE Initiation à la connaissance des médicaments

Cours 2 - Cibles et mécanismes d'action

Catherine MARCHAND-LEROUX
Rosa Maria BRUNO
Jean-Jacques KILADJIAN
Jacques CALLEBERT

Chapitre 1 : les différentes cibles moléculaires

1-1- Introduction



Paul Ehrlich
(1845-1915)

Prix Nobel 1908 (co-lauréat avec I Metchnikov)

« *Corpora non agunt nisi fixata* »

« Les substances n'agissent pas si elles ne sont pas fixées »

L'effet d'un médicament est la conséquence de sa liaison avec une cible moléculaire

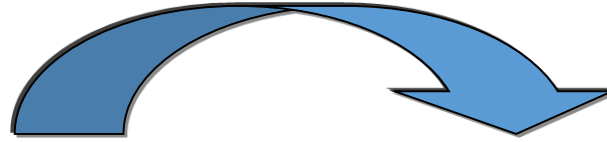
Médicament



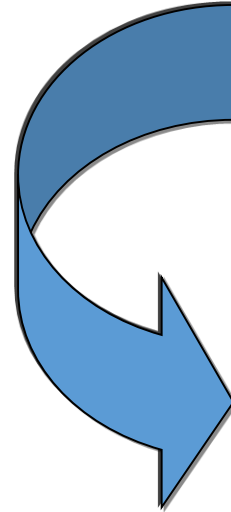
Reconnaissance
Affinité

Cible

Substance
(ex médicament)

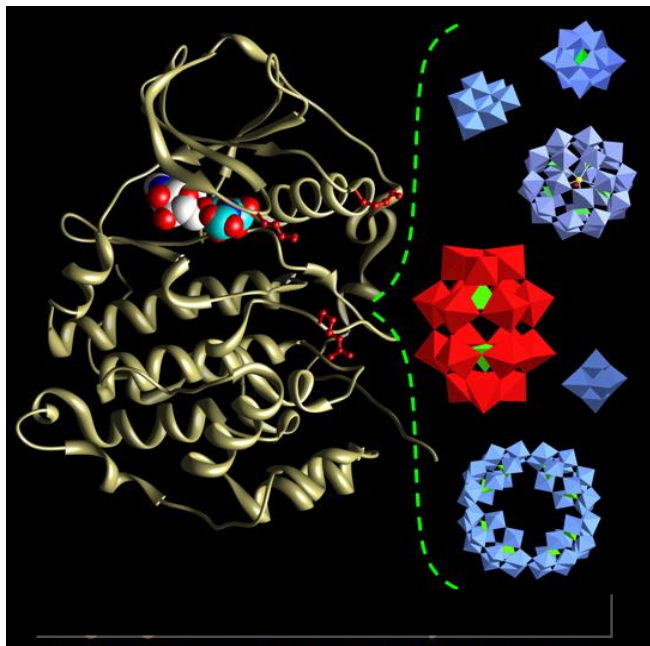


Cible moléculaire



Voie de signalisation

Réponse cellulaire



> 2800 substances actives

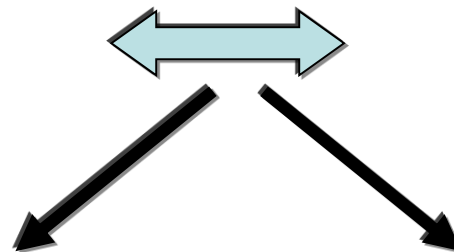
300 cibles

plusieurs médicaments

même cible

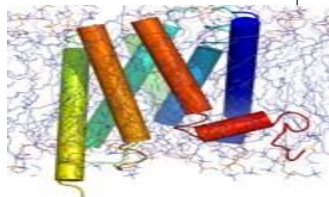
Effets identiques

Effets opposés

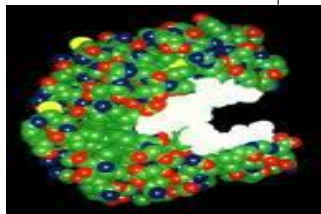


Les principales cibles moléculaires:

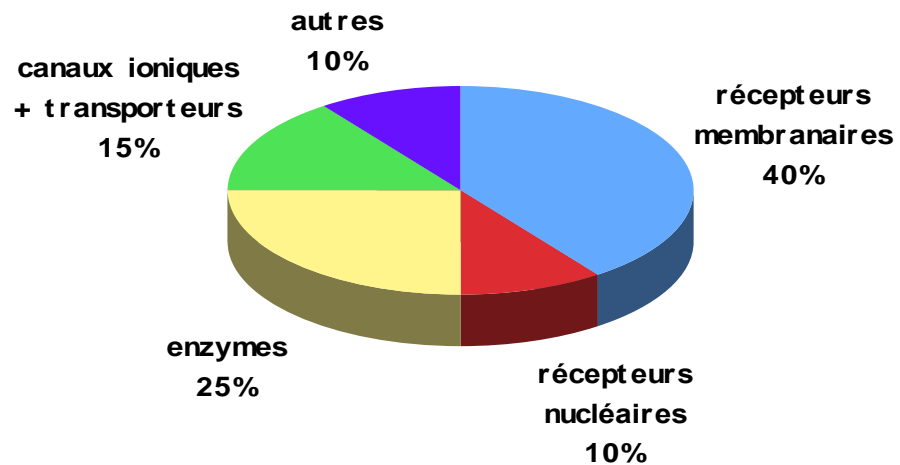
Les récepteurs



Les enzymes



Les canaux ioniques



Chapitre 1 : les différentes cibles moléculaires

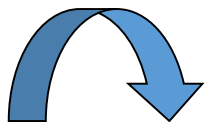
1-2- Récepteurs, agonistes, antagonistes

Récepteur :

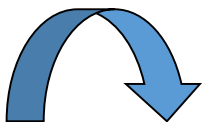
Protéine située à la surface des cellules (récepteur membranaire) ou dans le noyau (récepteur nucléaire)

Fixe une molécule spécifique (ex: neuromédiateurs, hormones, médicaments)

Liaison médiateur-récepteur

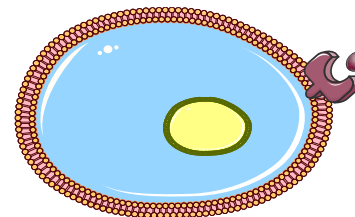


activation du récepteur

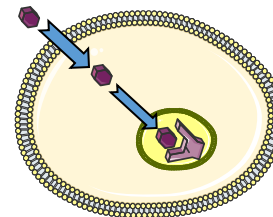


voies de signalisation

réponse cellulaire



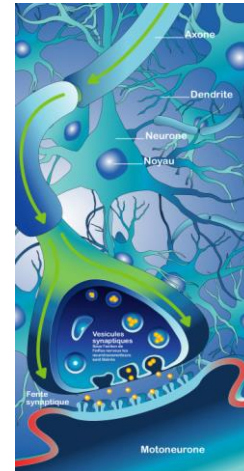
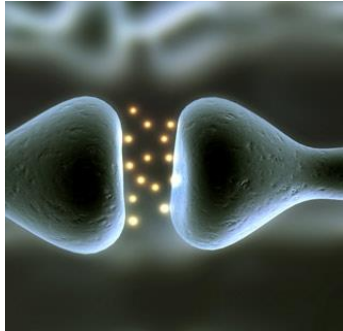
Récepteur membranaire



Récepteur nucléaire

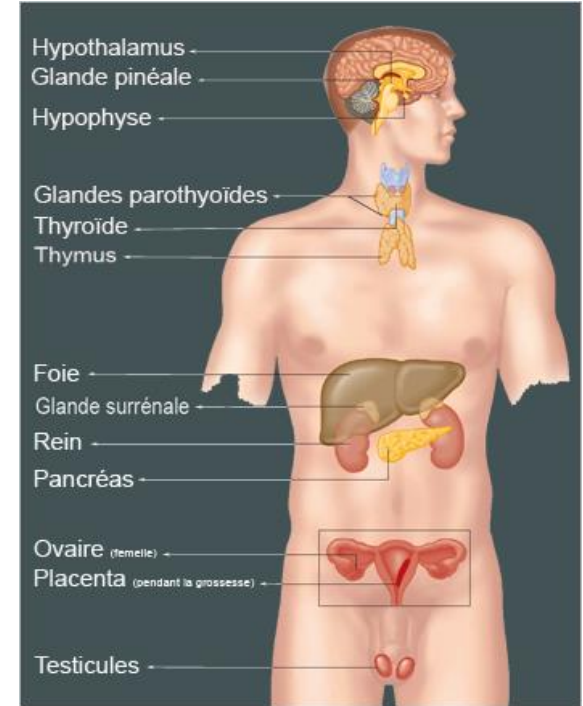
Neuromédiateurs ou neurotransmetteurs

- Secrétés par les neurones
- Durée d'action courte et à courte distance du lieu de sécrétion
- Exemples: Noradrénaline, Acétylcholine, Dopamine, Sérotonine, Histamine, Glutamate, GABA, Neuropeptides



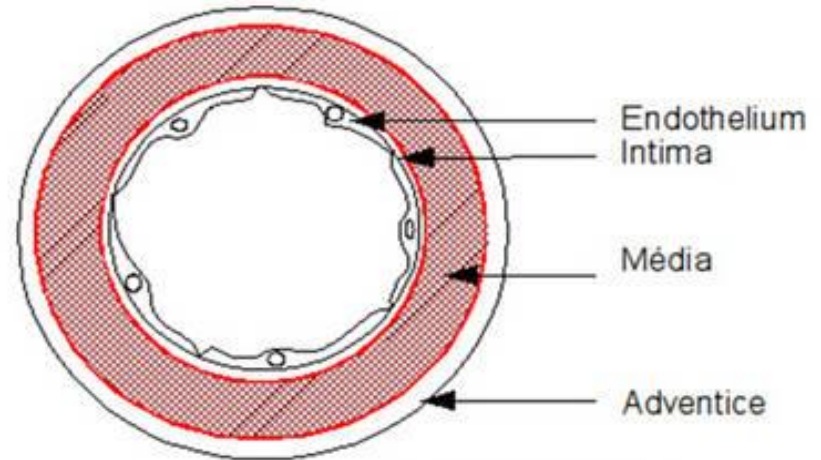
Hormones

- Secrétées par des cellules endocrines ou dans le compartiment sanguin
- Circulantes
- Durée d'action longue et à distance du lieu de sécrétion
- Exemples: adrénaline, hormone thyroïdiennes....



Hormones locales ou autacoïdes

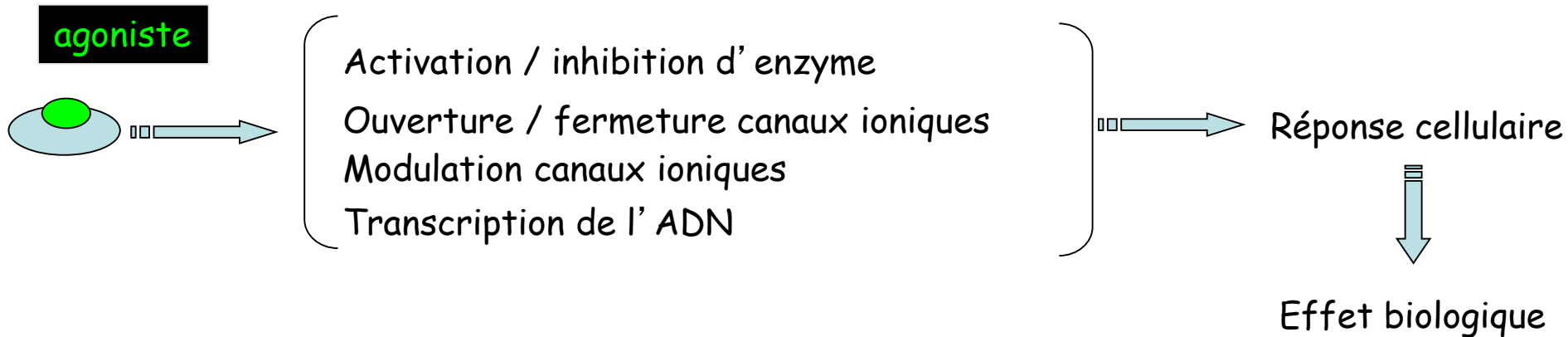
- Secrétées par des cellules non neuronales
- Durée d'action courte et à courte distance du lieu de sécrétion
- Exemples: prostaglandines libérées par endothélium des vaisseaux et qui agissent sur muscle lisse vasculaire



Ligand : - Toute molécule capable de se fixer à un récepteur

Agoniste naturel

- Agoniste **endogène**
- Liaison au récepteur
- Stimulation du récepteur
- Effet biologique

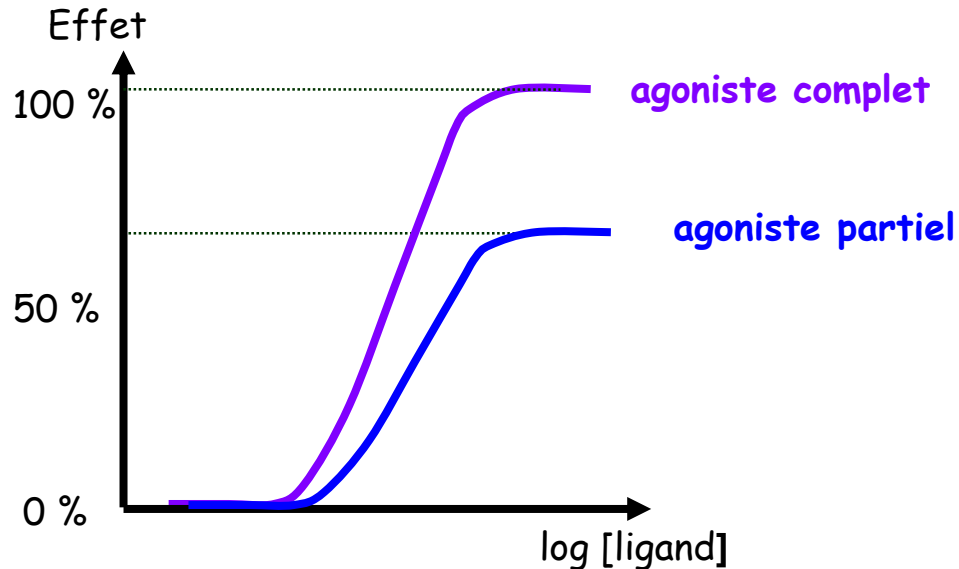


Agoniste complet

- liaison au récepteur
- stimulation du récepteur
- amplitude effet biologique
- = amplitude agoniste naturel

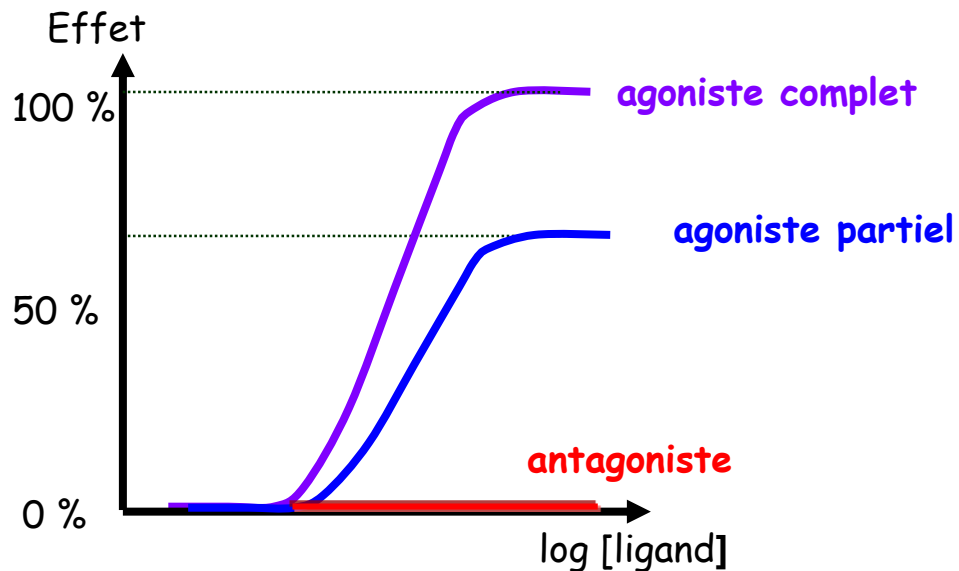
Agoniste partiel

- liaison au récepteur
- stimulation du récepteur
- amplitude effet biologique
- < amplitude agoniste naturel

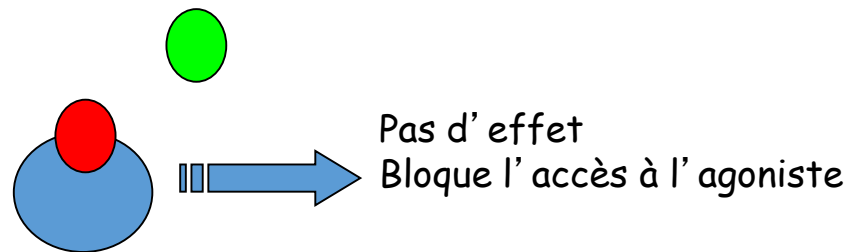


Antagoniste neutre

- liaison au récepteur
- pas de stimulation du récepteur
- pas d'effet biologique



antagoniste



- s'oppose à la liaison de l'agoniste
- diminution de la réponse induite par l'agoniste

Agoniste inverse

-liaison au récepteur - stimulation du récepteur

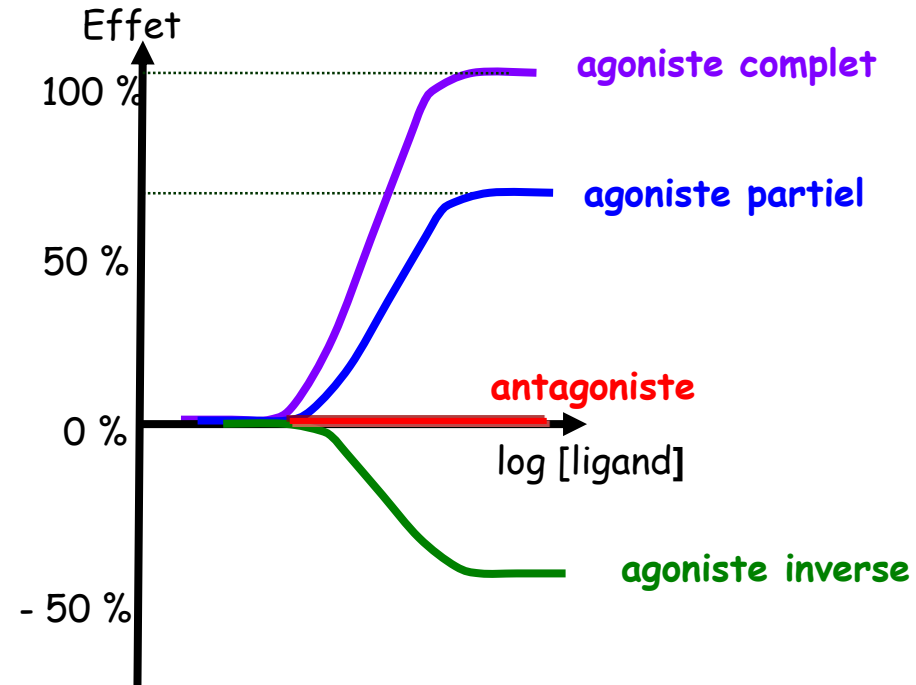
-effet **opposé** à celui de l'agoniste naturel

-la notion d'agoniste inverse fait intervenir la notion de récepteur ayant une activité constitutive, c.à.d. une activité du récepteur en absence de liaison avec l'agoniste

-l'agoniste inverse entraîne un changement de configuration du récepteur avec pour conséquence une diminution l'activité constitutive

→ réponse biologique inverse

-ex: certains récepteurs à l'histamine ou au GABA



Effet **opposé** à celui de l'agoniste naturel

- Ex : **certaines benzodiazépines**

BZD agoniste :

anxiolytique , anticonvulsivante ,
myorelaxante

BZD agoniste inverse:

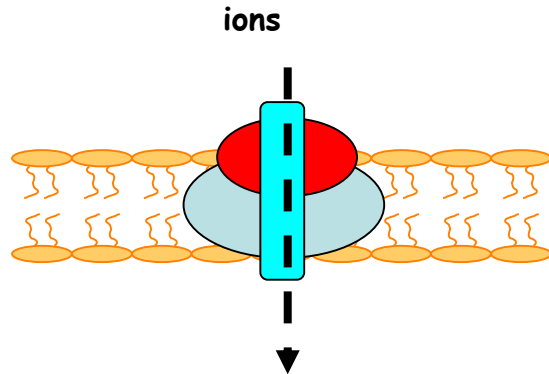
anxiogène , convulsivante ,
contracturante

Chapitre 1 : les différentes cibles moléculaires

1-3- Canaux ioniques, activateurs, bloqueurs

Canaux ioniques : perméabilité ionique sélective

Canal dépendant de la stimulation d'un récepteur



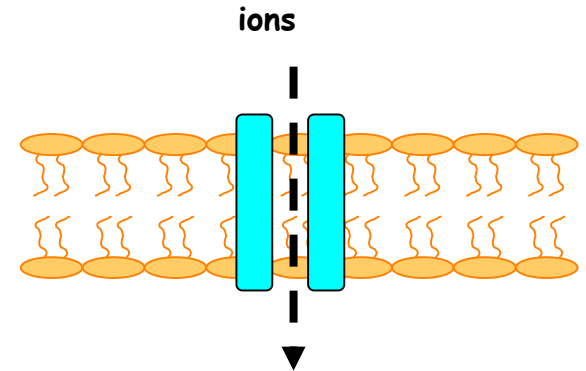
Canal associé à un récepteur

Stimulation du récepteur par un agoniste : ouverture canal ionique

Entrée d'ions

Réponse cellulaire

Canal dépendant du potentiel de membrane



Canal présent dans la membrane

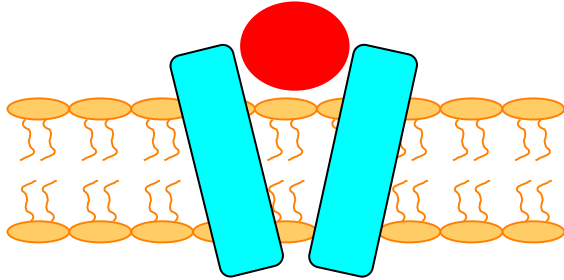
Différence de potentiel membranaire: ouverture du canal

Entrée d'ions

Réponse cellulaire

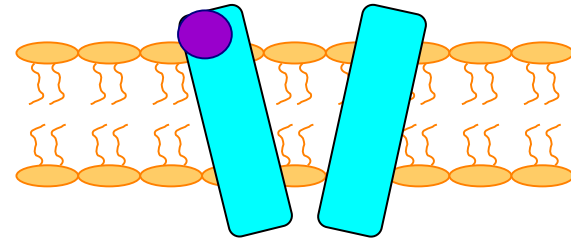
Canaux peuvent être activés, bloqués ou modulés

Bloqueurs des canaux ioniques



Ex: **nifédipine** ferme canal calcique
Médicament antihypertenseur

Activateurs des canaux ioniques

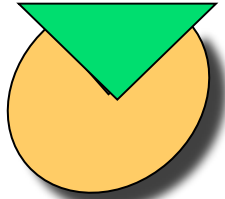


Ex: **nicorandil** ouvre canaux potassiques K_{ATP}
Médicament anti-angoreux

Chapitre 1 : les différentes cibles moléculaires

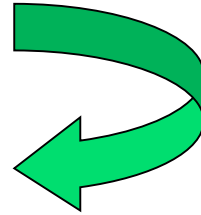
1-4- Enzymes, substrat, faux substrats, inhibiteurs, prodrogues

Substrat naturel



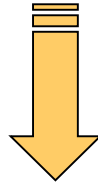
Liaison **Substrat** → production d'un métabolite

acide arachidonique



cyclo-oxygénase

prostaglandines



réaction inflammatoire

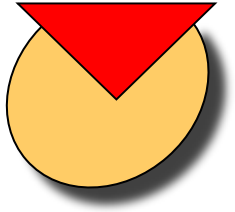
Inhibiteurs

Substrat exogène = analogue du substrat naturel

Se fixe sur l'enzyme

Bloque l'accès à l'enzyme (liaison réversible ou irréversible)

Empêche la liaison du substrat naturel



Liaison **inhibiteur** → réaction enzymatique inhibée

Ex: **aspirine** qui inhibe la cyclo-oxygénase



Effet anti-inflammatoire

Ex : **Gliptines** = Inhibiteurs enzymatiques de l'enzyme dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4)

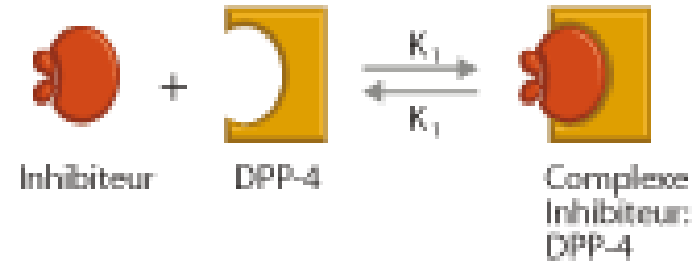
GLP-1* : hormone produit par l'intestin (incrétine), qui fait augmenter la sécrétion d'insuline après le repas
→ effet hypoglycémiant

* Glucagon like peptide-1

DPP-4 : enzyme qui dégrade le GLP-1 : son inhibition fait augmenter les concentrations de GLP-1
→ effet hypoglycémiant augmenté

Deux gliptines : antidiabétiques

a) Sitagliptine: inhibiteur compétitif



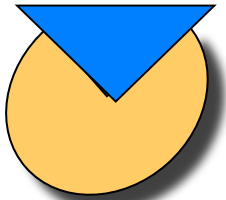
b) Vildagliptine: « substrat lent »

Se fixe sur la DPP-4 par une liaison forte, avec une transformation lente du substrat → équivalent d'une inhibition



Prodrogues

Prodrogues: composés qui nécessitent une réaction enzymatique pour libérer le métabolite actif



Liaison **pro-droge** (inactive) → production d' un métabolite actif

simvastatine

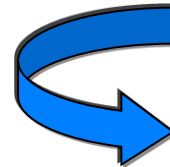


Carboxy-estérases

Simvastatine acide = métabolite actif



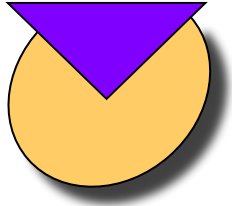
Inhibition HMG-CoA-réductase



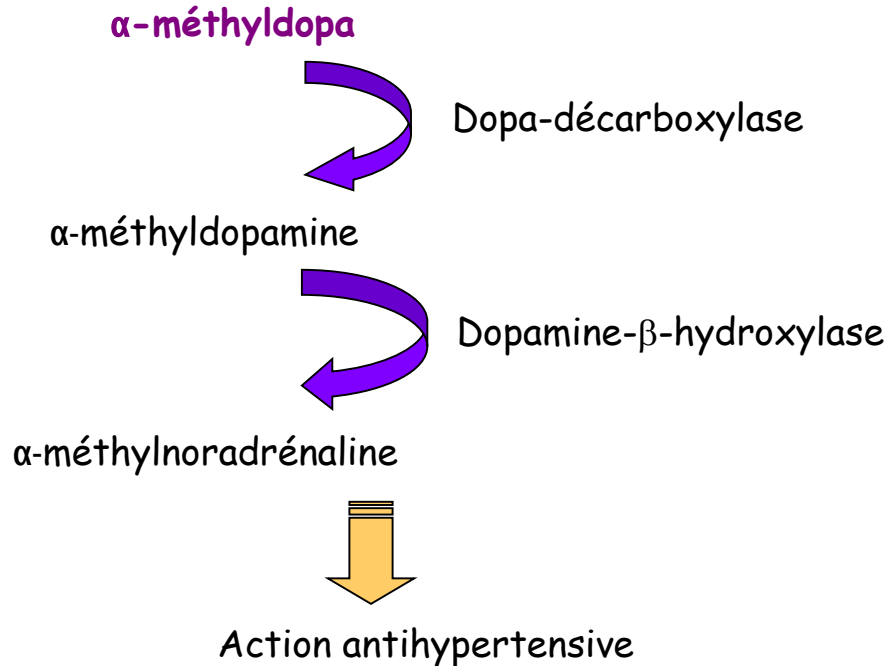
Effet hypolipémiant

Faux substrat

Se lie à l'enzyme mais production d'un métabolite anormal



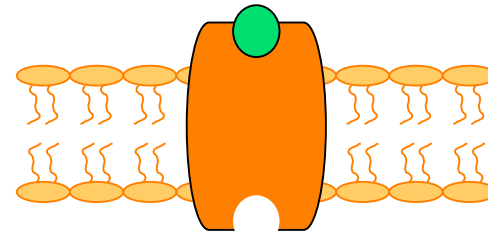
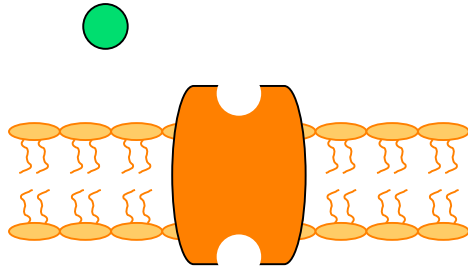
Liaison **faux substrat** → production d'un métabolite anormal



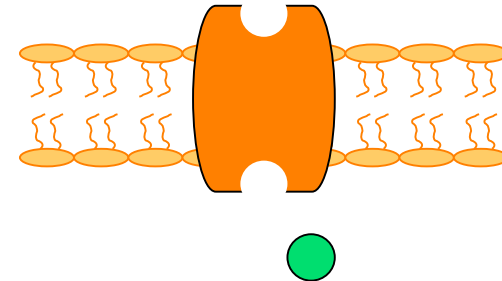
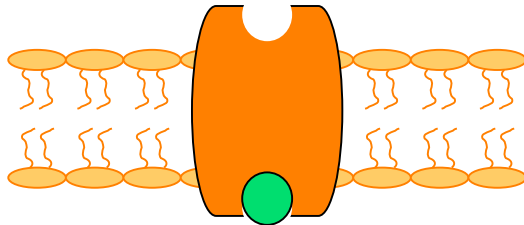
Chapitre 1 : les différentes cibles moléculaires

1-5- Transporteurs, substrats, faux substrats, inhibiteurs

Transport normal d'une molécule



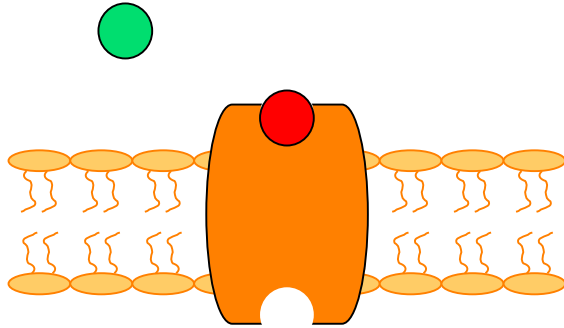
Liaison de la molécule à la face externe de la membrane



Changement de conformation

Libération de la molécule du côté de la face interne de la membrane

Inhibiteur



Inhibiteur se fixe sur le transporteur

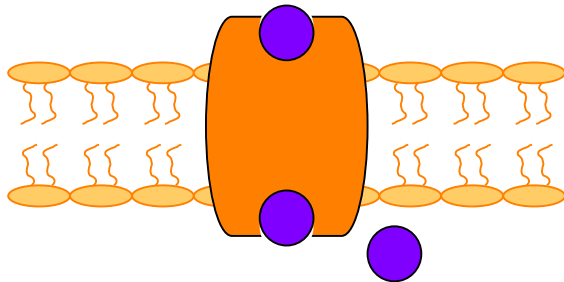
Transport de la molécule bloqué

Ex: Inhibiteurs du Sodium/Glucose Co-Transporter-2 (SGLT-2 inhibiteurs ou glifozines)

→ bloquent la réabsorption du glucose et Na^+ dans le tube contourné proximal rénal → glycosurie

→ effet hypoglycémiant

Faux substrat



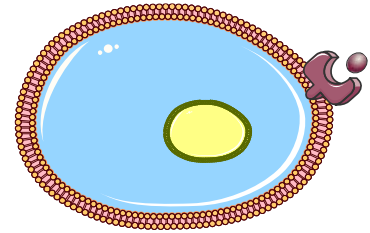
Transport d'un composé exogène

Ex: **amphétamine** « emprunte » le transporteur de la noradrénaline pour rentrer dans les neurones

Chapitre 2 : les différentes familles de récepteurs

Les **récepteurs membranaires** incluent différentes classes:

- Récepteurs Couplés à une Protéine G : **RCPG**
- Récepteurs canaux (ionotropiques)
- Récepteurs enzymes : couplés à une activité enzymatique



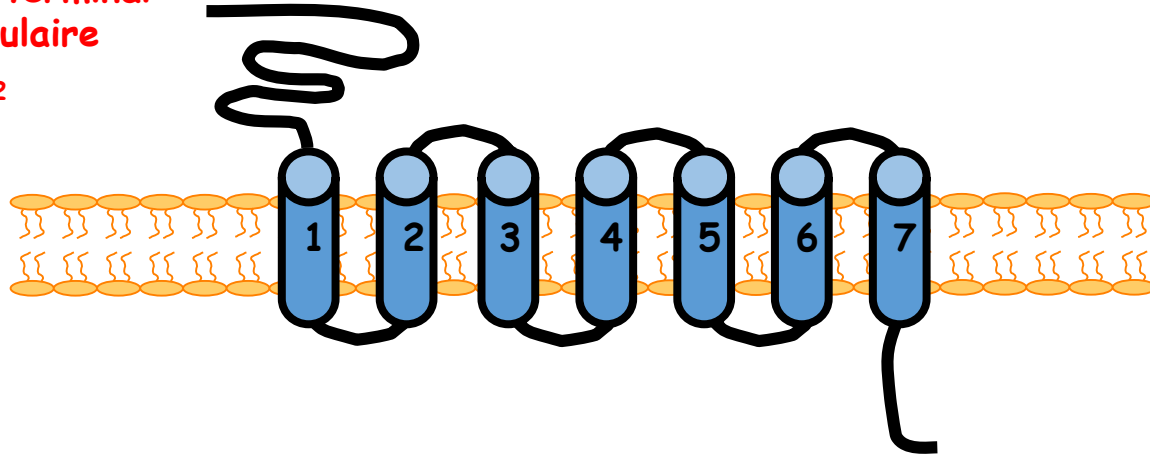
D' une façon générale, les récepteurs membranaires comportent:

- un domaine extra -cellulaire comportant le site de liaison pour le ligand
- un domaine trans-membranaire
- un domaine intra-cellulaire

Chapitre 2 : les différentes familles de récepteur

2-1- Les récepteurs couplés à une protéine G : RGPG

Domaine N-terminal
extracellulaire
NH₂



COOH
Domaine C-terminal intracellulaire

RCPG: 1 peptide formé de 7 hélices α transmembranaires reliées par des boucles extra- et intracellulaires

> 700 types RCPGs

stimuli très variés:

neurotransmetteurs

ions (Ca^{2+})

stimuli sensoriels

lipides

peptides

hormones

.....

Cibles de 25% de médicaments (agonistes et antagonistes)

Exemples:

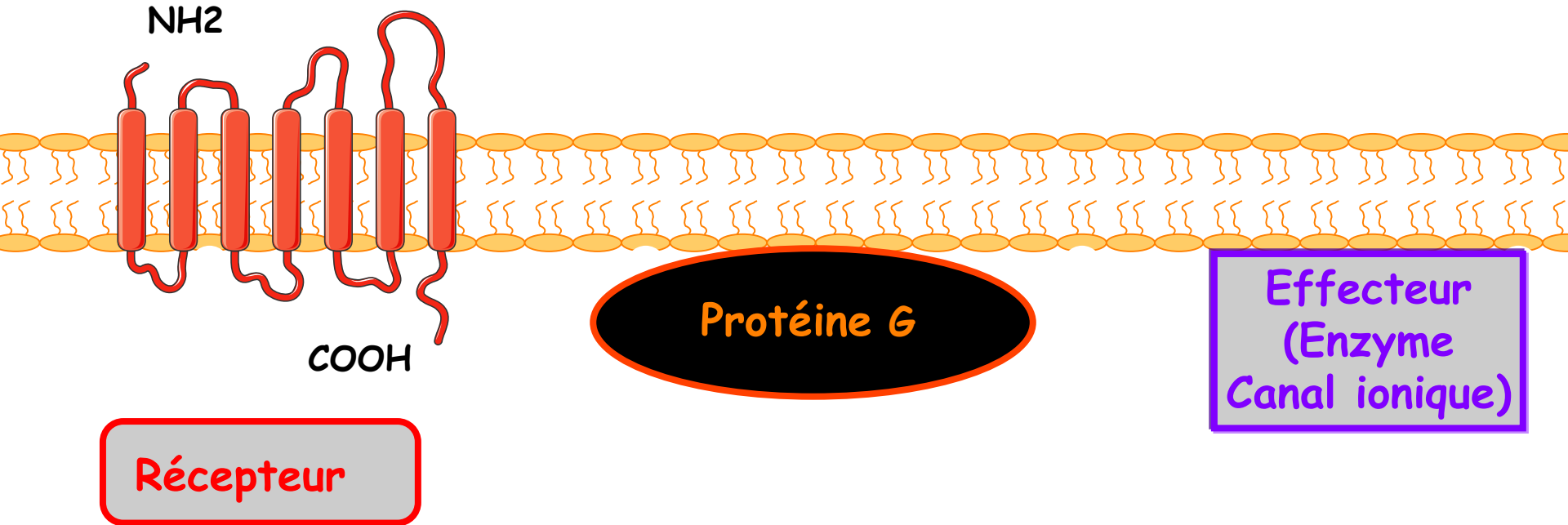
Salbutamol:

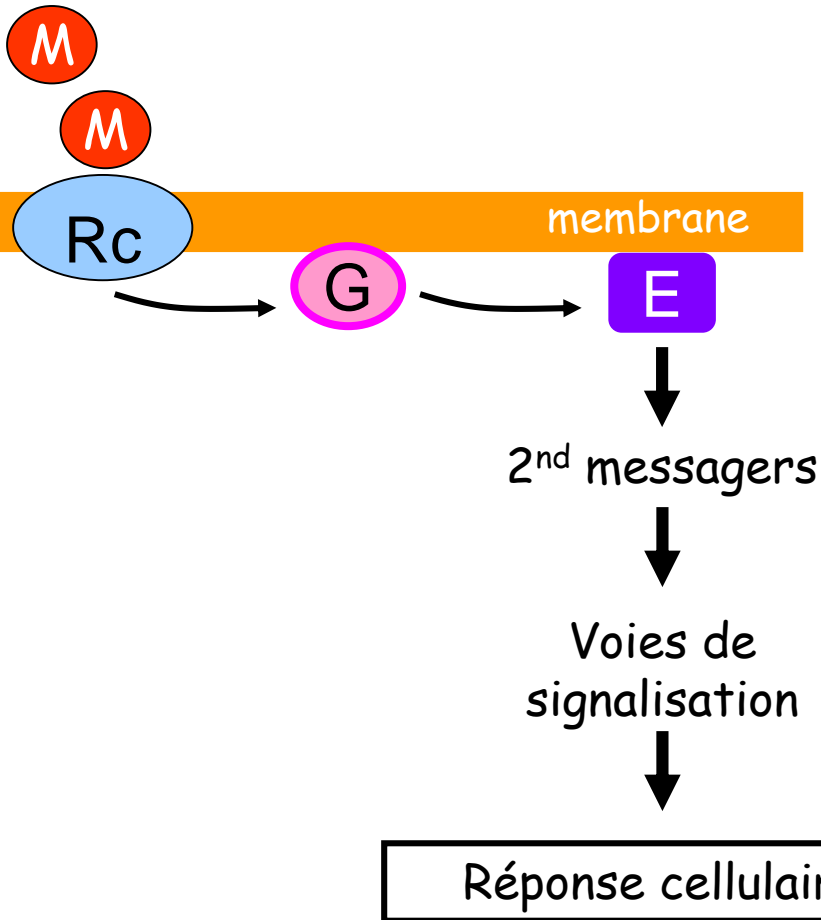
agoniste récepteur β_2 → dilatation bronchique → traitement de l'asthme

Acébutolo

antagoniste récepteur β_1 cardiaque → traitement de l'hypertension artérielle

Configuration générale :





Liaison médiateur-Rc

Activation d'une protéine G

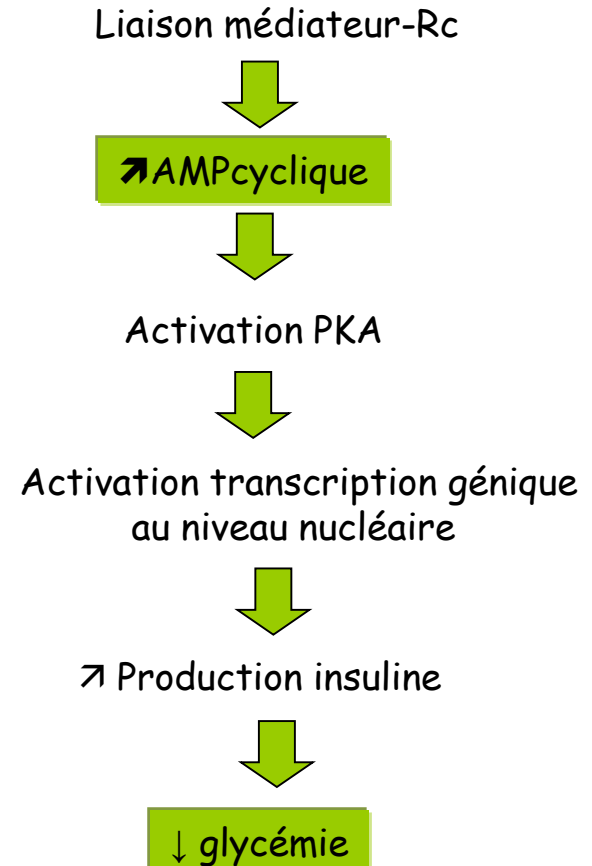
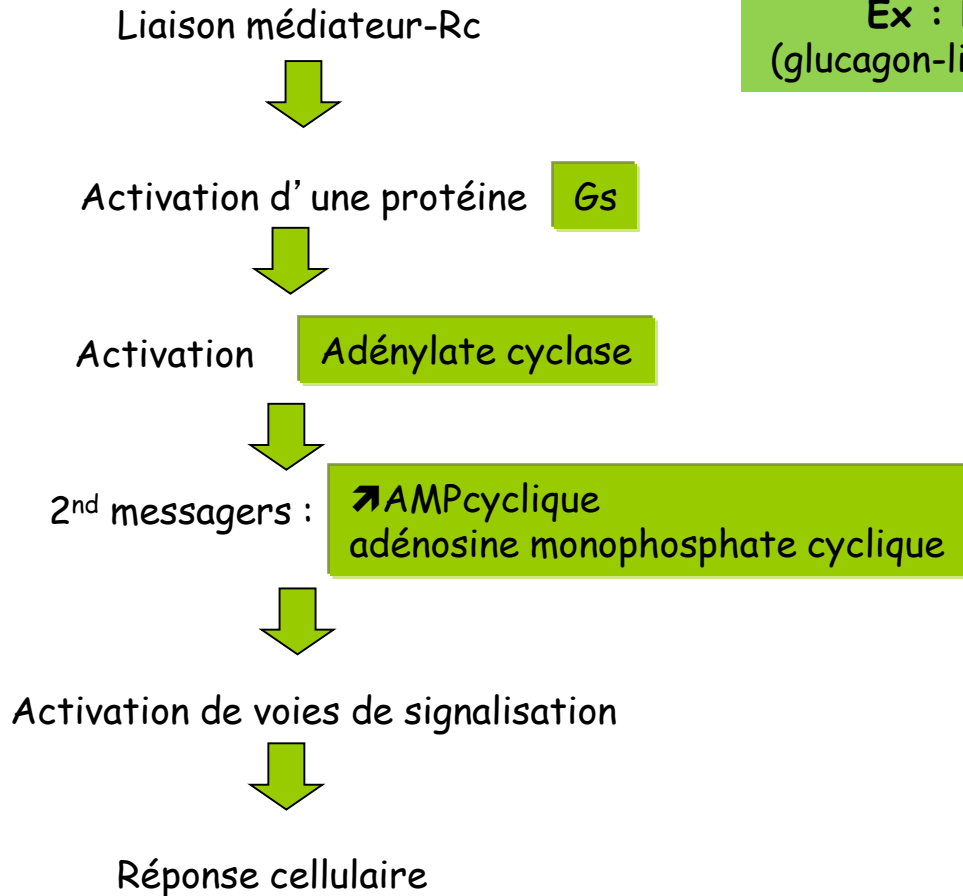
Activation d'une protéine effectrice
(enzyme ou canal ionique)

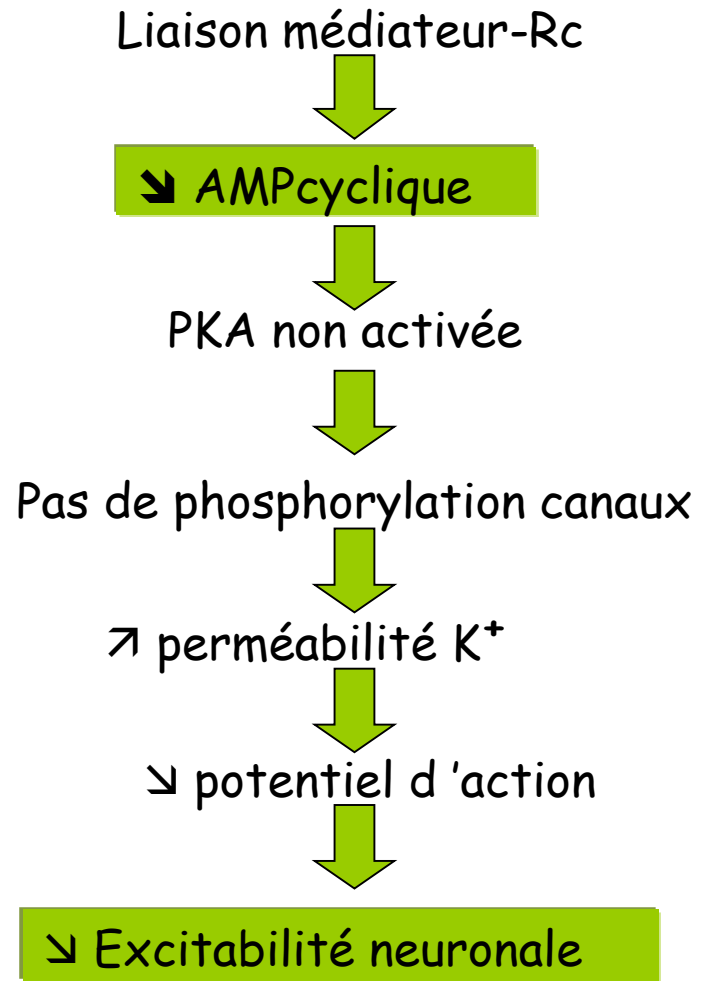
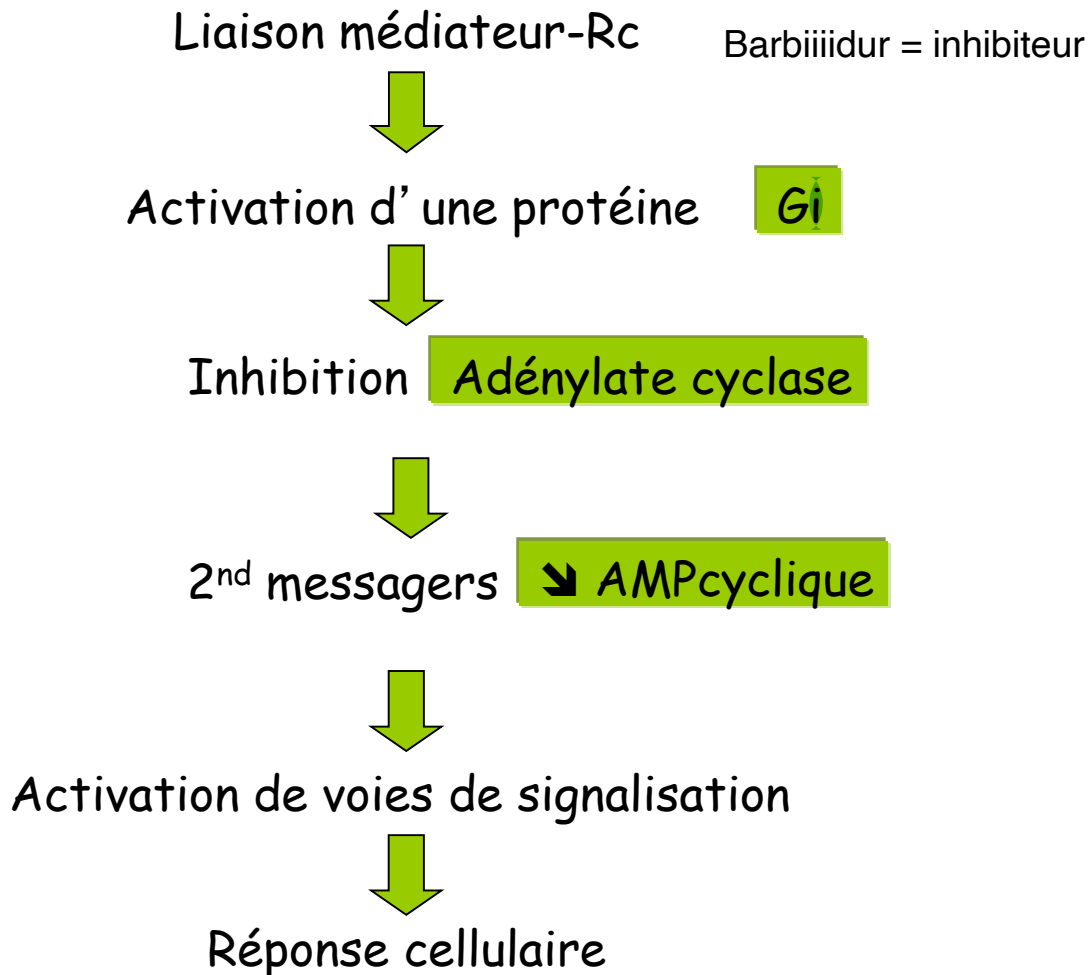
Production de messagers intracellulaires
(2nd messagers : ions, AMPcyclique...)

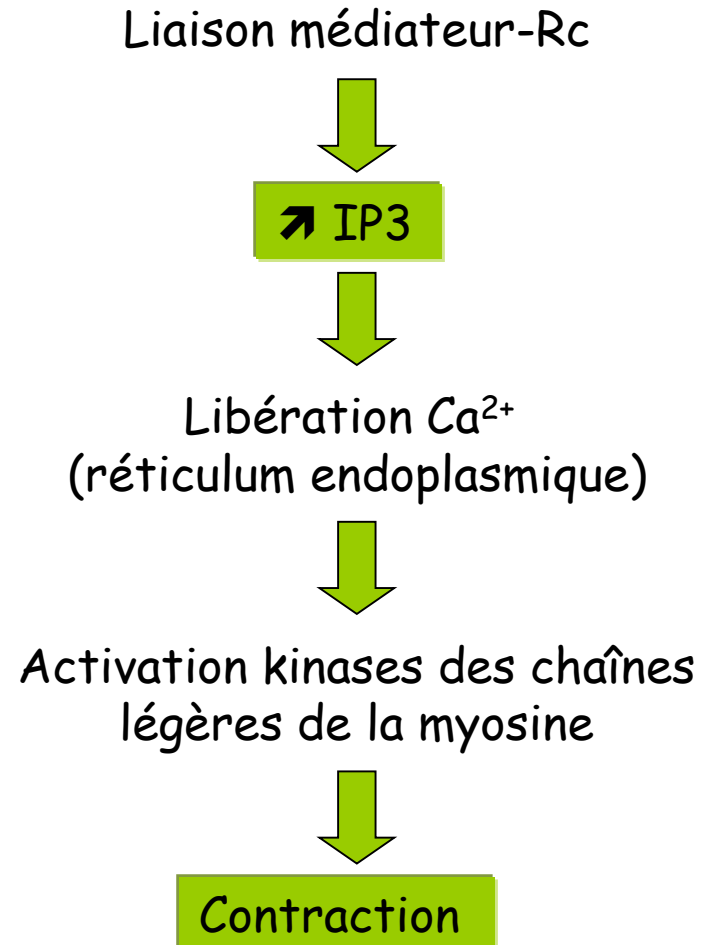
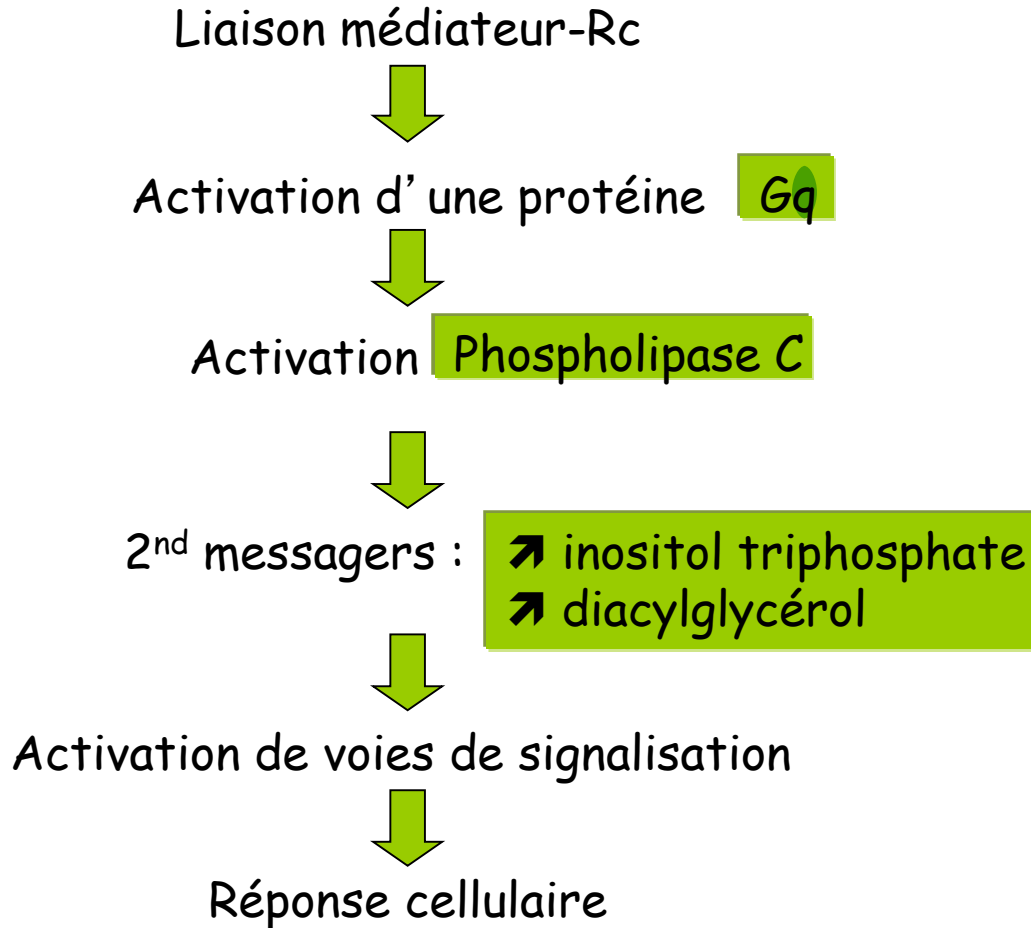
Activation de voies de signalisation

Réponse cellulaire

Ex : Rec **GLP-1** : situé au niveau du pancréas
(glucagon-like peptide-1 : incrétine produite par l'intestin)



Ex : GABA-B - SNC



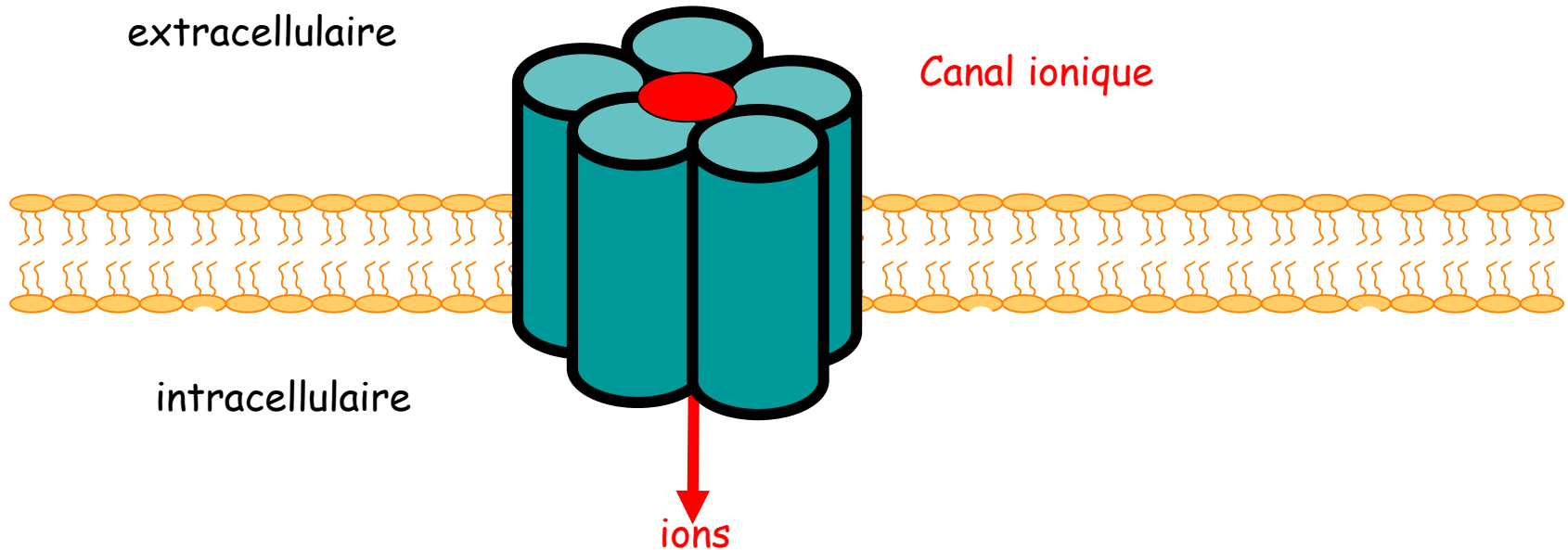
Chapitre 2 : les différentes familles de récepteurs

2-1- Les récepteurs canaux

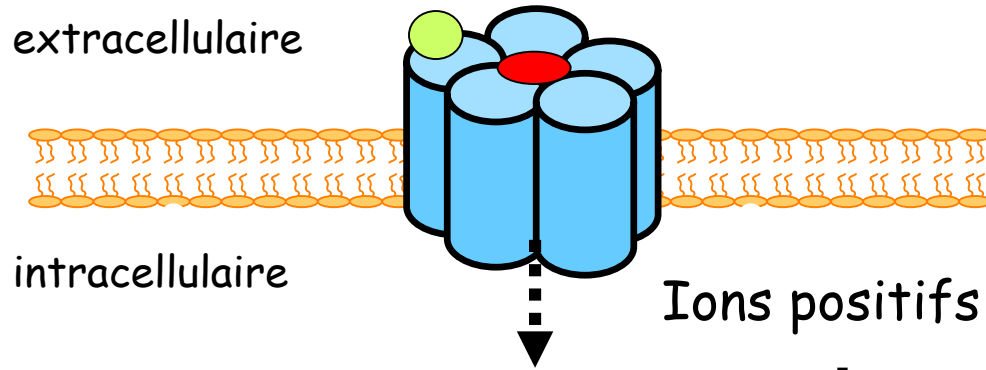
Structure généralement pentamérique 5 unités peptidiques

Comportent un canal ionique

Liaison médiateur → ouverture canal ionique → entrée ions



Activation des Rc canaux → Dépolarisation



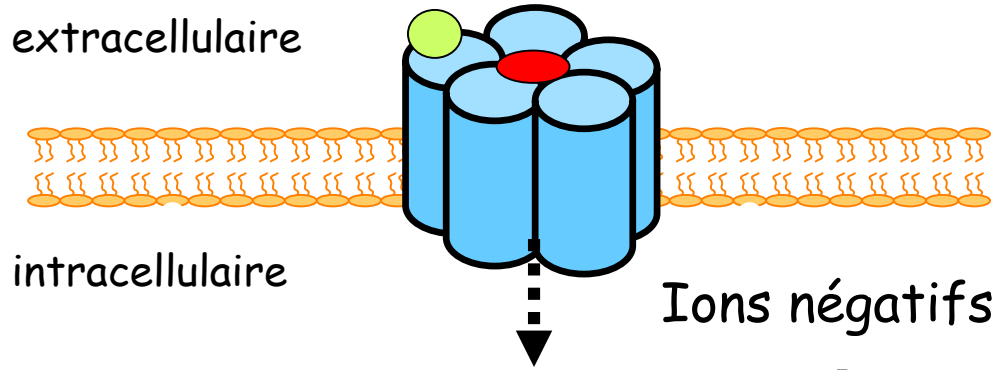
Canal perméable aux **cations**
(ex : Na^+ , Ca^{2+})

↓
dépolarisation

↓
Potentiel d'action post-synaptique **excitateur (PPSE)**

↓
Augmentation de l'excitabilité de la cellule

Activation des Rc canaux → Hyperpolarisation



Canal perméable aux **anions**
(ex : Cl⁻)

Ions négatifs



Hyperpolarisation



Potentiel d'action post-synaptique **inhibiteur (PPSI)**



Diminution de l'excitabilité de la cellule

Exemple de récepteurs canal à perméabilité anionique (hyperpolarisation)

Récepteur GABA-A

extracellulaire



intracellulaire

Cl⁻

Neuromédiateur inhibiteur du SNC

Benzodiazépines

Augmentent ouverture canal Cl⁻

Potentialisent les effets **inhibiteurs** du GABA

Traitement **anxiolytique**

Traitement **sédatif**

Traitement **myorelaxant**

Traitement **anticonvulsivant**

Remarque

Remarque: un même neuromédiateur peut agir sur un récepteur canal et un récepteur RCPG

Exemple 1 : **GABA** (acide gamma-aminobutyrique)

GABA-A : Récepteur canal

GABA-B : RCPG

Exemple 2 : **Acétylcholine**

Nicotiniques : Récepteur canal

Muscariniques : RCPG

Chapitre 2 : les différentes familles de récepteurs

2-3- Les récepteurs enzyme

Une seule hélice transmembranaire

Domaine de liaison
extraC

hélice α

Domaine
enzymatique

membrane



The diagram illustrates a single transmembrane alpha-helix receptor embedded in a lipid bilayer membrane. The membrane is shown as a double layer of orange spheres (polar heads) with wavy lines (hydrophobic tails) pointing towards each other. A teal cylinder, representing the extracellular binding domain, is attached to the top of a coiled spring, which represents the alpha-helix (hélice α) that spans the membrane. Below the membrane, a light blue rectangular box represents the intracellular enzymatic domain (Domaine enzymatique). A wavy line extends from the bottom of this domain, indicating the cytoplasmic tail of the protein.

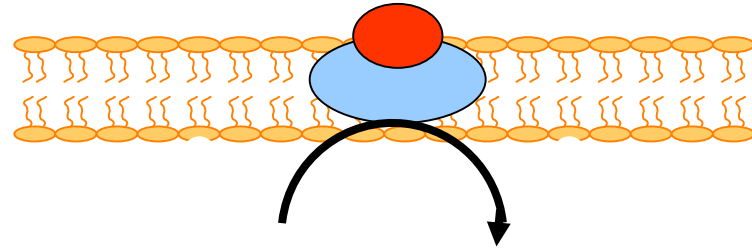
Rc enzymes à activité **tyrosine kinase** → Phosphorylation de **résidus tyrosyl**

Ex : **récepteurs insuline, facteurs de croissance**

Récepteur insuline

Molécule hypoglycémiante

Traitement du diabète



Phosphorylation
de protéines intracellulaires



Activation de facteurs de transcription



Synthèse protéique



Croissance cellulaire

Récepteur VEGF

(Vascular Endothelium Growth Factor)

Facteur de croissance

Stimule **croissance des microvaisseaux**

Anticorps anti-VEGF

Bevacizumab

Traitement anticancéreux

Récepteur de l'insuline: Récepteur enzyme à activité tyrosine kinase, situé sur les cellules musculaires, hépatiques ...

Insuline: hormone produit au niveau du **pancréas**, ad action hypoglycémiante, elle est synthétisée et utilisée comme antidiabétique

Liaison médiateur-Rc

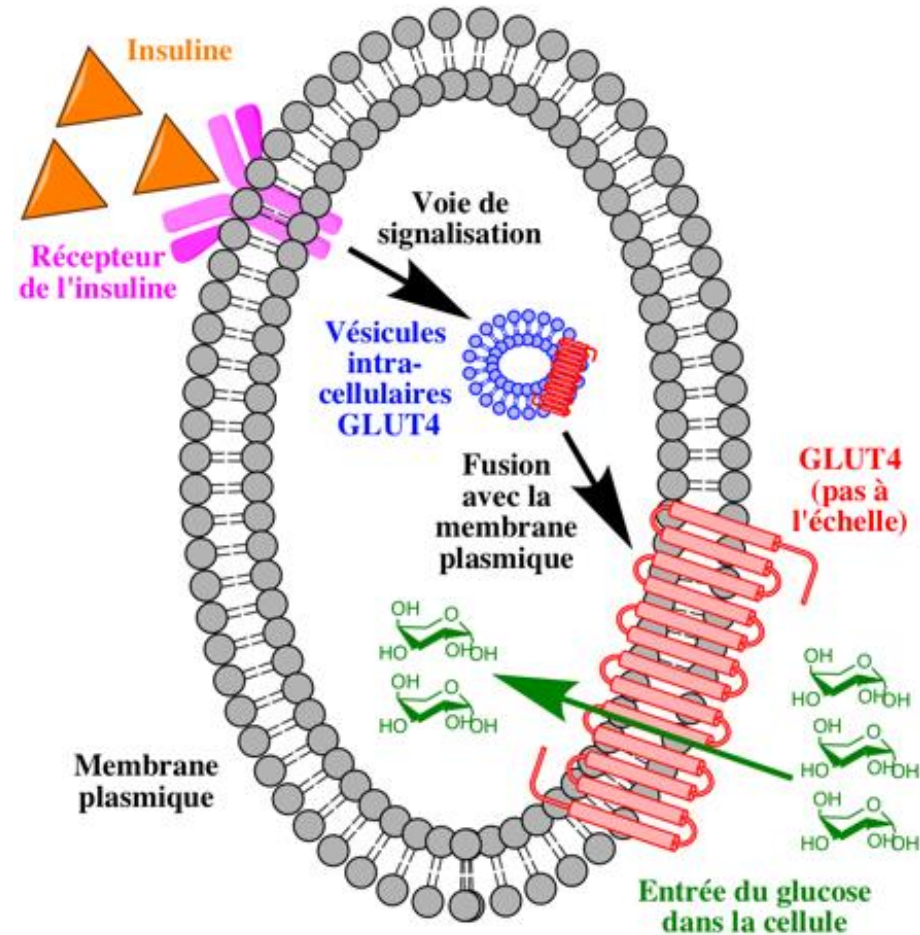
→ Dimérisation des récepteurs

→ Activation voies de signalisation

→ Augmentation canaux **GLUT4** sur la surface cellulaire
(transporteur de glucose)

→ Entrée du glucose dans la cellule

→ Effet hypoglycémiant



Rc enzymes à activité guanylate cyclase

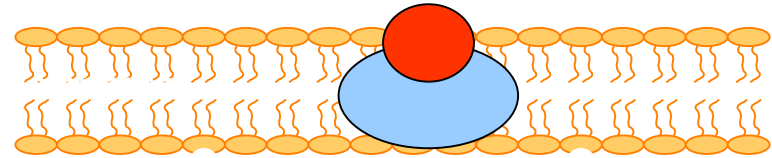
Ex: récepteur aux **peptides natriurétiques**

Ex: **ANF**

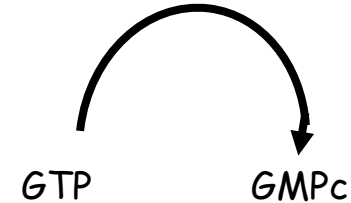
(Facteur Natriurétique Auriculaire)

Hormone impliquée dans la régulation de la pression artérielle

GTP : Guanosine TriPhosphate; GMPc : Guanosine MonoPhosphate cyclique



↓
Activation
de la guanylate cyclase



↓
Activation de protéines kinases

↓
Réponse cellulaire

Chapitre 2 : les différentes familles de récepteurs

2-4- Les récepteurs nucléaires

Localisation intracellulaire

Ligands lipophiles

Se fixent à une région promotrice d'un gène

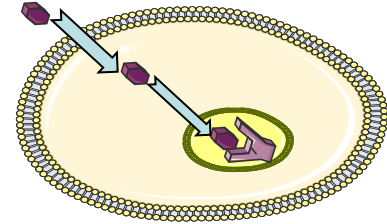
↗ ou ↘ synthèse d'une protéine donnée

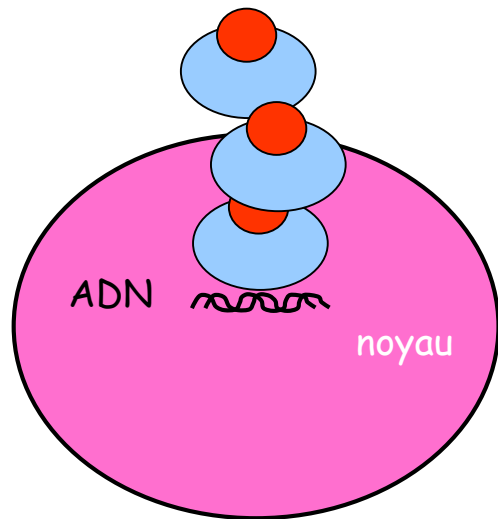
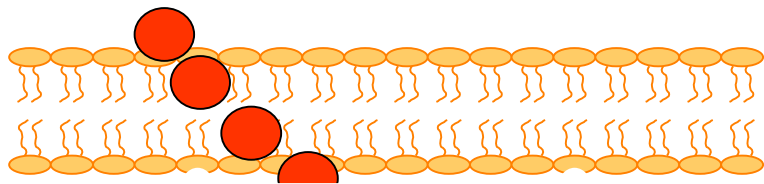
Exemples:

Récepteurs aux hormones stéroïdes

Récepteur à la vitamine D

Récepteurs aux hormones thyroïdiennes....





Synthèse protéique

Réponse cellulaire

Liaison médiateur-récepteur



Fixation du complexe
sur des séquences spécifiques de l'ADN



↗ ou ↘ de la transcription génique



↗ ou ↘ diminution de la synthèse d'ARN messager



↗ ou ↘ diminution de la synthèse protéique



Réponse cellulaire

Ex: récepteur des glucocorticoïdes

les corticoïdes diminuent la synthèse de molécules pro-inflammatoires

Cortisone

Traitement anti-inflammatoire

Ex: récepteur de la progestérone

la progestérone : hormone impliquée dans la gestation

Progéstérone

Traitement contractions utérines

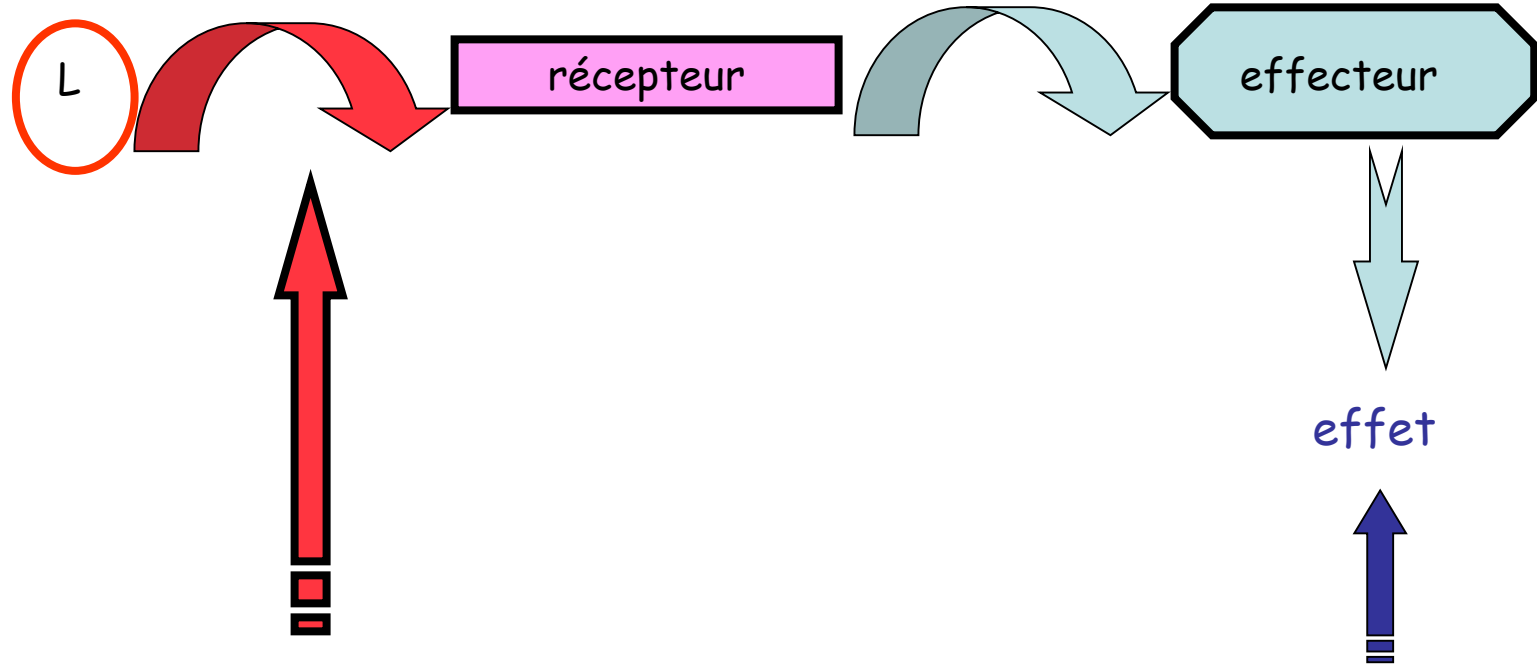
Ex: récepteur vitamine D

la vitamine D : hormone impliquée dans l'absorption du calcium et dans la croissance osseuse

Calcitriol

Traitement rachitisme

Chapitre 3 : principaux paramètres de pharmacométrie



Pharmacométrie de la liaison

Pharmacométrie de la réponse

in vitro

in vivo

Récepteurs
purifiés

Fragments
membranaires

Cellules
isolées

Organes
isolés

Organisme
entier

Etudes de liaison spécifique

Etudes fonctionnelles

Chapitre 3 : principaux paramètres de pharmacométrie

3-1- Pharmacométrie de la liaison

Applications

* Développement d'une nouvelle molécule

- affinité vis-à-vis d'un récepteur donné
- comparer l'affinité de plusieurs molécules entre elles ou par rapport à un composé de référence



sélection

* Modification de la densité de récepteurs au cours de certaines situations pathologiques

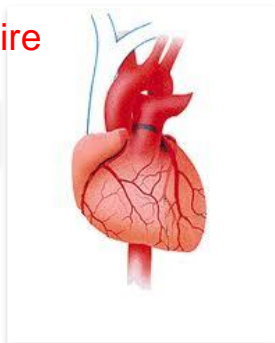
Principe

Caractérisation et quantification des sites de liaison :

Etude de la liaison spécifique d'un ligand radiomarqué

Protocole Préparation membranaire

Tissu



Homogénéisation



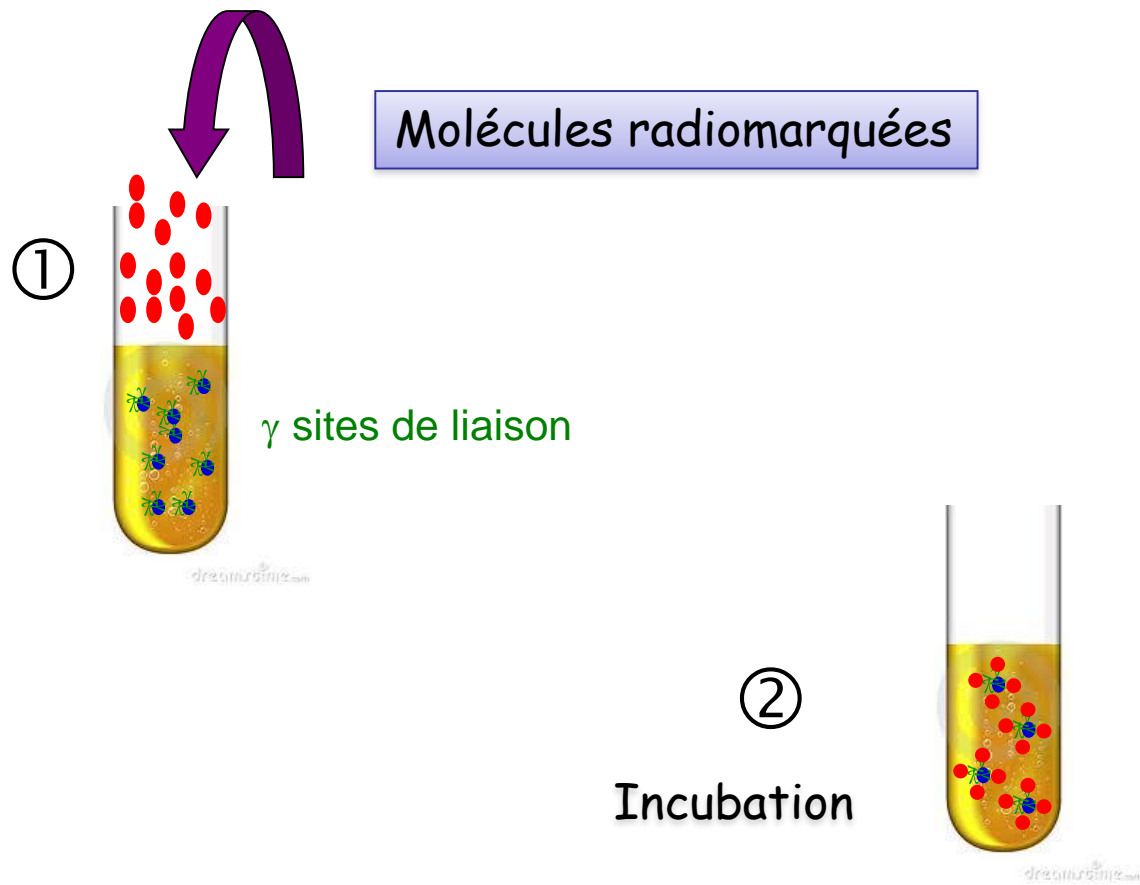
Centrifugation



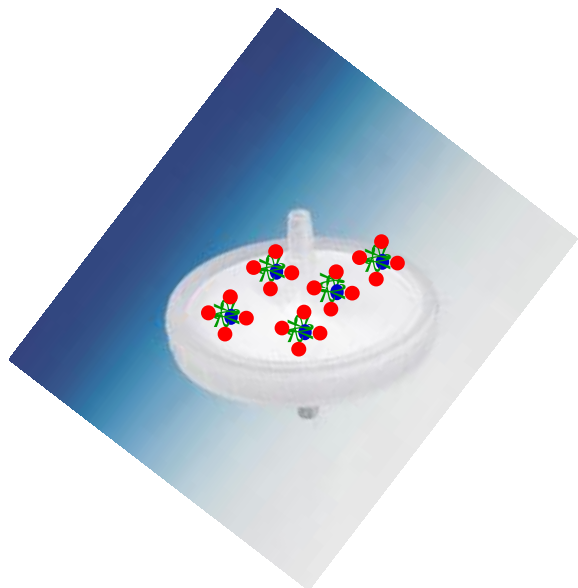
Préparation membranaire riche en récepteurs



Protocole : mesure de la liaison spécifique



Protocole : mesure de la liaison spécifique



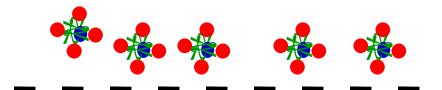
③ Filtration



Rinçages



④ Comptage radioactivité



Protocole : mesure de la liaison spécifique

LIAISON TOTALE : Liaison spécifique + Liaison non spécifique

* Liaison spécifique = liaison sur sites récepteurs, saturable

* Liaison non spécifique = liaison sur sites autres que les récepteurs, non saturable, aléatoire

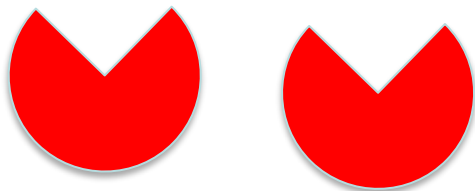
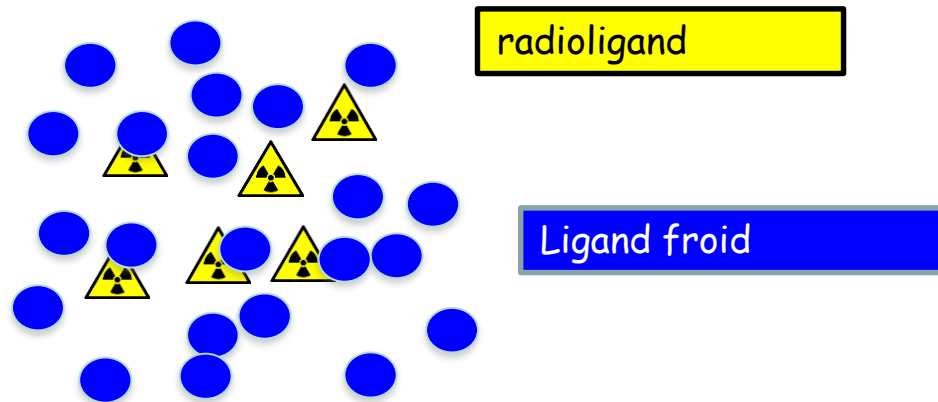
Ex : filtre, entités membranaires autres que les récepteurs, dissolution dans les lipides

Pour définir la liaison spécifique:

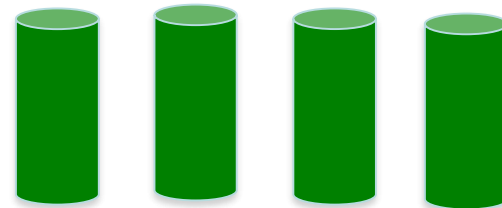
On évalue parallèlement la liaison totale et la liaison non spécifique

- liaison totale : molécules radiomarquées
- liaison non spécifique : molécules radiomarquées + un ligand spécifique du récepteur *froid* et en *excès*

Protocole : mesure de la liaison spécifique



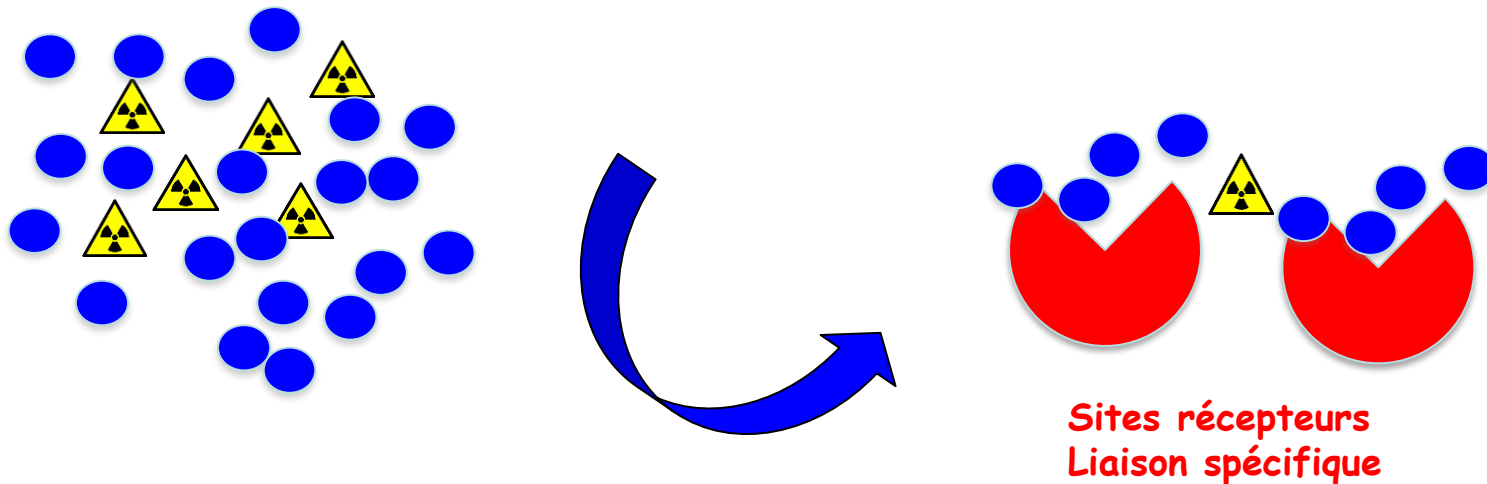
Sites récepteurs
Liaison spécifique



Sites non récepteurs
Liaison non spécifique

Protocole : mesure de la liaison spécifique

Compétition au niveau des sites récepteurs (= liaison spécifique)

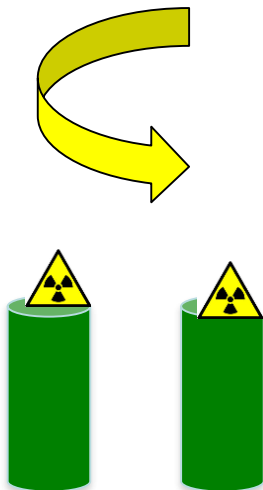


Fixation majoritaire du ligand froid

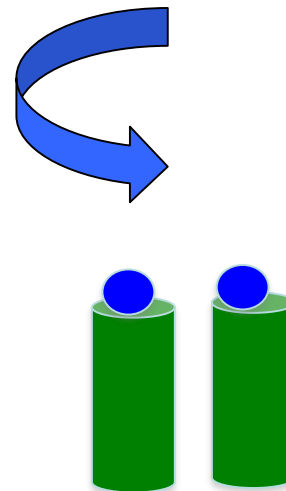
Protocole : mesure de la liaison spécifique

Pas de compétition au niveau des sites non spécifiques

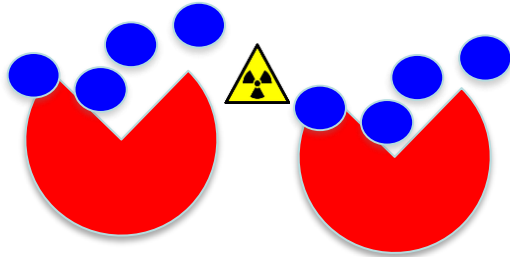
Fixation du radioligand sur ses sites non spécifiques



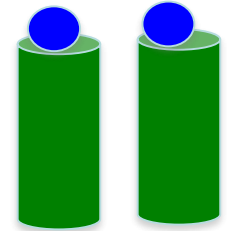
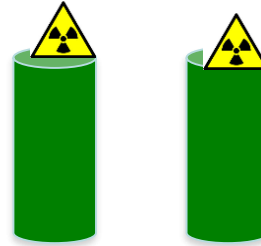
Fixation du ligand froid sur ses sites non spécifiques



Protocole : mesure de la liaison spécifique



Sites récepteurs
Liaison spécifique



Radioactivité mesurée = liaison non spécifique du radioligand

Liaison spécifique = liaison totale - liaison non spécifique

En résumé :

Compétition au niveau des sites récepteurs (= liaison spécifique)



Fixation majoritaire du ligand froid

Pas de compétition au niveau des sites non spécifiques



Fixation du radioligand sur ses sites non spécifiques

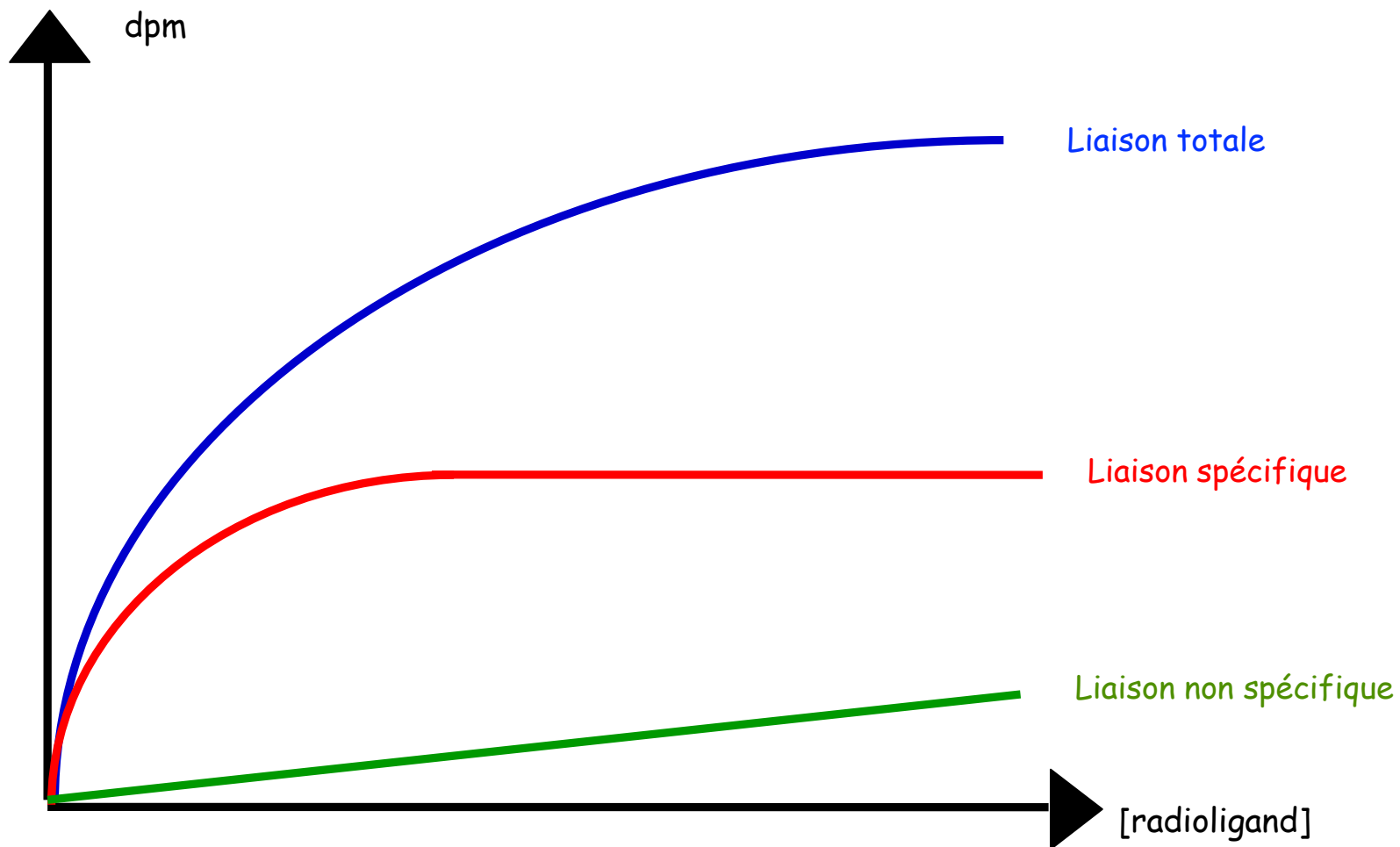


Fixation du ligand froid sur ses sites non spécifiques



Radioactivité mesurée = liaison non spécifique du radioligand


Liaison spécifique = liaison totale - liaison non spécifique



Mesure de B_{\max} et K_d

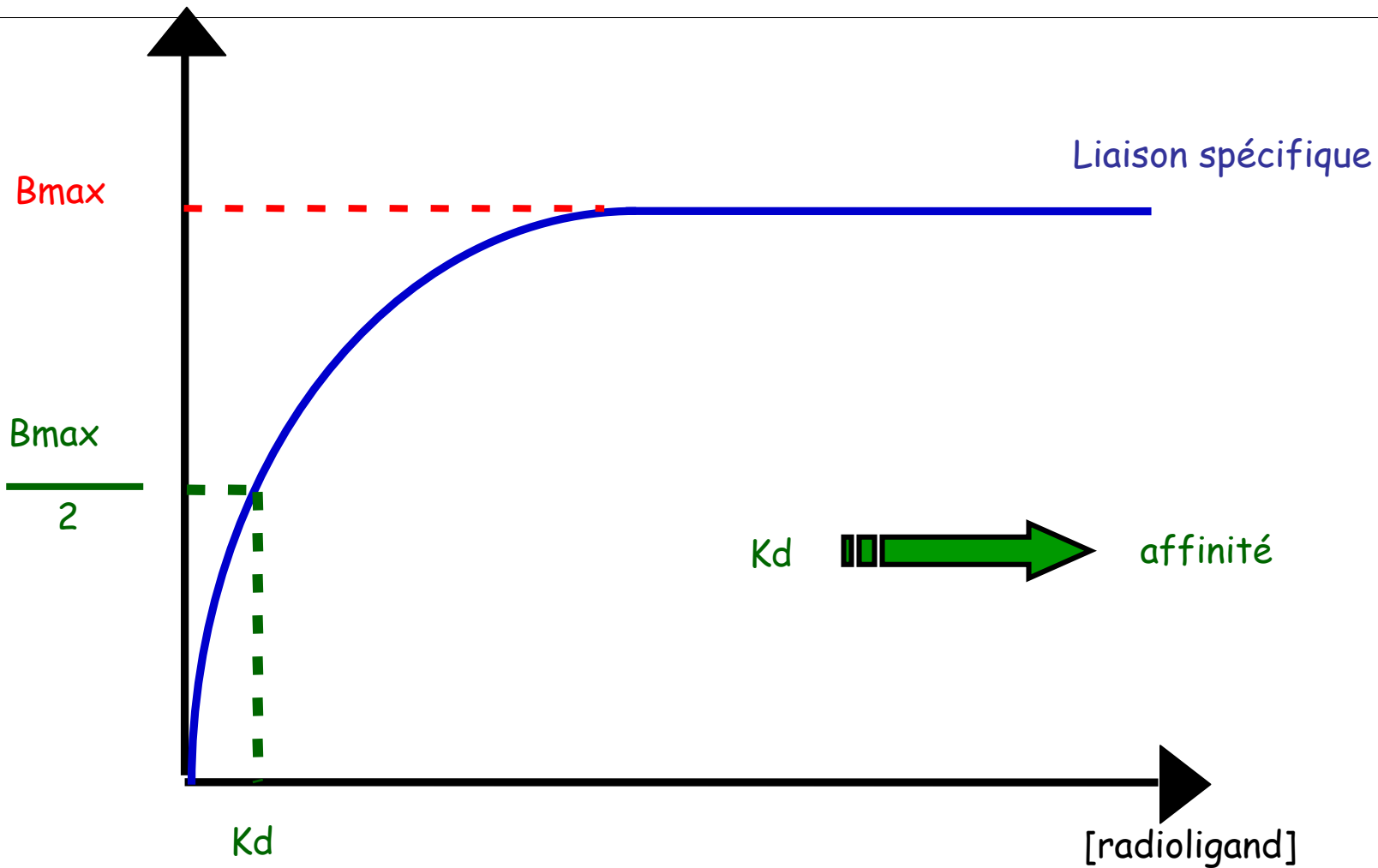
B_{\max} : densité totale des sites de liaison

K_d : constante de dissociation

 Affinité

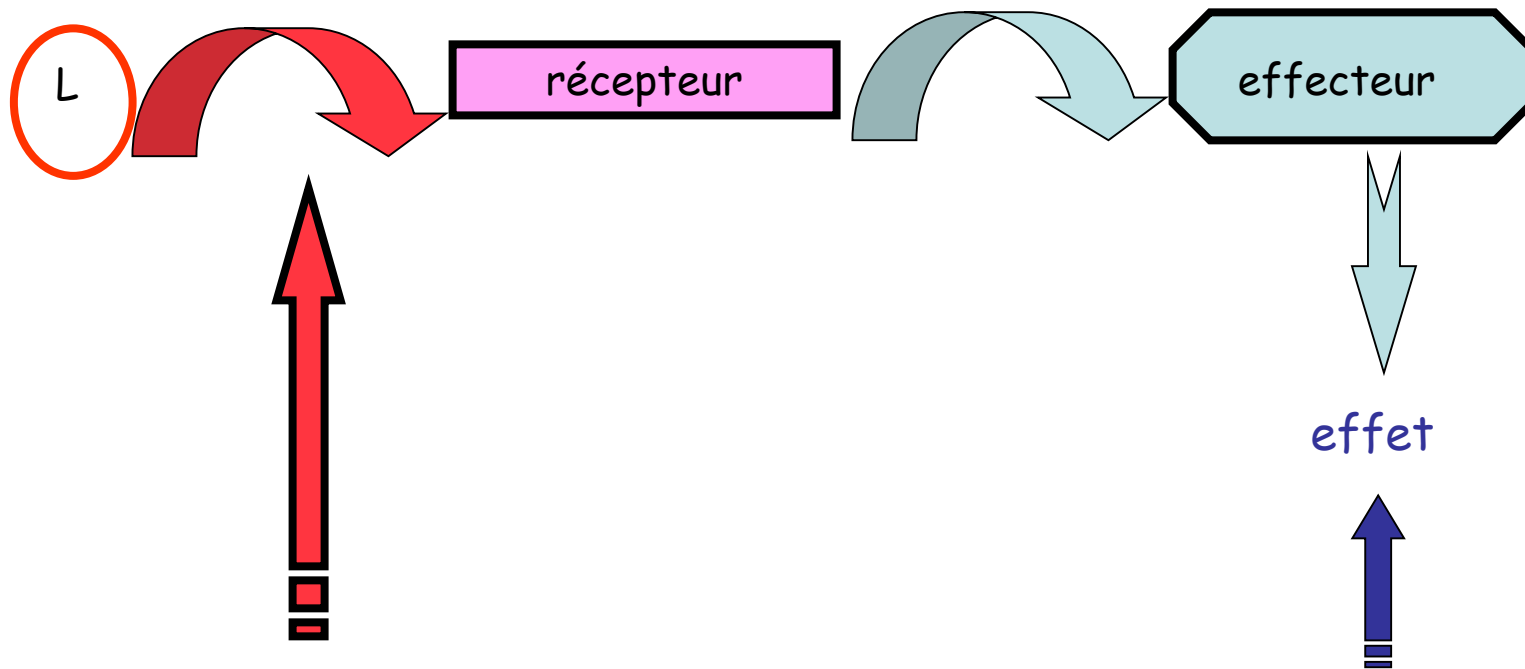
K_d : concentration de ligand qui occupe la moitié de la totalité des récepteurs

$$[K_d] = \frac{1}{2} B_{\max}$$



Chapitre 3 : principaux paramètres de pharmacométrie


3-2- Pharmacométrie de la réponse : Agoniste



Pharmacométrie de la liaison

*Pharmacométrie de la
réponse*

Conséquences de la liaison d'une molécule ?

Liaison ligand récepteur  Effet biologique


Effet biologique est liée à l'activité intrinsèque

Activité intrinsèque : capacité du ligand à produire un effet plus ou moins important en se liant au récepteur.

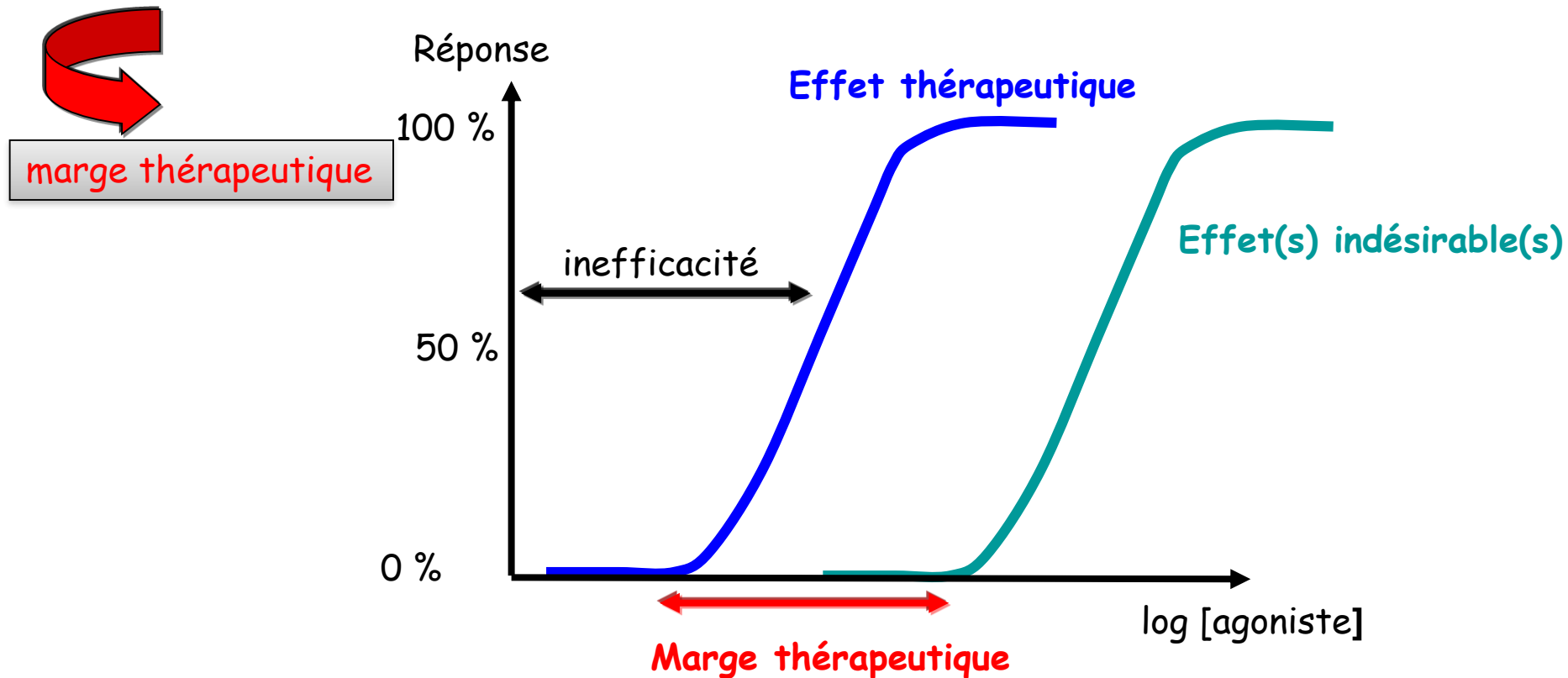
Effet biologique d'une substance va varier en fonction de la dose administrée = relation effet / dose

Puissance et efficacité d'une molécule

Comparaison de plusieurs molécules entre elles et/ou par rapport à un composé de référence

 sélection

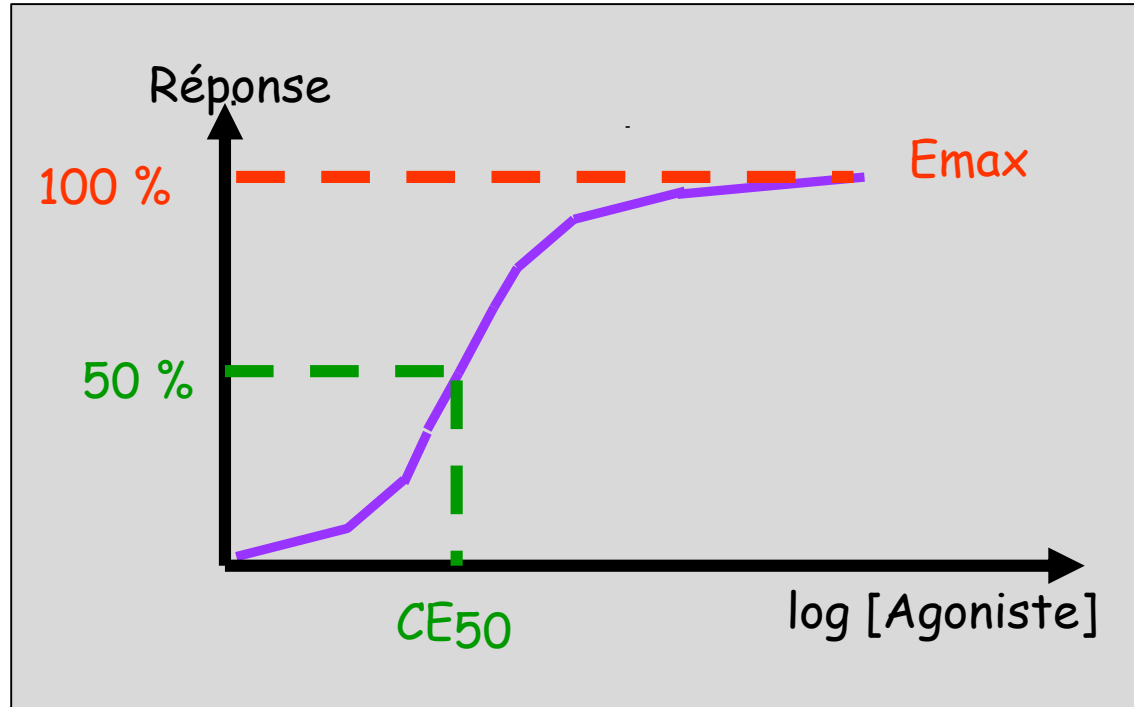
Détermination de la marge entre les doses qui induisent l'effet thérapeutique recherché et les doses qui induisent des effets toxiques (effets indésirables).



1) E_{max} : Effet maximal \rightarrow efficacité de l'agoniste

2) CE_{50} : Concentration Efficace 50 \rightarrow puissance de l'agoniste

Concentration (Dose) de l'agoniste pour obtenir 50% de l'effet maximum



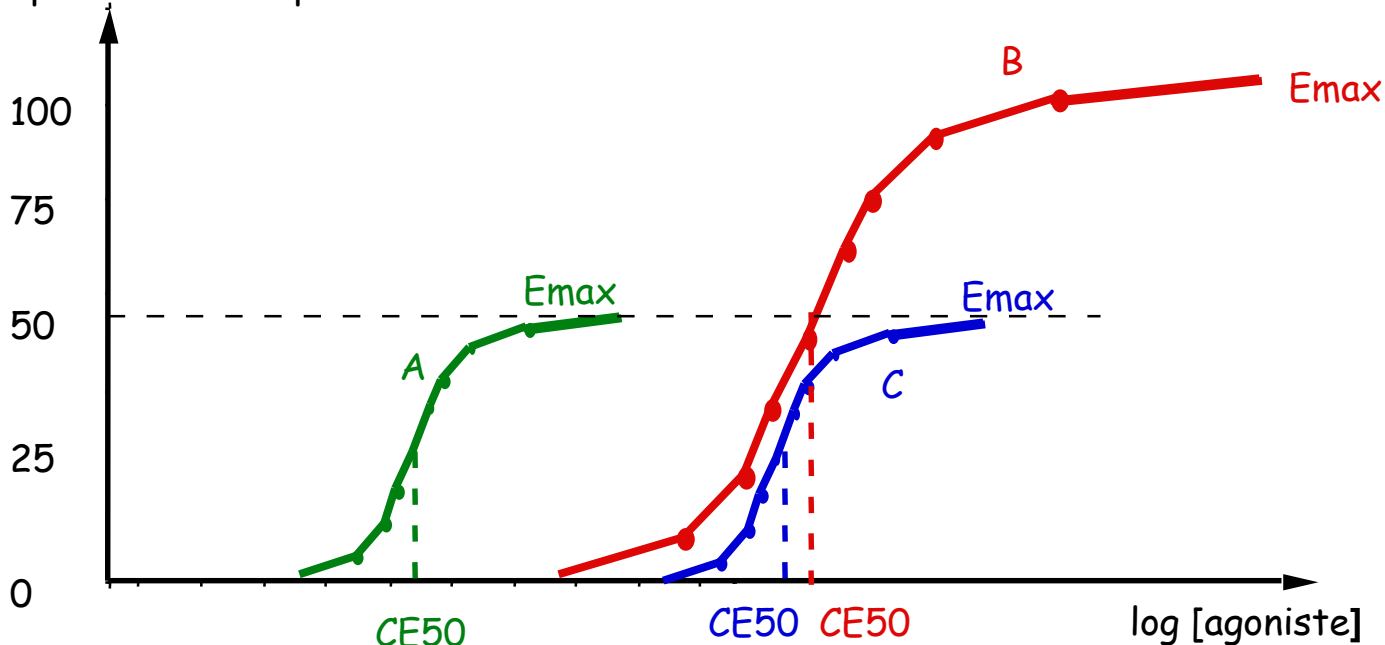
E_{max}


efficacité de l'agoniste

 CE_{50}


puissance de l'agoniste

Amplitude de la réponse


 A et C : même E_{max}

Efficacité de A = Efficacité de C

 A et B : E_{max} différentes

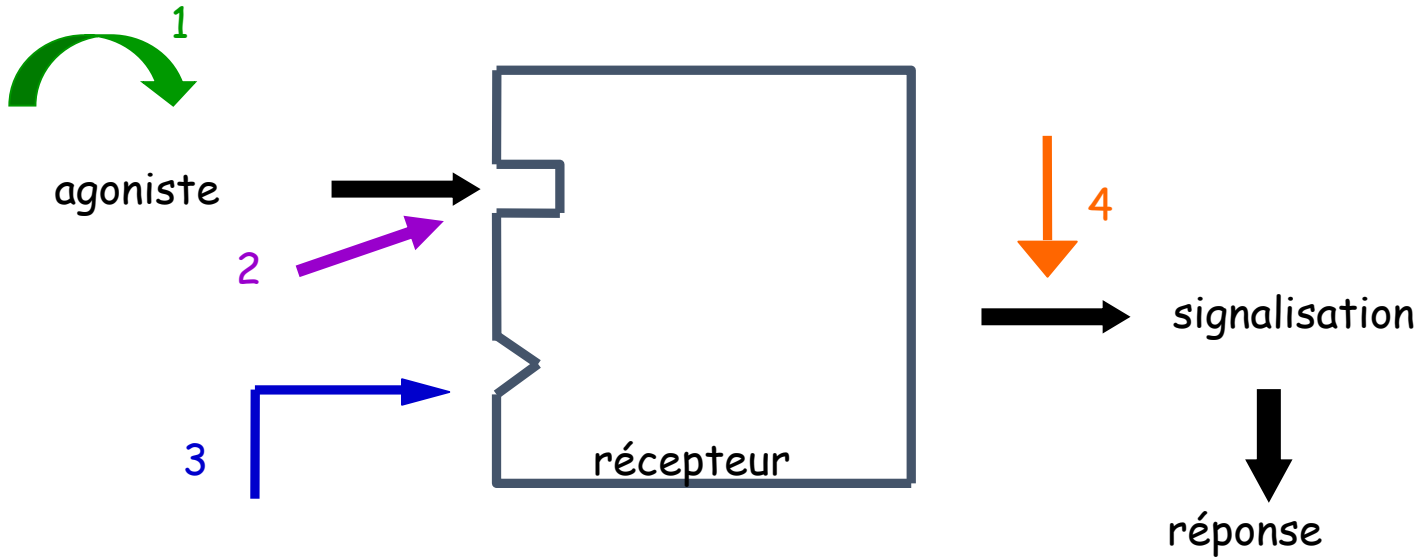
Efficacité de B > Efficacité de A

 B et C : même CE_{50}

Puissance de B = Puissance de C

Chapitre 3 : principaux paramètres de pharmacométrie

3-2- Pharmacométrie de la réponse : Antagoniste



1 Antagonisme chimique

2 Antagonisme compétitif

3 Antagonisme non compétitif

4 Antagonisme fonctionnel

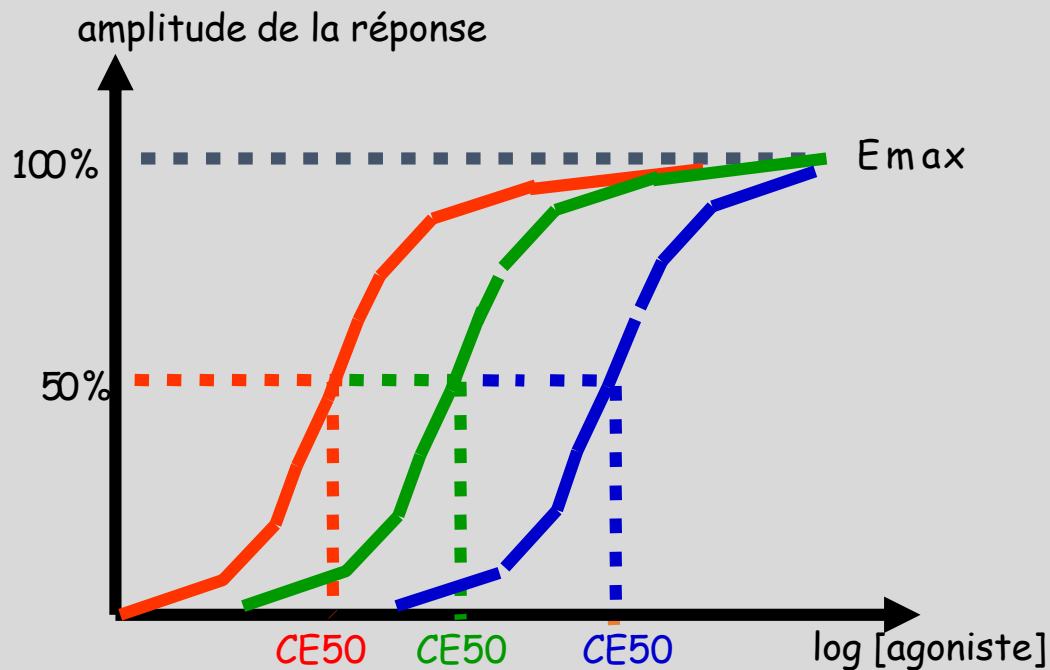
Antagoniste compétitif

Liaison de l'antagoniste sur le **même site de liaison** que l'agoniste

Généralement **réversible**

Compétition au niveau du site de liaison

E_{max} inchangé en présence de l'antagoniste



Courbe effet / dose de l'agoniste **en absence** de l'antagoniste

Courbe effet / dose de l'agoniste **en présence** d'une concentration 1 de l'antagoniste

Courbe effet / dose de l'agoniste **en présence** d'une concentration 2 de l'antagoniste

Antagoniste compétitif

Représentation de Schild

 pA_2 : puissance de l'antagoniste compétitif

pA_2 = log négatif de [antagoniste] qui nécessite le doublement de [agoniste] pour obtenir le même effet qu'en absence de l'antagoniste

[A] concentration agoniste en absence de l'antagoniste

[A'] concentration agoniste nécessaire pour obtenir le même effet en présence de l'antagoniste B

[B] concentration antagoniste

K_B constante de dissociation de l'antagoniste B

Equation de Schild : $\log (\text{dose ratio} - 1) = \log [B] - \log K_B$

$[A'] / [A]$: rapport de doses de l'agoniste ou dose ratio

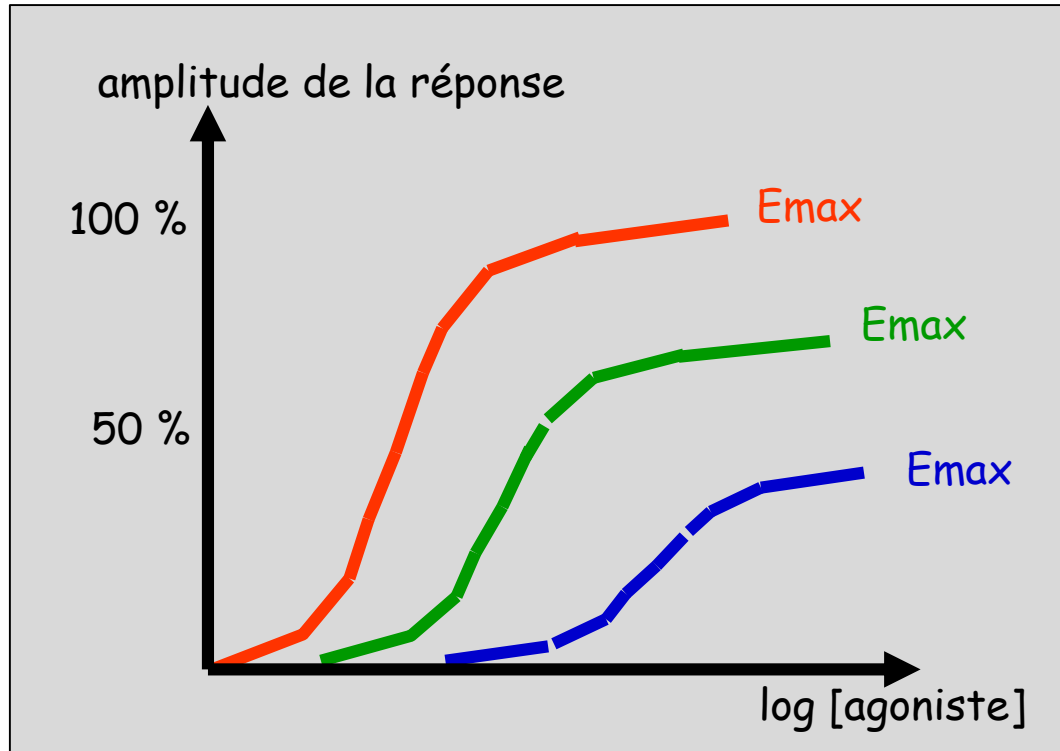
Antagoniste non compétitif

Liaison de l'antagoniste sur un site **différent** de celui de l'agoniste

Modulation allostérique du récepteur

Diminution de l'affinité agoniste-récepteur

Diminution de l' E_{max} en présence de l'antagoniste



Courbe effet / dose de l'agoniste en absence de l'antagoniste

Courbe effet / dose de l'agoniste en présence d'une concentration 1 de l'antagoniste

Courbe effet / dose de l'agoniste en présence d'une concentration 2 de l'antagoniste