

# Pharmacologie générale

## 2. Récepteurs et cibles moléculaires

- Aspects généraux
- Aspects cinétiques
- Aspects moléculaires
- Régulation



Université d'Abomey-Calavi  
Cotonou, Bénin



*Une très grande partie du contenu de ces diapositives est reprise du cours de Pharmacologie générale du Professeur E. Hermans*

## 2. Récepteurs et cibles moléculaires

### 2.1. Aspects généraux

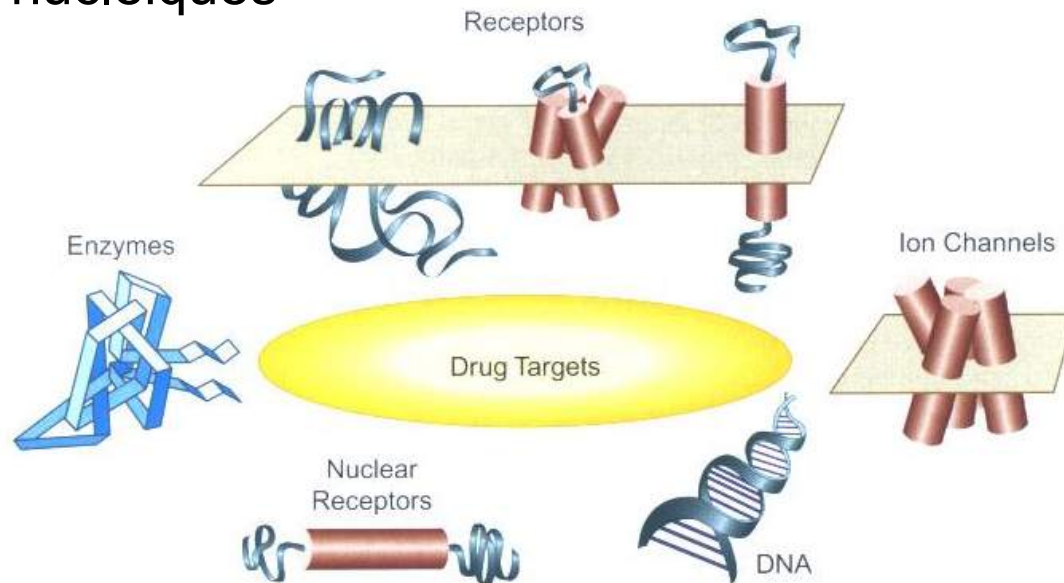
- types de cibles
  - sélectivité et spécificité
- récepteurs aux médiateurs
  - notion d'agonisme et d'antagonisme
- canaux ioniques
- transporteurs
- acides nucléiques

# La notion de récepteur

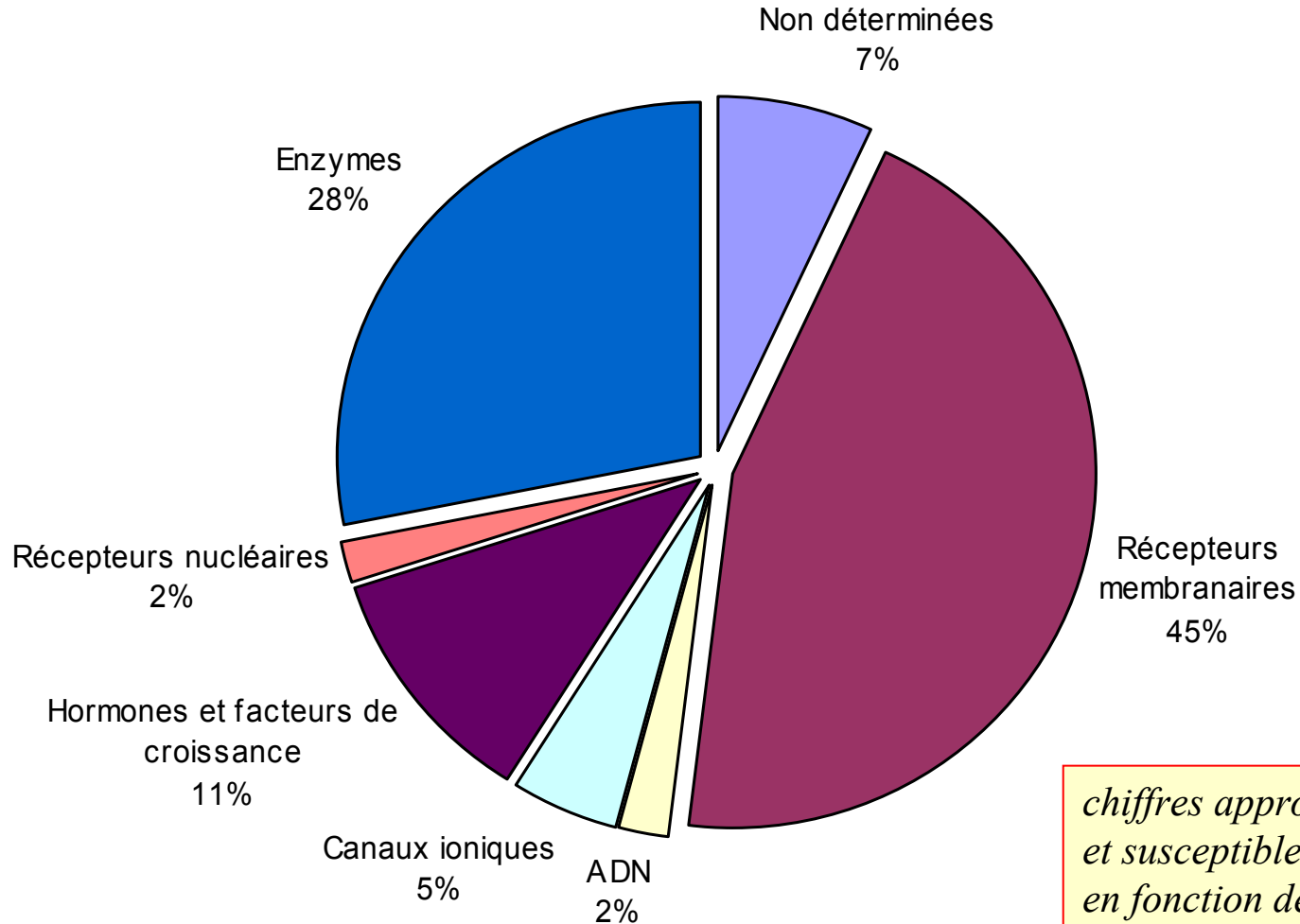
- Le récepteur est une macromolécule dont la structure tridimensionnelle présente un domaine particulier, complémentaire de la structure du médicament (cfr. serrure et clé).
- Dans l'organisme, le médicament interagit préférentiellement avec un récepteur, et de cette interaction découlent ses effets pharmacologiques.
- Deux aspects essentiels dans l'interaction médicament-récepteur:
  - Le récepteur "lie" le médicament plus ou moins sélectivement.
  - Cette liaison est l'évènement initial qui conduit à la réponse pharmacologique.
- Principales cibles moléculaires des médicaments :

# Principales cibles des médicaments

- Les récepteurs aux transmetteurs
- Les canaux ioniques (ligand-dépendant ou voltage-dépendant)
- Les enzymes (de synthèse ou de catabolisme)
- Les transporteurs (de nutriments, de transmetteurs ou d'ions)
- Les acides nucléiques



# Répartition des cibles en fonction du nombre de médicaments actuels



*chiffres approximatifs  
et susceptibles de changer  
en fonction des découvertes  
futures*

# Notions de sélectivité et de spécificité

Sélectivité : interaction préférentielle avec une cible particulière

*on parlera de sélectivité d'interaction*

*exemple* : le salbutamol interagit préférentiellement avec le récepteur  $\beta_2$  adrénergique (par rapport à  $\beta_1$  )

Spécificité : action limitée à un mécanisme biologique précis

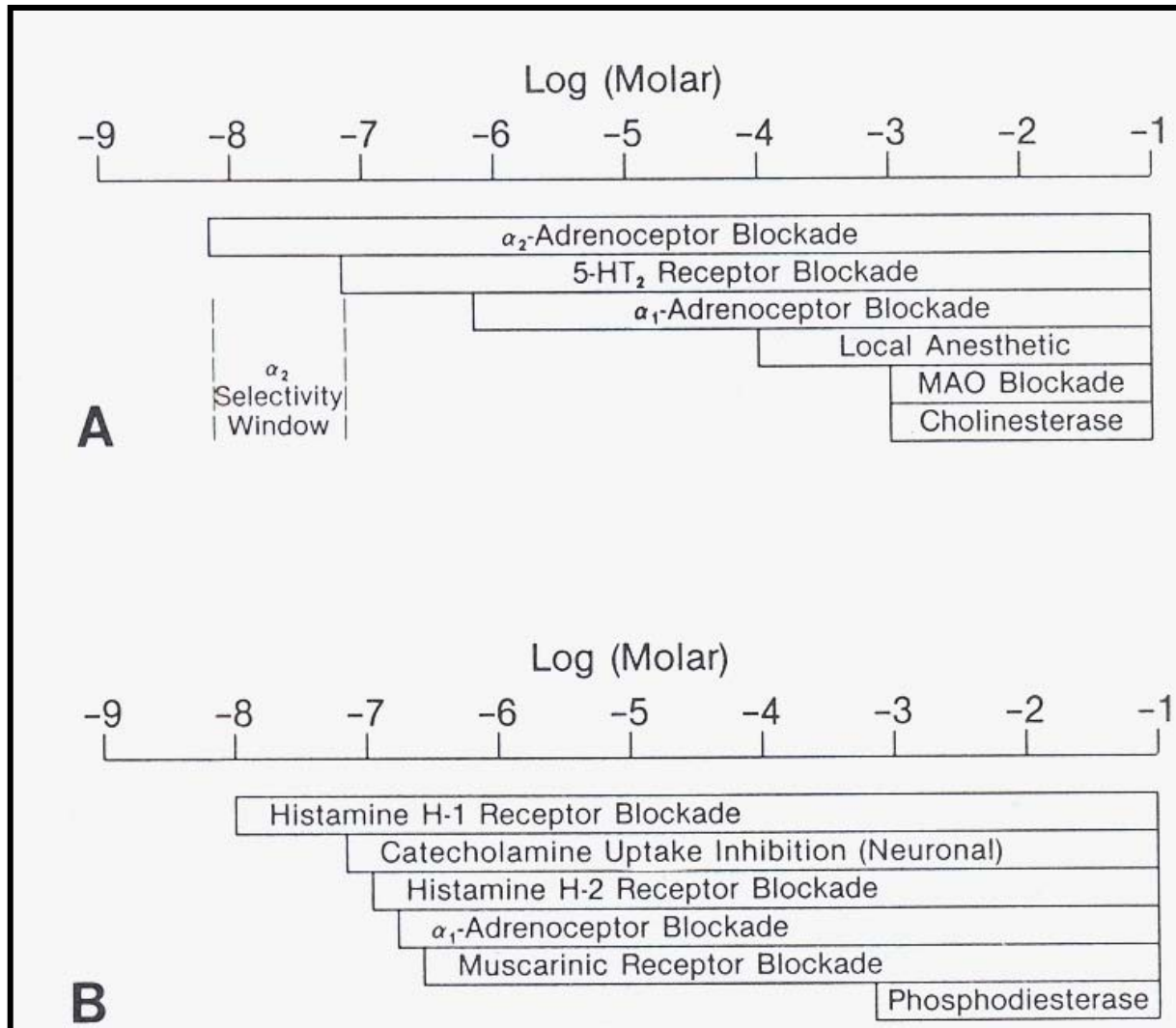
*on parlera de spécificité d'effet*

*exemple* : les substances antiasthmatiques ont un effet spécifique sur les bronches

- *Important pour comprendre l'existence d'effets secondaires (et éventuellement indésirables).*
- *Sélectivité et spécificité sont aussi importantes que la puissance du médicament. (il vaut mieux 500 mg d'une substance sélective que 3 mg d'une substance peu sélective!)*
- *La sélectivité absolue n'existe pas.*

# Notions de sélectivité et de spécificité

La notion de sélectivité est fondamentale en pharmacologie

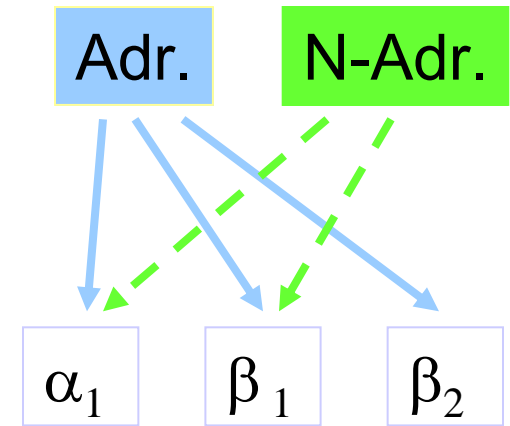
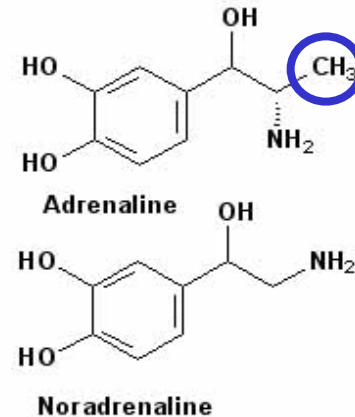


*Yohimbine*  
(inhibe la vasoconstriction)

*Amitriptyline*  
(antidépresseur)

# Notions de sélectivité et de spécificité

## Exemple : récepteurs adrénergiques



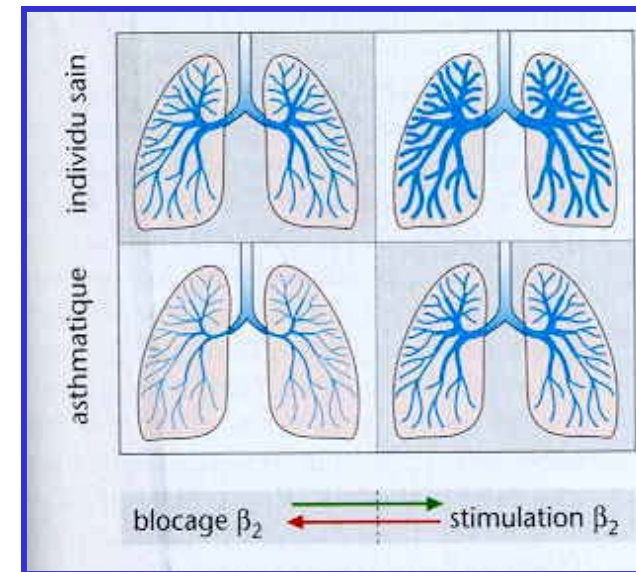
$\alpha$  : petites artérioles (contraction)  
: utérus (contraction)

$\beta_1$  : cœur (accélère, augmente la force)

$\beta_2$  : bronche (relaxation)  
: utérus (relaxation)

⇒ Cible pharmacologique importante !

Exemple : l'asthme, utilisation de substances activant les récepteurs  $\beta_2$  (uniquement!)

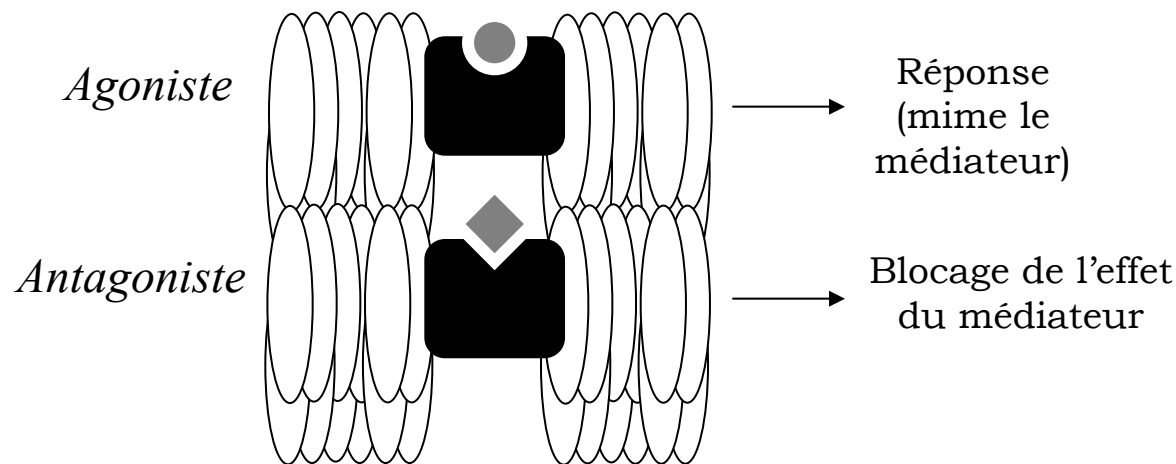




# Types de cibles moléculaires du médicament

## 1. Les récepteurs aux médiateurs

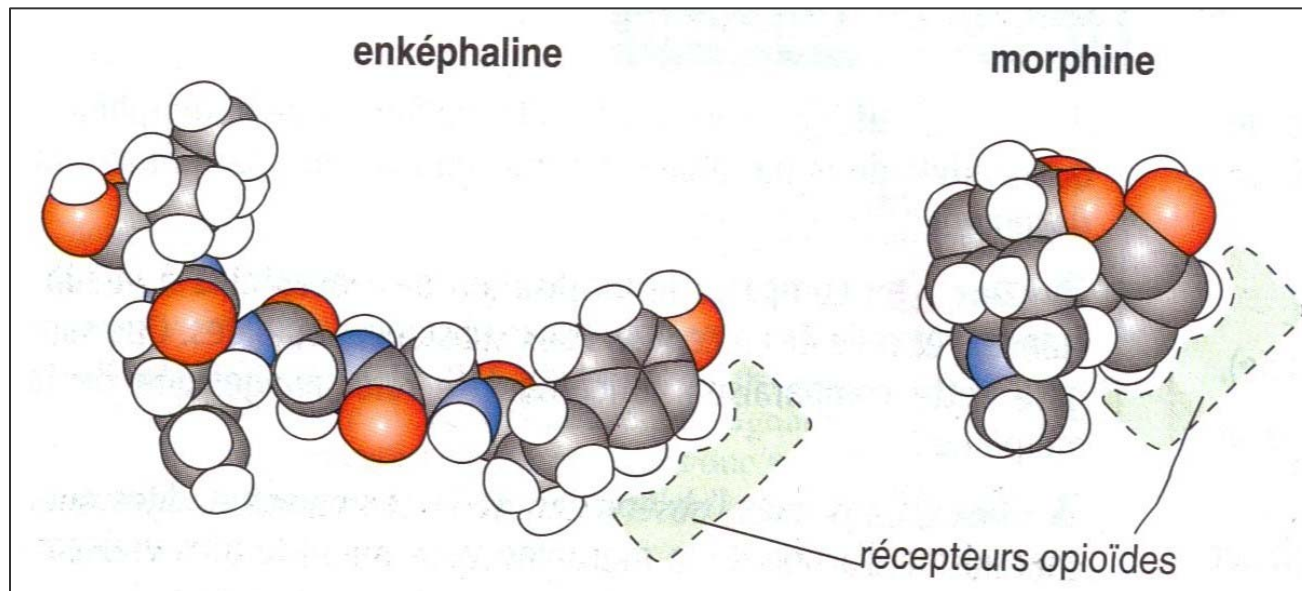
- Les agonistes et les antagonistes sont des substances qui se fixent sur les récepteurs aux médiateurs et qui miment les effets du médiateur ou en entravent la fixation.
  - *Les antihistaminiques sont des antagonistes des récepteurs de l'histamine et bloquent les effets de l'histamine libérée lors des réactions allergiques.*
  - *La morphine est un agoniste des récepteur des enképhalines et mime l'effet de ces peptides impliqués dans le contrôle inhibiteur de la transmission de la douleur.*



# Types de cibles moléculaires du médicament

## 1. Les récepteurs aux médiateurs

- Les agonistes et les antagonistes sont des substances qui se fixent sur les récepteurs aux médiateurs et qui miment les effets du médiateur ou en entravent la fixation.
  - *Les antihistaminiques sont des antagonistes des récepteurs de l'histamine et bloquent les effets de l'histamine libérée lors des réactions allergiques.*
  - *La morphine est un agoniste des récepteur des enképhalines et mime l'effet de ces peptides impliqués dans le contrôle inhibiteur de la transmission de la douleur.*



# Notions d'agonisme et d'antagonisme

- *Définition :*

- Tous deux interagissent avec la cible (le récepteur). Ils sont tous deux des **ligands** de ce récepteur.
- l'agoniste mime l'effet du neurotransmetteur (agoniste physiologique, agoniste endogène); il active donc le récepteur
- L'antagoniste n'active pas le récepteur. Mais en s'y fixant, il empêche l'agoniste de l'activer.

- *Exemple :*

- L'acétylcholine est l'**agoniste** physiologique des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. C'est l'agoniste endogène.
- La nicotine agit comme un **agoniste** au niveau des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. C'est une agoniste 'exogène'.
- Le curare se comporte comme un **antagoniste** : se fixant au récepteur nicotinique, il bloque l'action de la nicotine et de l'acétylcholine.



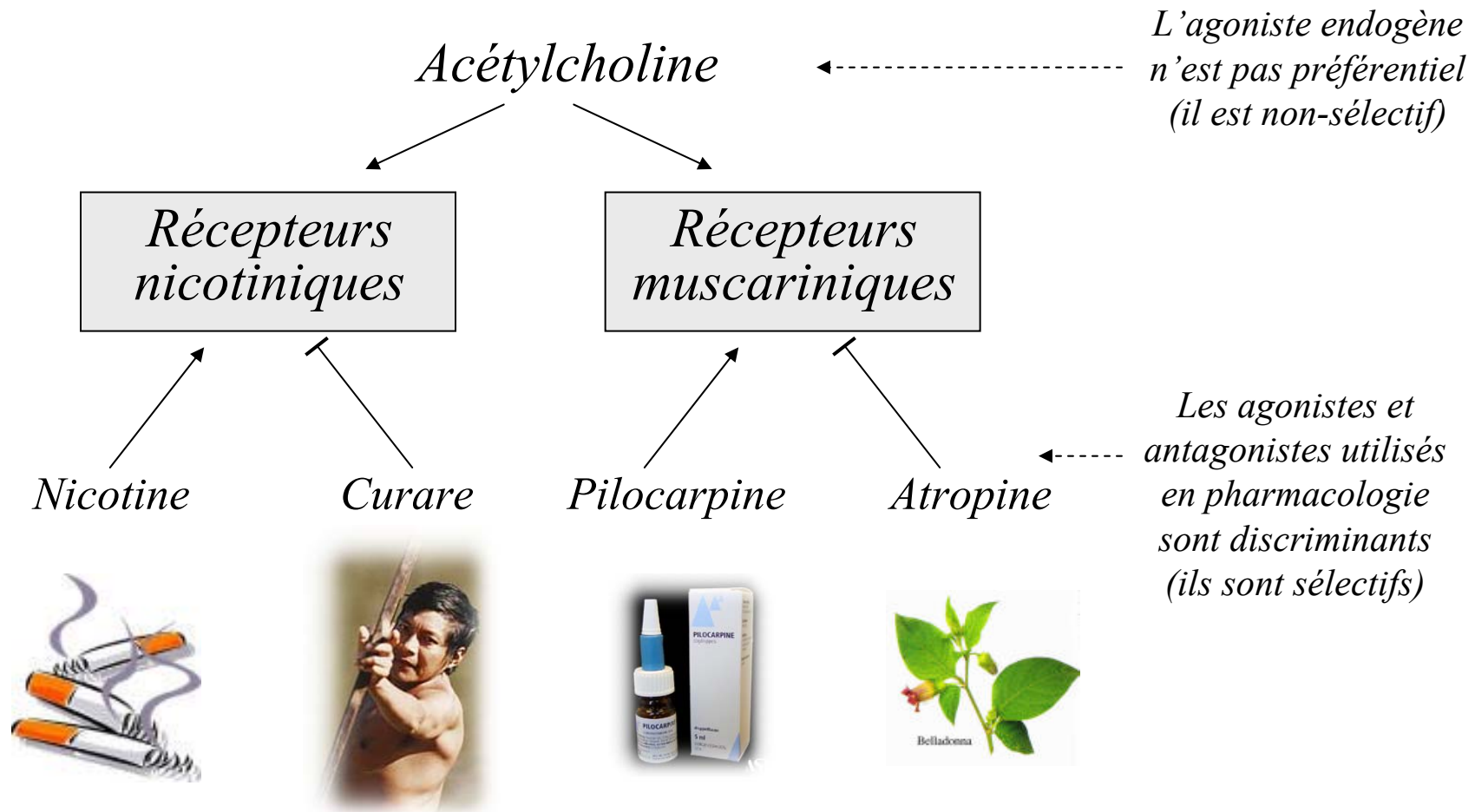
*Le curare,  
un poison  
'paralysant'*



*La nicotine,  
un stimulant  
central*

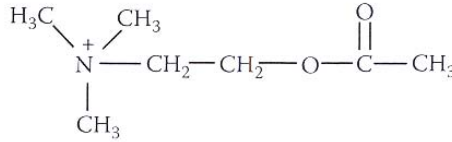
# Multiplicité de récepteurs pour un même ligand

- Exemple : l'acétylcholine active les récepteurs *muscariniques* et les récepteurs *nicotiniques*

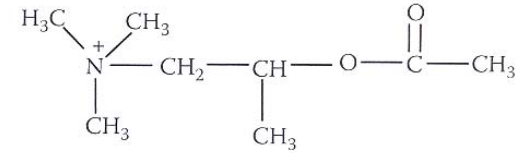


# Agonistes sélectifs et non-sélectifs

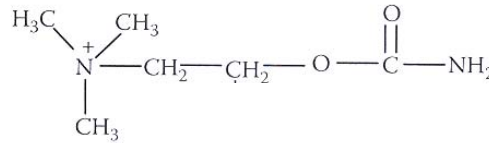
## Agonistes non-sélectifs



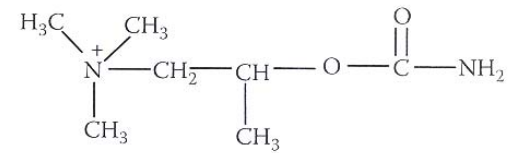
Acetylcholine



Methacholine  
(acetyl-beta-methylcholine)



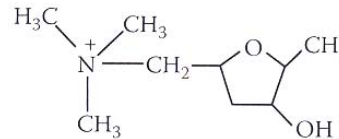
Carbachol  
(carbamoylcholine)



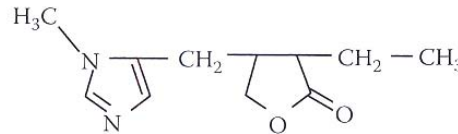
Bethanechol  
(carbamoyl-beta-methylcholine)

## Agonistes sélectifs

Action Primarily Muscarinic

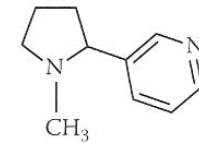


Muscarine

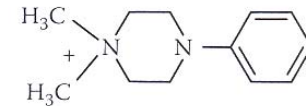


Pilocarpine

Action Primarily Nicotinic



Nicotine



Dimethylphenylpiperazinium  
(DMPP)

# Agonisme moléculaire – Agonisme fonctionnel

- L'agonisme moléculaire (ou agonisme pharmacodynamique) fait référence à une propriété au niveau moléculaire : fixation et activation du récepteur.

*Exemple de la nicotine sur le récepteur de l'acétylcholine*

- l'agoniste fonctionnel fait référence à l'effet de la substance sur l'organe (ou l'organisme tout entier)

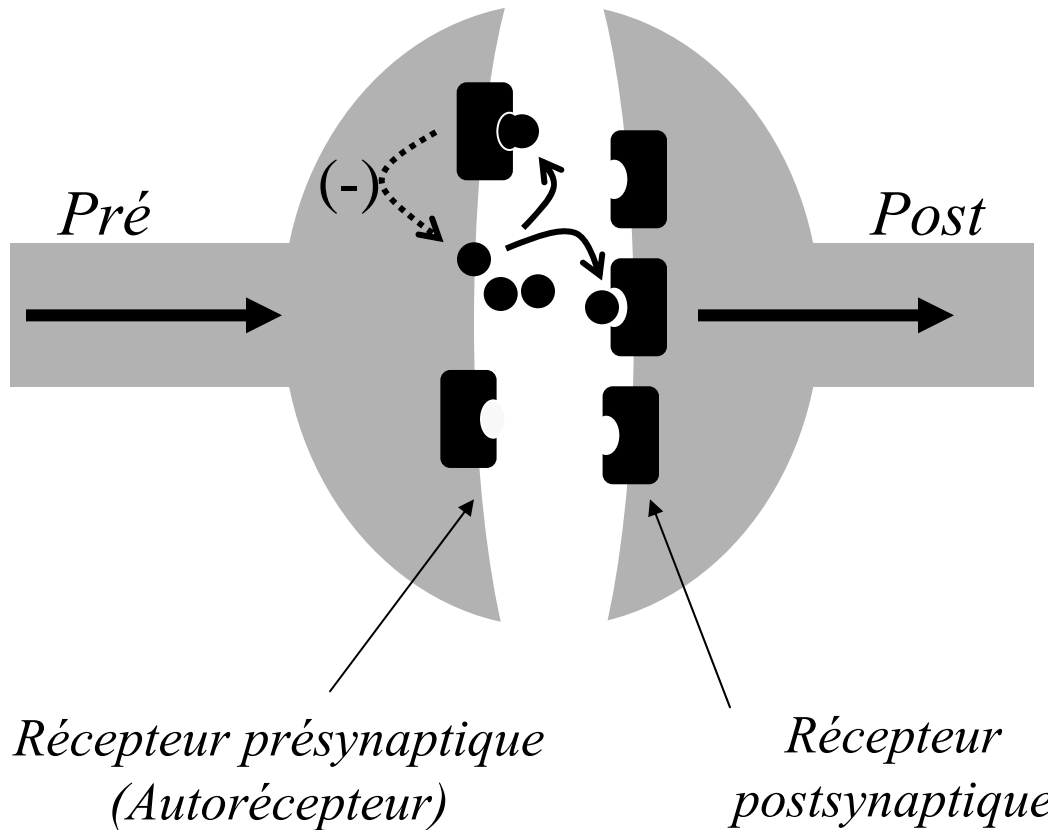
*Exemple : la morphine et l'aspirine ont des propriétés anti-douleur, sans agir sur la même cible*

- Il existe de nombreux exemples d'antagonisme fonctionnel en pharmacologie.

## Distinction entre l'effet pharmacodynamique et l'effet thérapeutique

Par définition, les antiagrégants plaquettaires ont, in vitro, un effet pharmacologique (pharmacodynamique) correspondant à **l'inhibition de l'agrégation plaquettaire**. L'effet thérapeutique qui résulte de cet effet pharmacologique est de **diminuer le risque de thrombose et d'embolie artérielles**.

# Notion d'autorécepteur



*Localisés du côté  
présynaptique (sur la cellule  
qui libère le transmetteur), les  
autorécepteurs opèrent un  
contrôle négatif sur la  
libération de ce transmetteur  
(mécanisme de feedback)*

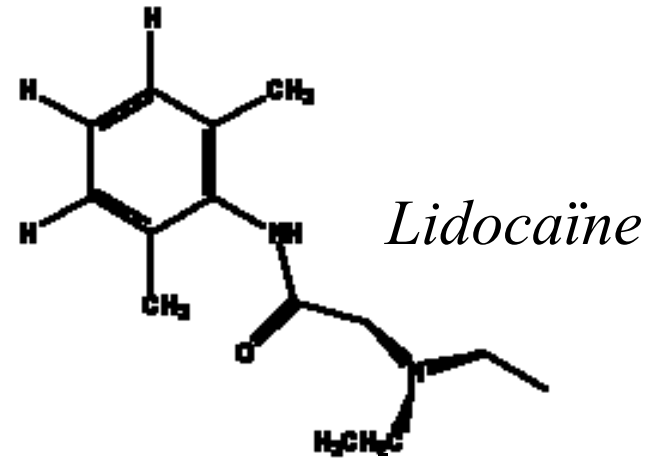
Les agonistes des  
autorécepteurs diminuent  
la transmission du signal !

# Types de cibles moléculaires du médicament

## 2. Les canaux ioniques

*Exemple : le canal sodique*

- Perméabilité **modulée par le voltage** .
- Permet la propagation du potentiel d'action dans tissus excitables.
- Son inhibition bloque le passage du potentiel d'action.
- Exemple : les anesthésiques locaux = bloqueurs des canaux sodiques.



Les anesthésiques qui sont capables de bloquer (par encombrement purement moléculaire) les canaux sodiques voltage dépendants, (responsables de la propagation du potentiel d'action).



# Types de cibles moléculaires du médicament

## 3. Les enzymes (I)

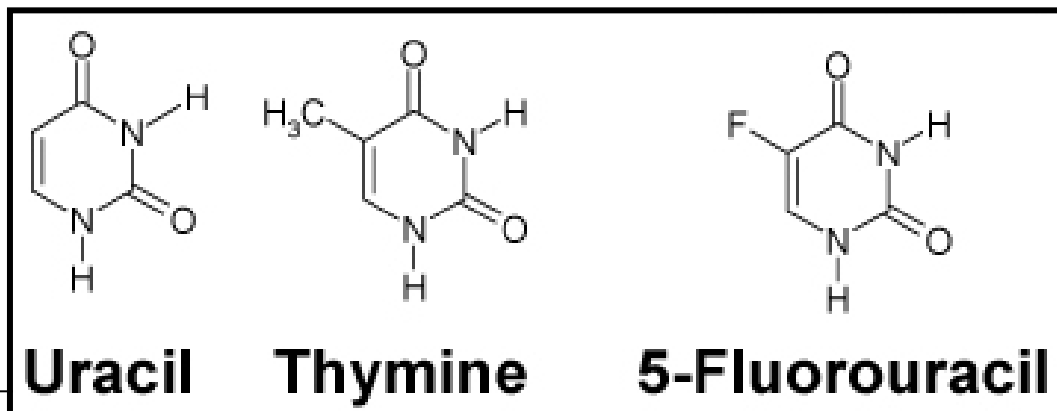
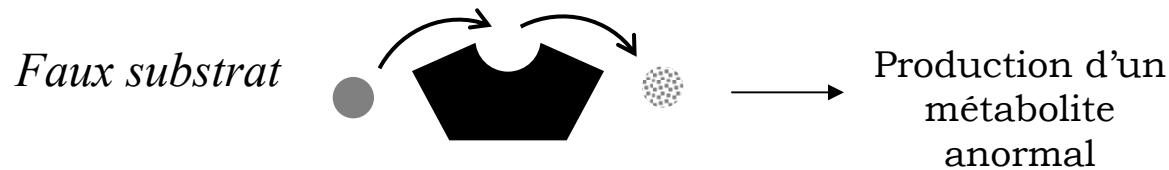
- Certaines substances sont des substrats analogues au substrat naturel et qui agissent en qualité d'inhibiteurs de l'enzyme au niveau de son site d'activité. Cette inhibition peut être réversible ou irréversible.
  - *Un exemple d'inhibiteur irréversible est le cas de l'aspirine qui inhibe une cyclooxygénase impliquée dans la production endogène de médiateurs de l'inflammation.*
  - *Un exemple d'inhibiteur réversible est le cas de la néostigmine, inhibiteur de l'acétylcholine estérase (responsable de la dégradation de l'acétylcholine). La néostigmine prolonge l'action de l'acétylcholine endogène.*



# Types de cibles moléculaires du médicament

## 3. Les enzymes (II)

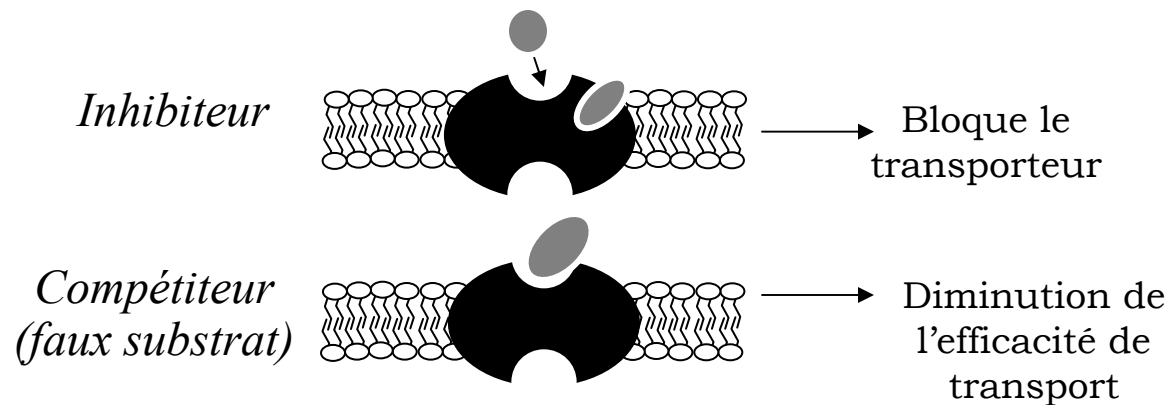
- Certaines substances sont **de faux substrats** des enzymes. Ces substances sont modifiées par l'enzyme en un produit de réaction qui lui-même interfère dans une fonction de la cellule.
  - *Un exemple de faux substrat est le cas du fluorouracil, analogue de l'uracile. Se substituant à l'uracile, cette substance emprunte la voie de synthèse des purines, mais le dérivé purine produit ne convient pas comme base dans la synthèse de l'ADN. Cette substance bloque la mitose est donc utilisée comme antimitotique dans le traitement des cancers.*



# Types de cibles moléculaires du médicament

## 4. *Les transporteurs*

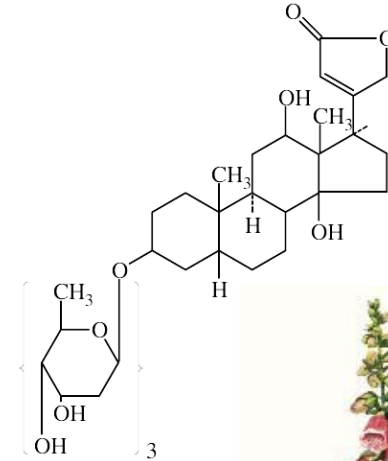
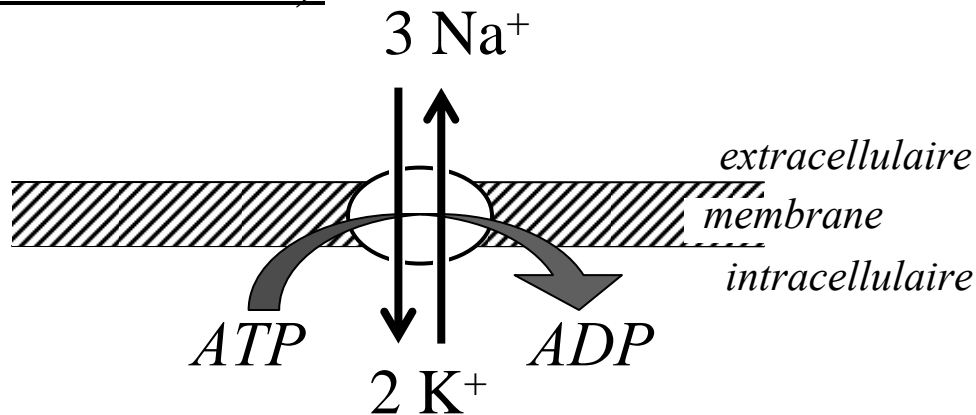
- Certains médicaments agissent en diminuant l'activité de transporteurs de médiateurs (catécholamines, glutamate, sérotonine), ou de transporteurs d'ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ).
- Soit, ils bloquent l'activité de ce transporteur, soit, ils sont eux-mêmes des substrats et entrent en compétition avec le substrat endogène.



# Transporteurs comme cible de médicaments

*exemple : les glucosides cardiotoniques*

La pompe à sodium  
( $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase)

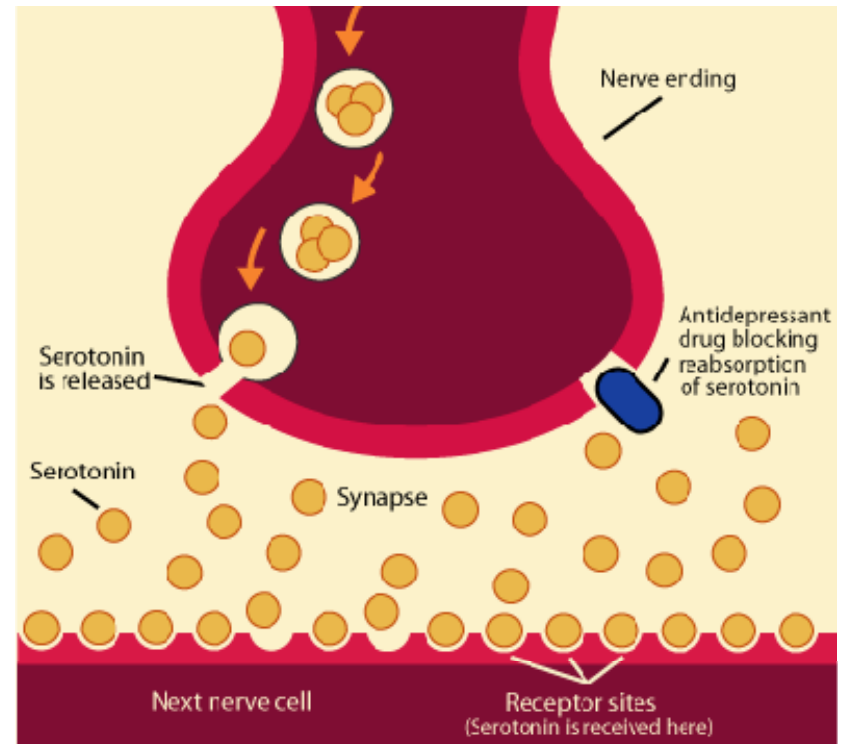
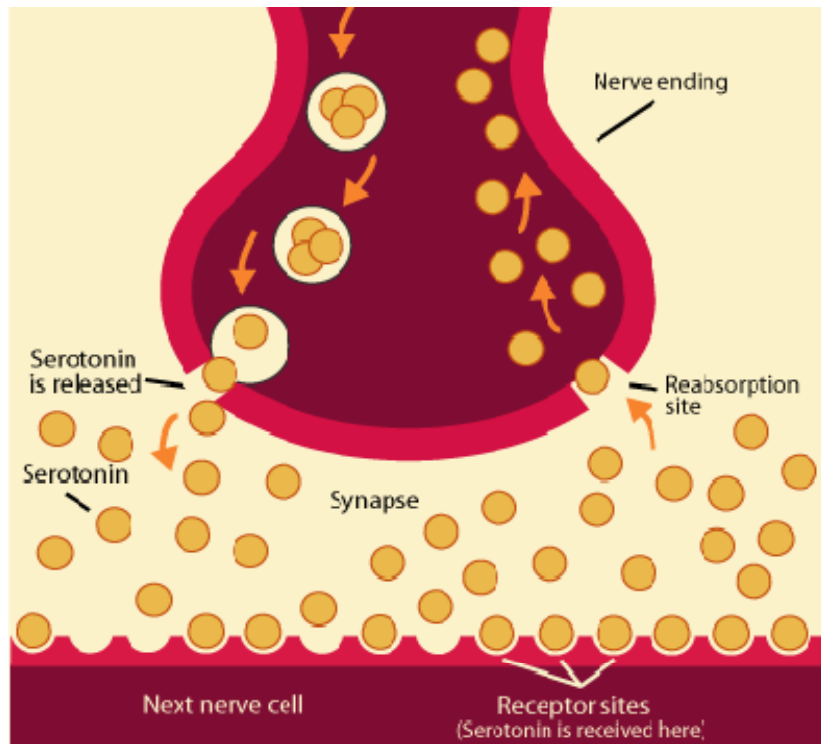


*Les glucosides digitaliques (digoxine, digitoxine) inhibent la pompe à sodium*

- *le sodium n'est plus expulsé de la cellule, sa concentration augmente*
- *l'activité de l'échangeur  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  (expulse la calcium de la cellule) diminue*
- *le  $\text{Ca}^{2+}$  augmente*
- *la contraction musculaire est renforcée*

# Transporteurs comme cible de médicaments

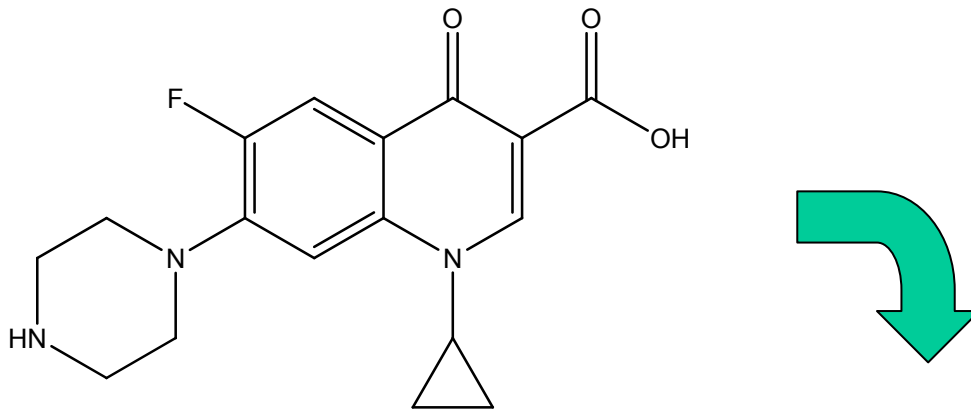
*Un antidépresseur bloque la recapture de la sérotonine*



# Types de cibles moléculaires du médicament

## 5. Les acide nucléiques

- Certains médicaments agissent directement au niveau des acides nucléiques ou de complexes acides-nucléiques-enzymes
  - antibiotiques de la classe des fluoroquinolones (voir exemple)
  - nombreux anticancéreux (anthracyclines, moutardes azotées ...)
- D'autres agissent en stimulant ou inhibant la traduction/transcription de gènes.

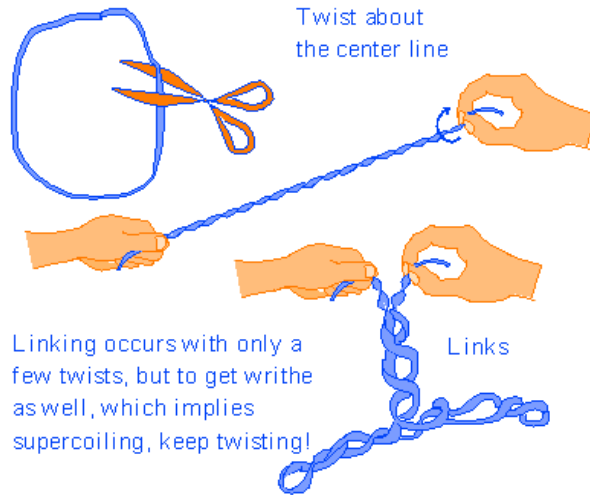


### TOP 400 PRESCRIPTION DRUGS BY SALES

Rank 2002	Brand name	2002 Sales (\$ in millions)	Disease/medical use	Company
35	Cipro	1,334	Bacterial infections	Bayer

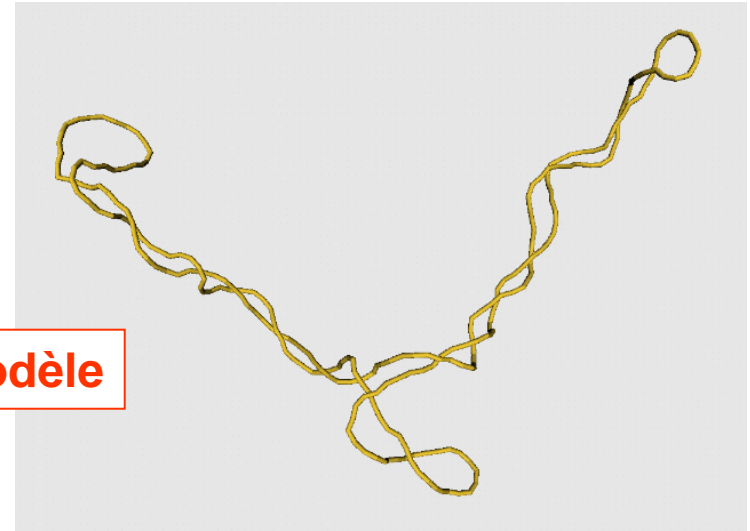
La bactérie doit sur-enrouler son ADN car il est trop long pour entrer dans le corps bactérien.....

### Supercoiling an Elastic band

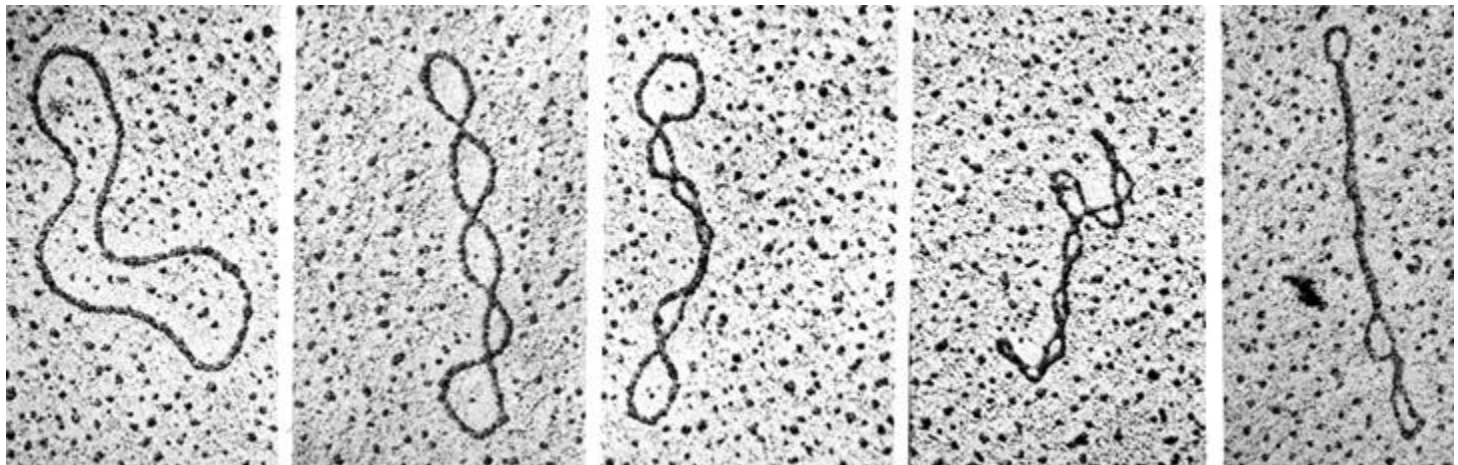


**Le jeu...**

**Le modèle**

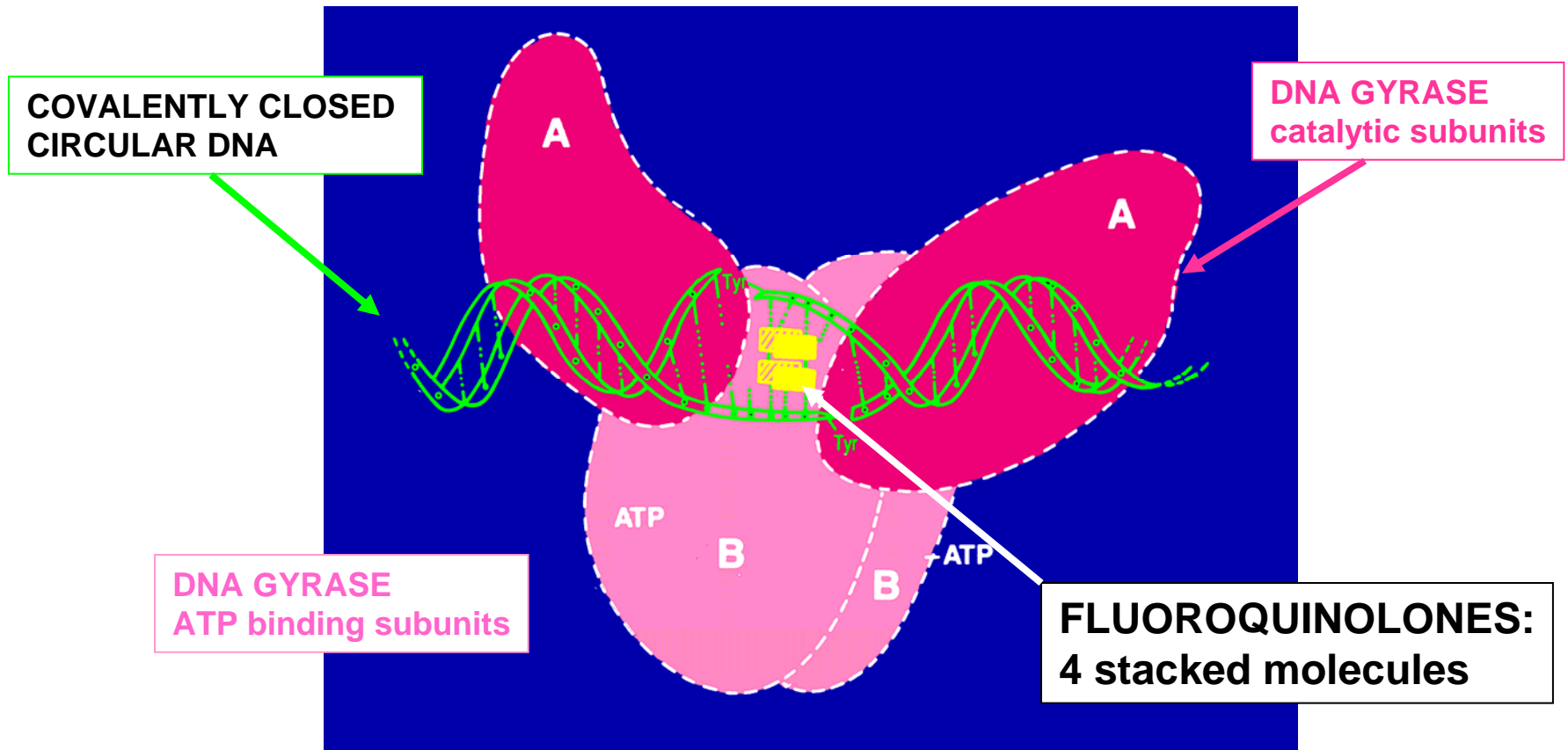


**La réalité  
vue au  
microscope  
électronique**



<http://sp.uconn.edu/~terry/229sp03/lectures/genetics1.html>

La ciprofloxacine est une molécule qui bloque la DNA-gyrase en se liant au DNA au moment de son ouverture...



(Shen, *in* Quinolone Antimicrobial Agents, 1993)



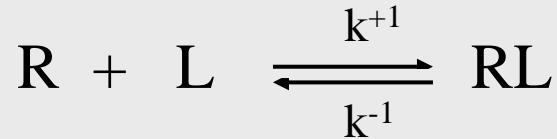


# 2. Récepteurs et cibles moléculaires

## 2.2. aspects cinétiques

- interaction simple ligand-récepteur
  - saturation
  - courbe dose effet et linéarisation (Scatchard)
- 2 ligands
  - compétition
  - agoniste – antagoniste – agoniste partiel
- réponse pharmacologique (aspects cinétiques)

# Étude de la liaison du médicament au récepteur



*association*

$$d[\text{RL}]/d_t = k^{+1} [\text{R}] [\text{L}]$$

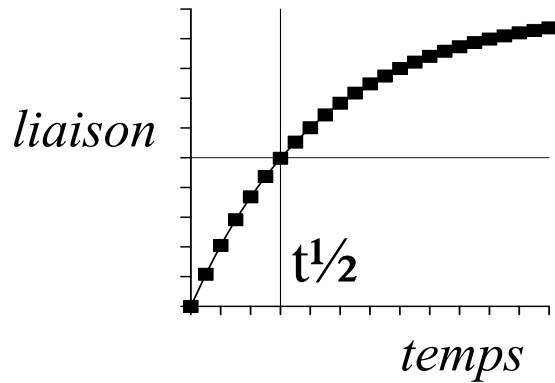
*dissociation*

$$-d[\text{RL}]/d_t = k^{-1} [\text{RL}]$$

*$k^{+1}$  et  $k^{-1}$  sont les constantes  
d'association et de dissociation*

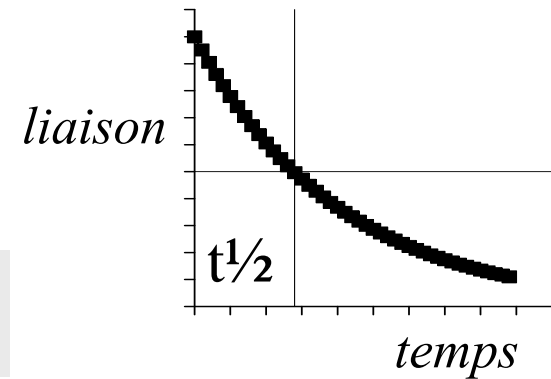
# Cinétiques d'association et de dissociation

## *Cinétique d'association*



$$k = 0.693 / t^{1/2}$$

## *Cinétique de dissociation*



$$RL = RL_{\max} \times (1 - e^{(-k^{+1} * t)})$$

$$RL = RL_{\max} \times e^{-k^{-1} * t}$$

Avec  $k^{+1}$  = constante de vitesse d'association  
 $k^{-1}$  = constante de vitesse de dissociation  
 $t$  = temps

# Cinétique de dissociation

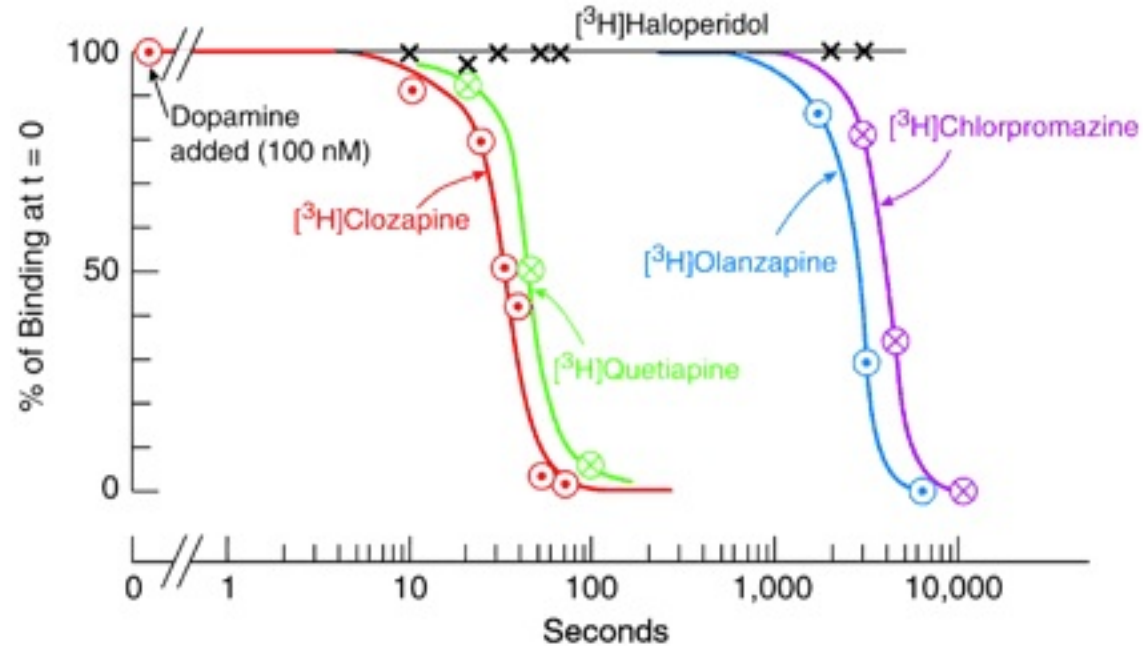
*La dissociation du médicament de sa cible peut avoir des influence sur la durée de l'effet. Même si le médicament n'est plus dans le sang, ses effets pourraient perdurer...*

*Bien connu pour les antipsychotiques.*

*La quétiapine se détache rapidement du récepteur D<sub>2</sub>*

*La chlorpromazine montre une dissociation plus lente.*

**FIGURE 5. Rapid Displacement of [<sup>3</sup>H]Clozapine and [<sup>3</sup>H]Quetiapine by Dopamine at D<sub>2</sub> Receptors<sup>a</sup>**



<sup>a</sup> The addition of 100 nM dopamine displaced [<sup>3</sup>H]clozapine and [<sup>3</sup>H]quetiapine from human cloned D<sub>2</sub> receptors about 100 times more quickly than [<sup>3</sup>H]haloperidol, [<sup>3</sup>H]olanzapine, and [<sup>3</sup>H]chlorpromazine.

# Situation à l'équilibre

*association*

=

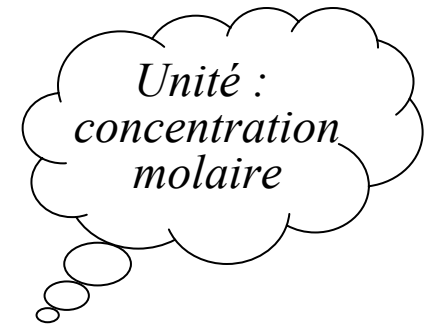
*dissociation*

$$d[\text{RL}]/d_t = k^{+1} [\text{R}] [\text{L}]$$

$$-d[\text{RL}]/d_t = k^{-1} [\text{RL}]$$

$$k^{+1} [\text{R}] [\text{L}] = k^{-1} [\text{RL}]$$

$$\frac{k^{-1}}{k^{+1}} = K_D = \frac{[\text{R}] [\text{L}]}{[\text{RL}]}$$



*K<sub>D</sub> est la constante  
d'équilibre de dissociation  
exprimée en M*

**K<sub>D</sub> élevé → dissociation rapide = faible affinité**  
**K<sub>D</sub> faible → dissociation lente = forte affinité**

# Constantes de dissociation ligands-récepteurs

<u>Ligand :</u>	<u>K<sub>D</sub></u>	<u>log</u>
Acétylcholine (récepteur nicotinique)	1 $\mu$ M	10 <sup>-6</sup>
Isoprénaline (récepteur bêta adrénergique)	0.1 $\mu$ M	10 <sup>-7</sup>
Prostacycline (récepteur PGI <sub>2</sub> )	10 nM	10 <sup>-8</sup>
Chlorpromazine (Récepteur dopaminergique D <sub>2</sub> )	1 nM	10 <sup>-9</sup>
Insuline (récepteur à l'insuline)	0.1 nM	10 <sup>-10</sup>
IgE (récepteur aux immunoglobulines)	10 pM	10 <sup>-11</sup>

*Notion de compatibilité entre concentration et affinité : relation directe entre la concentration physiologique des transmetteurs et leur affinité pour leurs récepteurs*

*Notion de disponibilité biologique : un peptide est plus précieux qu'une amine simple et se fixera donc avec une meilleure affinité à ses cibles.*

# Caractérisation d'un récepteur

*Comment caractériser l'affinité d'une nouvelle substance pour un récepteur connu ?*

*Où l'on sait la présence du récepteur d'intérêt*

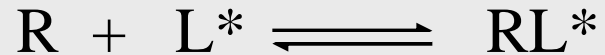
Méthodologie : incuber l'échantillon biologique avec la substance radiomarquée (à diverses concentrations et mesurer sa fixation)

*Substance marquée (radioactive)  
dont on souhaite étudier les  
propriétés de liaison  $L^*$*



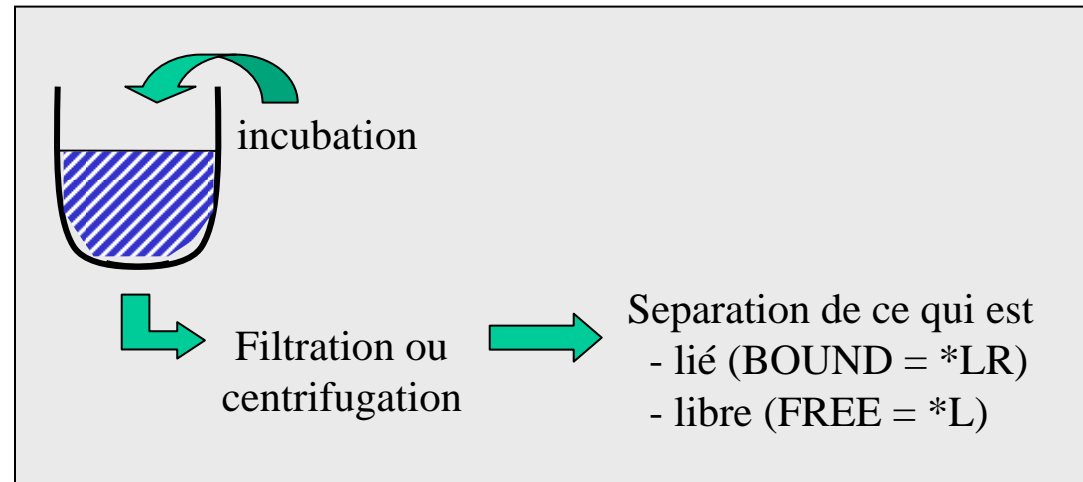
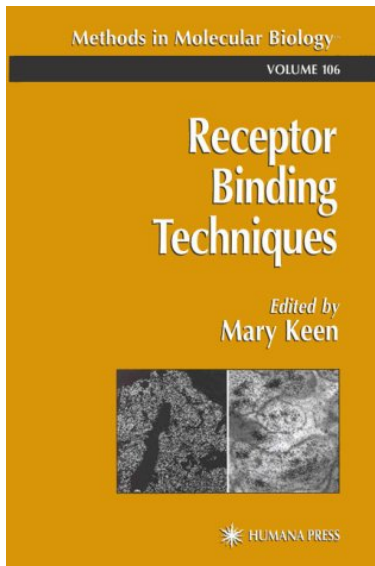
# Étude de la liaison du médicament au récepteur

*En pratique...  
...la technique du binding  
(mesure de la liaison de  
radioligand)*



\* L = ligand marqué radioactivement ( $^3\text{H}$ ;  $^{125}\text{I}$ )

R = matériel biologique où existe le récepteur



*Notions de réversibilité,  
saturabilité, sélectivité,...*

# Passer de la mesure à la caractérisation (1)...

$$K_D = \frac{[R] [L]}{[RL]}$$

je connais **[L]** et **[RL]** mais pas **[R]**

mais je peux dire que:

$$[R_t] = [R] + [RL]$$

où  $R_t$  = le maximum  
de récepteurs

et je peux combiner :

$$K_D = \frac{([R_t] - [RL]) [L]}{[RL]}$$

## Passer de la mesure à la caractérisation (2)...

$$K_D = \frac{([R_t] - [RL]) [L]}{[RL]}$$

et je vais transformer  
pour extraire **[RL]**

$$K_D \times [RL] = ([R_t] - [RL]) [L]$$

$$K_D \times [RL] = ([R_t] \times [L]) - ([RL] \times [L])$$

$$K_D \times [RL] + [RL] \times [L] = ([R_t] \times [L])$$

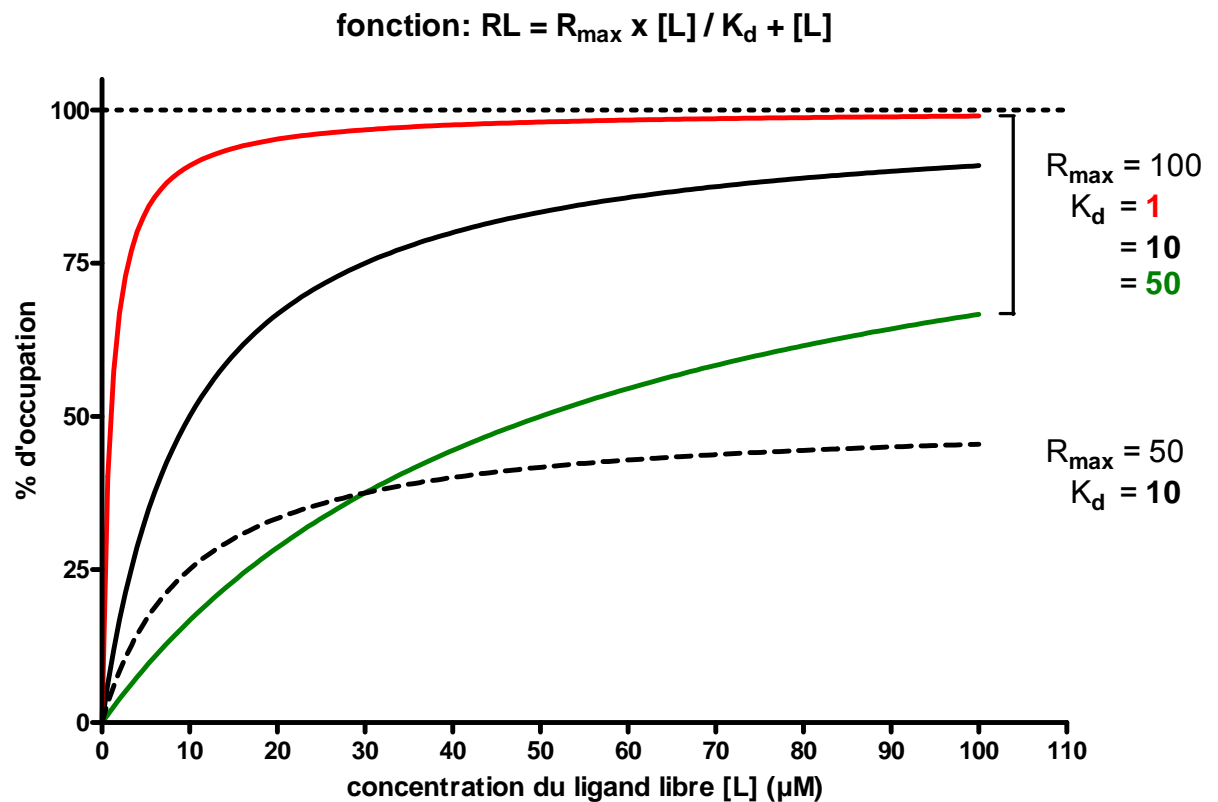
$$[RL] \times (K_D + [L]) = ([R_t] \times [L])$$

$$[RL] = \frac{([R_t] \times [L])}{(K_D + [L])}$$

j'exprime **[RL]** en fonction  
de **[L]** et de  $K_D$

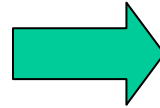
# Passer de la mesure à la caractérisation (3)...

$$[\mathbf{RL}] = \frac{([\mathbf{R}_t] \times [\mathbf{L}])}{(\mathbf{K}_D + [\mathbf{L}])}$$



# Représentation de Scatchard

$$[\mathbf{RL}] = \frac{([\mathbf{R}_t] \times [\mathbf{L}])}{(\mathbf{K}_D + [\mathbf{L}])}$$



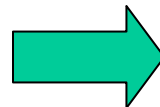
$$\mathbf{B} = \frac{\mathbf{B}_{\max} \times \mathbf{F}}{(\mathbf{K}_D + \mathbf{F})}$$

$$\mathbf{B} \times (\mathbf{K}_D + \mathbf{F}) = \mathbf{B}_{\max} \times \mathbf{F}$$

$$\mathbf{B} \times \mathbf{K}_D + \mathbf{B} \times \mathbf{F} = \mathbf{B}_{\max} \times \mathbf{F}$$

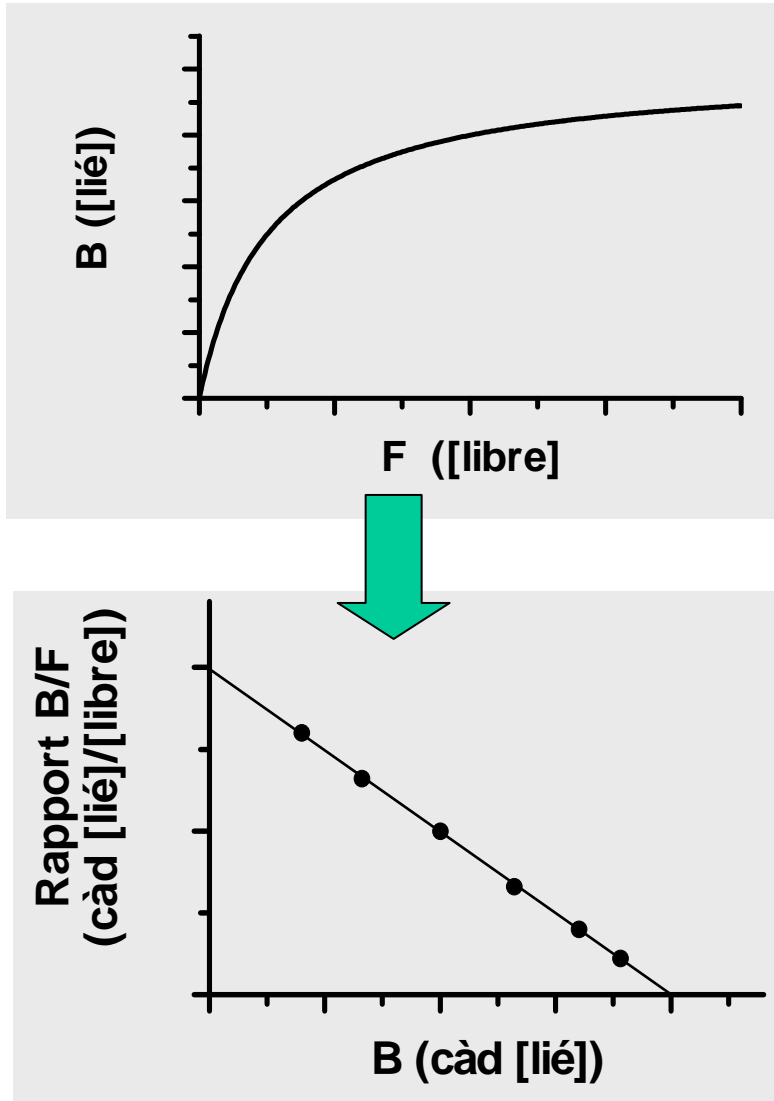
$$\frac{\mathbf{B} \times \mathbf{K}_D}{\mathbf{F}} + \frac{\cancel{\mathbf{B} \times \mathbf{F}}}{\cancel{\mathbf{F}}} = \mathbf{B}_{\max}$$

$$\frac{\mathbf{B} \times \mathbf{K}_D}{\mathbf{F}} = \mathbf{B}_{\max} - \mathbf{B}$$



$$\frac{\mathbf{B}}{\mathbf{F}} = \frac{\mathbf{B}_{\max}}{\mathbf{K}_D} - \frac{\mathbf{B}}{\mathbf{K}_D}$$

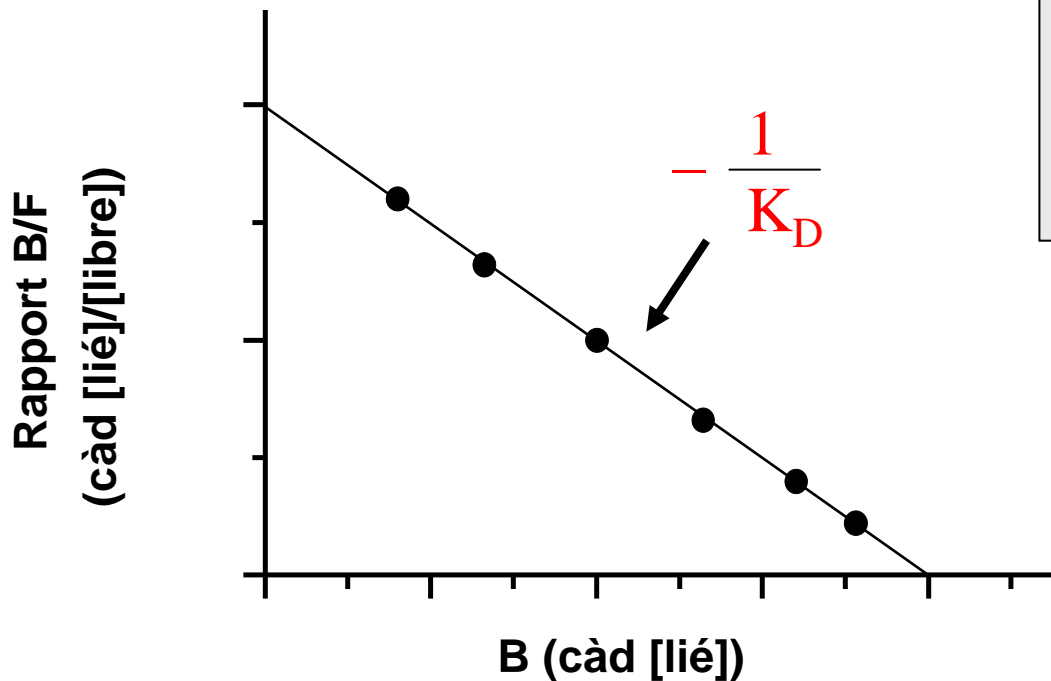
# Pourquoi "Scatchard" ?



- La représentation est linéaire et plus facile à interpréter
- La pente correspond à  $-1/K_D$
- L'intersection avec l'axe des X indique  $B_{max}$ .
- L'intersection avec l'axe des Y indique  $B_{max}/K_D$

# Pourquoi "Scatchard" ?

1. La pente = l'affinité (l'inverse de la dissociation)

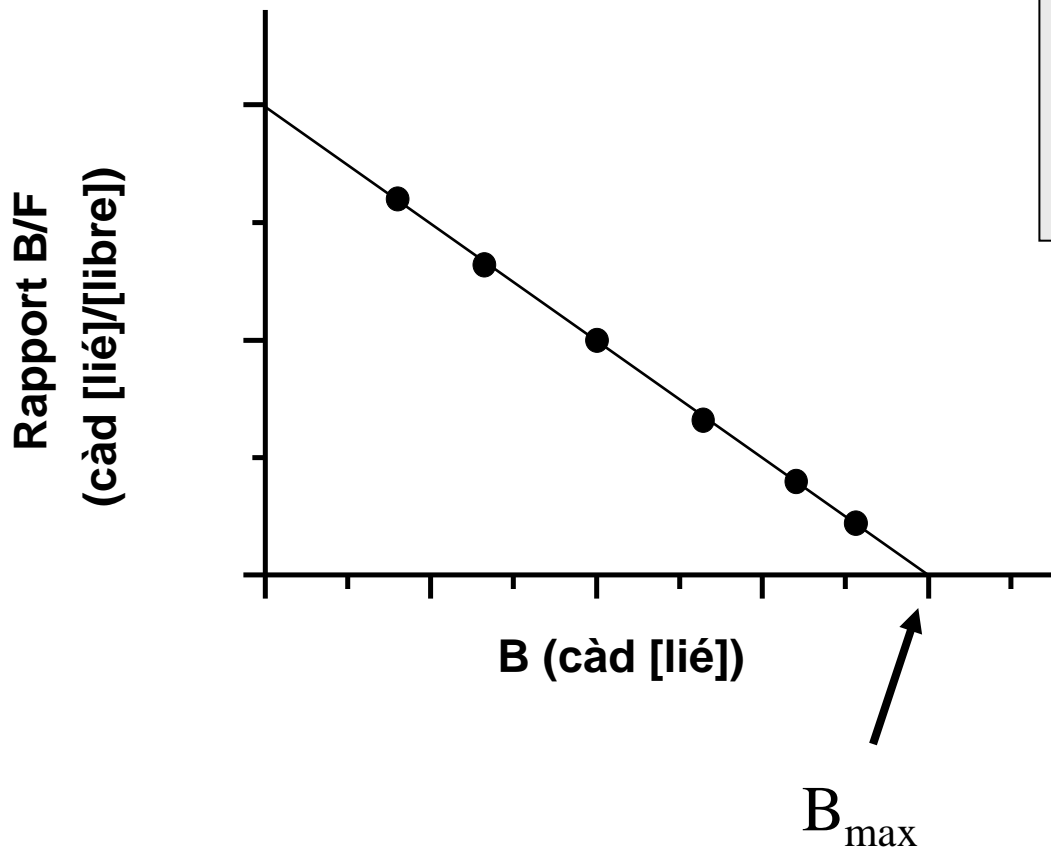


$$\frac{B}{F} = \frac{B_{\max}}{K_D} - \frac{B}{K_D}$$

$$Y = c - \frac{1}{K_D} * X$$

# Pourquoi "Scatchard" ?

2. L'interception de l'axe des X =  $B_{max}$



$$\frac{B}{F} = \frac{B_{max}}{K_D} - \frac{B}{K_D}$$

$$0 = \frac{B_{max}}{K_D} - \frac{B}{K_D}$$

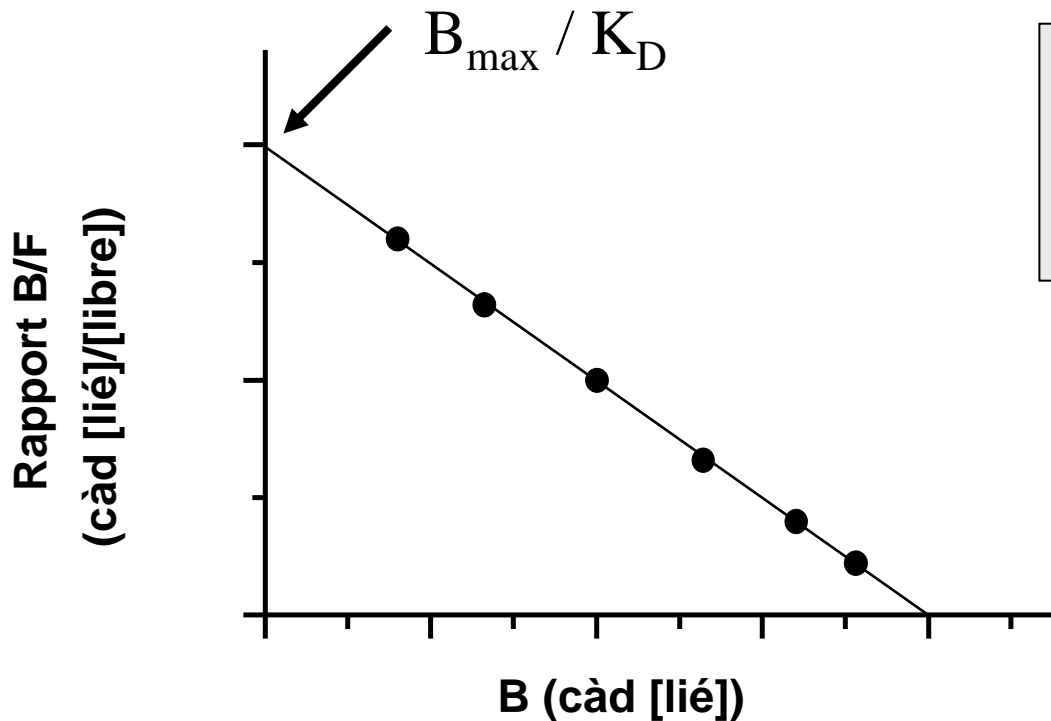
$$\frac{B}{K_D} = \frac{B_{max}}{K_D}$$

$$B = B_{max}$$



# Pourquoi "Scatchard" ?

3. L'interception de l'axe des Y =  $B_{max} / K_D$

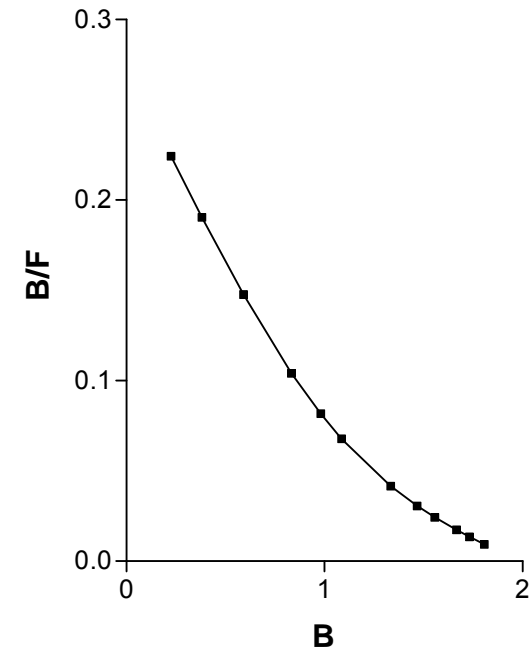
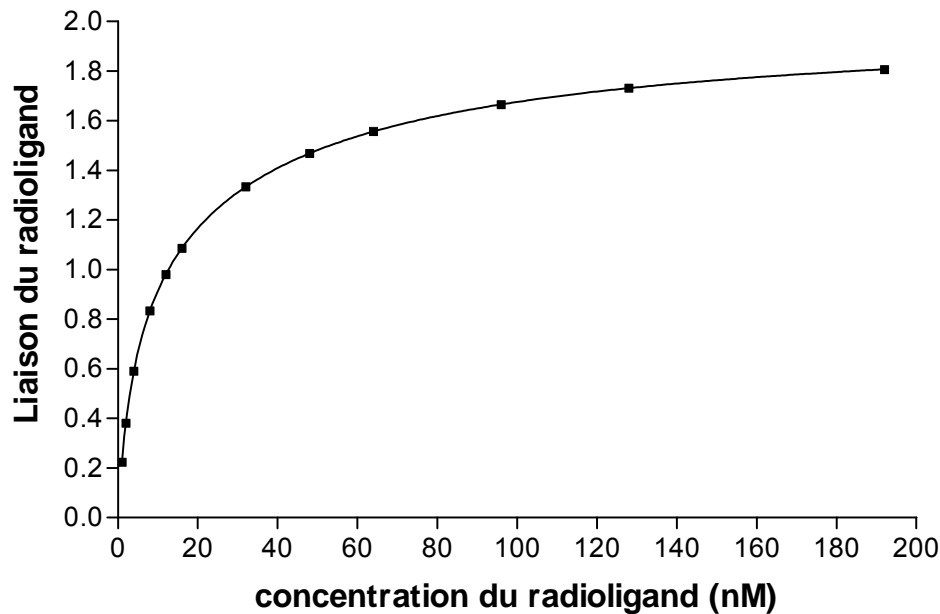


$$\frac{B}{F} = \frac{B_{max}}{K_D} - \frac{B}{K_D}$$

$$\frac{B}{F} = \frac{B_{max}}{K_D} - \frac{0}{K_D}$$

# Liaison simultanée aux deux types de récepteurs

[L*]	[L*R <sub>1</sub> ]	[L*R <sub>2</sub> ]	[L*R <sub>1</sub> ] + [L*R <sub>2</sub> ]	([L*R <sub>1</sub> ] + [L*R <sub>2</sub> ]) / [L*]
1,00	0,02	0,20	0,22	0,2244
2,00	0,05	0,33	0,38	0,1905
4,00	0,09	0,50	0,59	0,1477
8,00	0,17	0,67	0,83	0,1042
12,00	0,23	0,75	0,98	0,0817
16,00	0,29	0,80	1,09	0,0679
32,00	0,44	0,89	1,33	0,0417
48,00	0,55	0,92	1,47	0,0306
64,00	0,62	0,94	1,56	0,0243
96,00	0,71	0,96	1,67	0,0174
128,00	0,76	0,97	1,73	0,0135
192,00	0,83	0,98	1,81	0,0094



## CHARACTERIZATION AND LOCALIZATION OF ADENOSINE RECEPTORS IN RAT SPINAL CORD<sup>1</sup>

J. D. GEIGER,<sup>\*,2</sup> F. S. LABELLA,<sup>\*</sup> AND J. I. NAGY<sup>‡</sup>

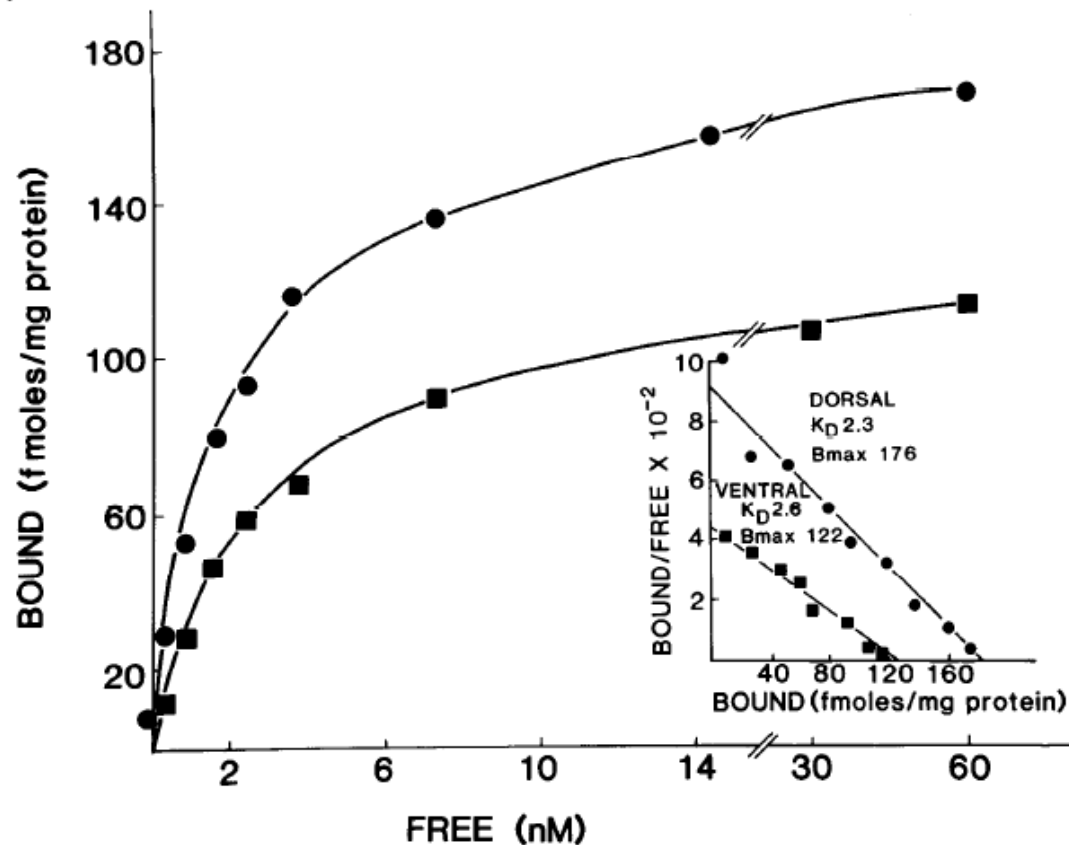
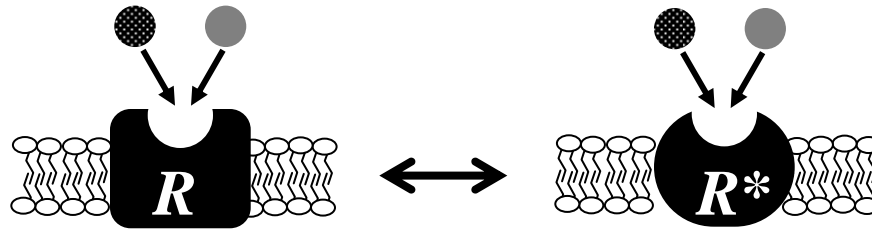


Figure 1. Saturation analysis of [<sup>3</sup>H]CHA binding to membranes prepared from rat dorsal and ventral spinal cord. Specific [<sup>3</sup>H]CHA binding to membranes of dorsal (●) and ventral (■) spinal cord is illustrated as saturation isotherms and Scatchard plots. Specific binding was calculated as the difference between total and nonspecific binding (in the presence of 10 μM (-)-PIA) from samples assayed in duplicate. The K<sub>D</sub> and B<sub>max</sub> values were derived from computer analysis of the data according to the program LIGAND (Munson and Rodbard, 1980). Membranes from whole rat brain were assayed in a similar manner. Experiments were conducted at least twice with similar results.

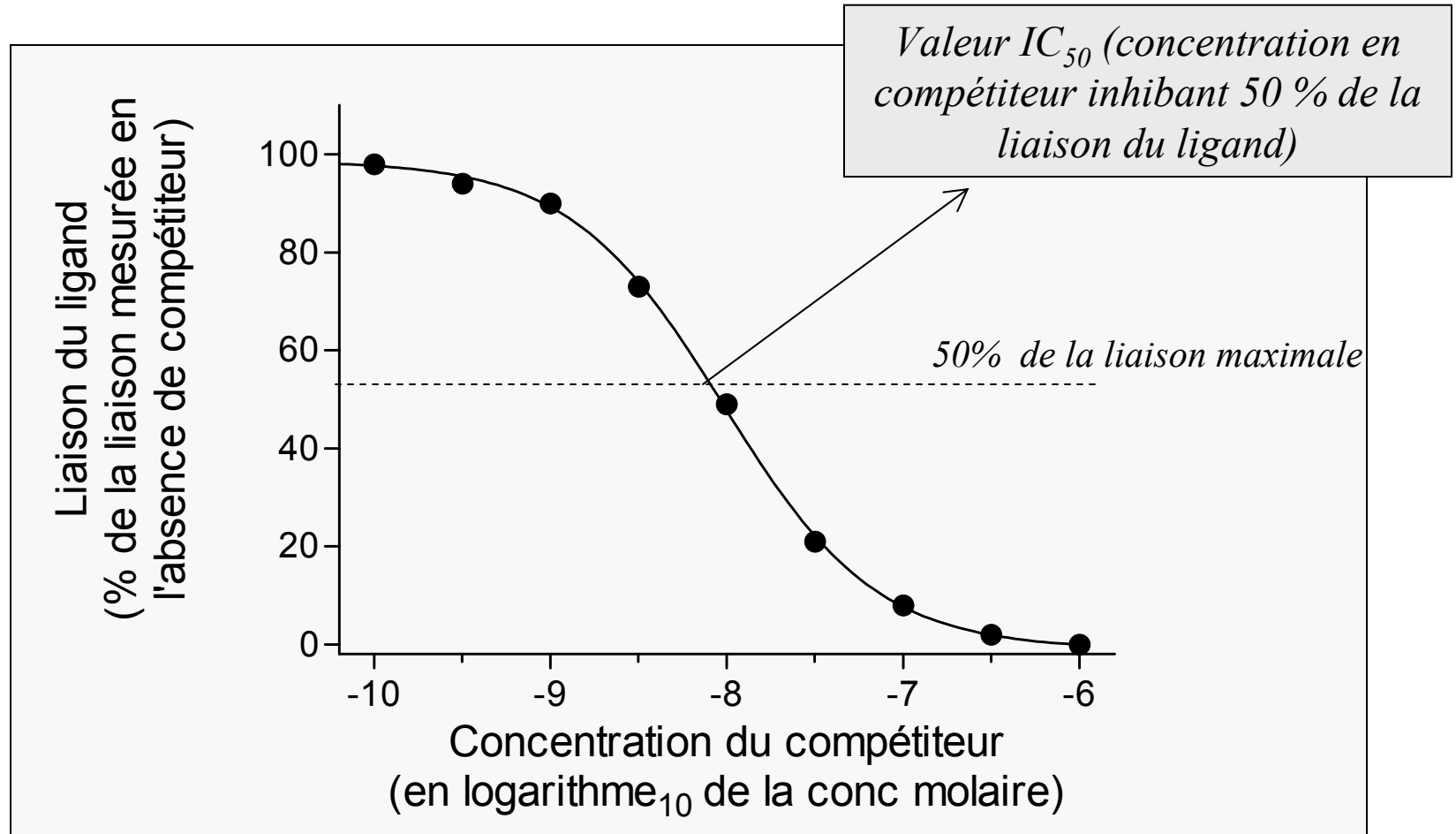
# La notion de compétition



- Lorsque deux composés sont susceptibles d'interagir avec la même cible, on observe une compétition
- L'interaction des substances observée sera influencée par divers paramètres contrôlant cette compétition (qui contrôlent la liaison)
  - la concentration des deux substances
  - leur affinité respective pour la cible
- Les puissances et activités intrinsèques des deux substances n'interviennent pas dans cette compétition.

# La notion de compétition (courbes de déplacement)

*Évaluation expérimentale de l'effet d'un compétiteur sur la liaison d'un ligand : étude du déplacement de la liaison du ligand lors d'ajout de concentrations croissantes du compétiteur*



# La notion de compétition (courbes de déplacement)

ICI

*Où l'on sait la présence du récepteur d'intérêt*

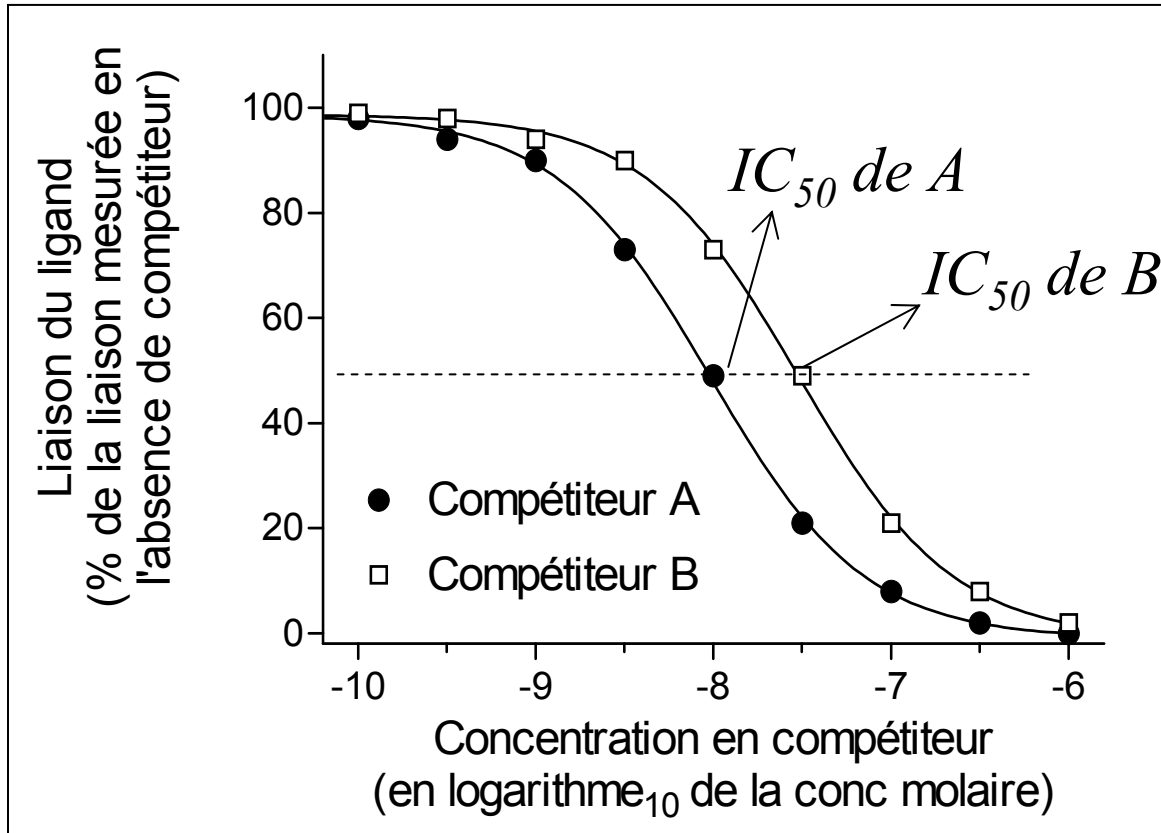
Méthodologie : incuber l'échantillon biologique avec un radioligand de référence et observer l'influence de l'addition d'un compétiteur sur la liaison du radioligand

*Substance (agoniste ou antagoniste, peu importe!)*

- *marquée (radioactive)*
- *qui se lie au récepteur d'intérêt*
- *avec une affinité élevée*
- *avec sélectivité*
- *dont les propriétés sont bien caractérisées*

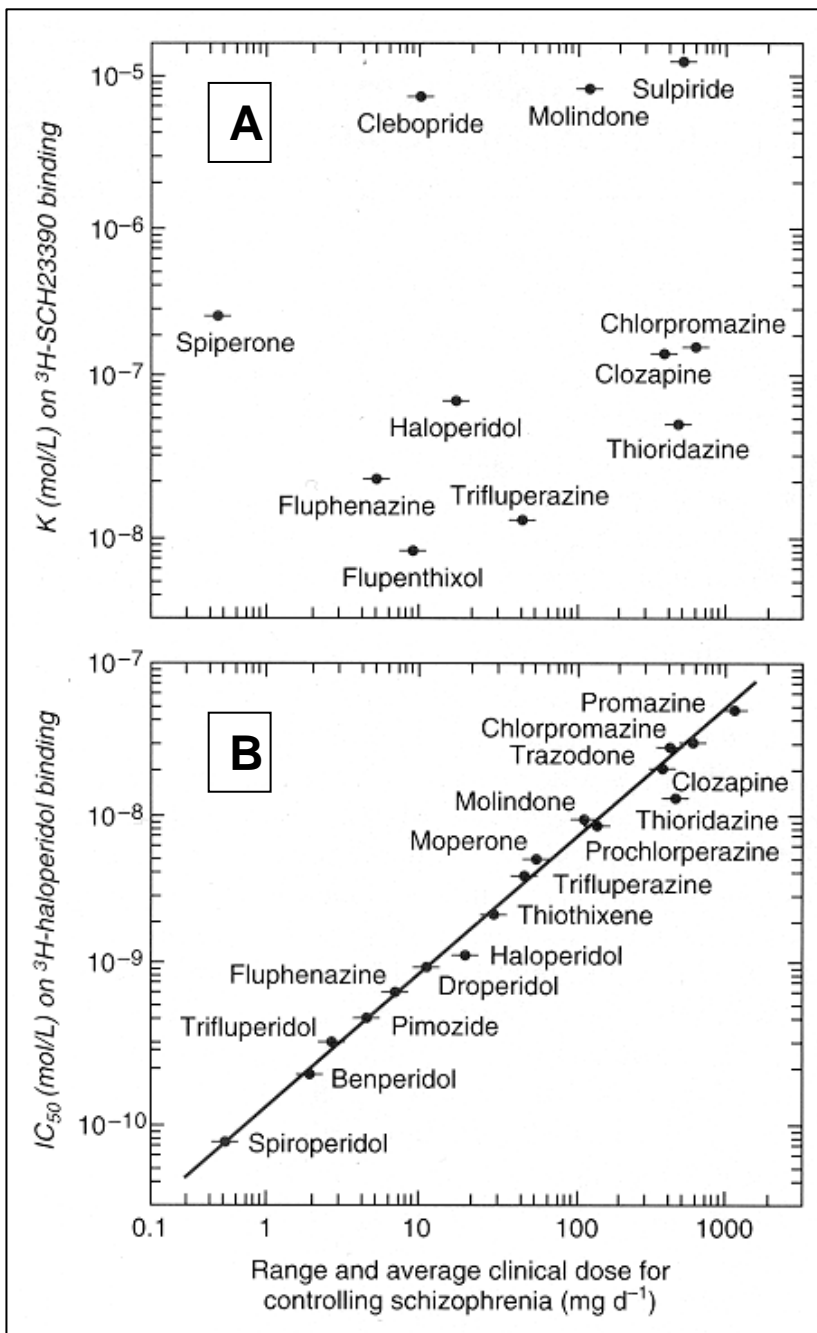
*Substance (agoniste ou antagoniste, peu importe!) dont on veut étudier les propriétés*

# La notion de compétition (courbes de déplacement)



- *Les courbes de déplacements informent quant à l'affinité du compétiteur*
- *Ces courbes ne renseignent pas sur la puissance, ni sur l'activité intrinsèque*
- *$IC_{50} \text{ de } A < IC_{50} \text{ de } B$*
- *A est plus affin que B*

**On peut avoir une compétition entre deux agonistes !**



L'efficacité clinique des neuroleptiques apparaît liée à leur interaction avec les récepteurs dopamine D2 (et pas les D1)

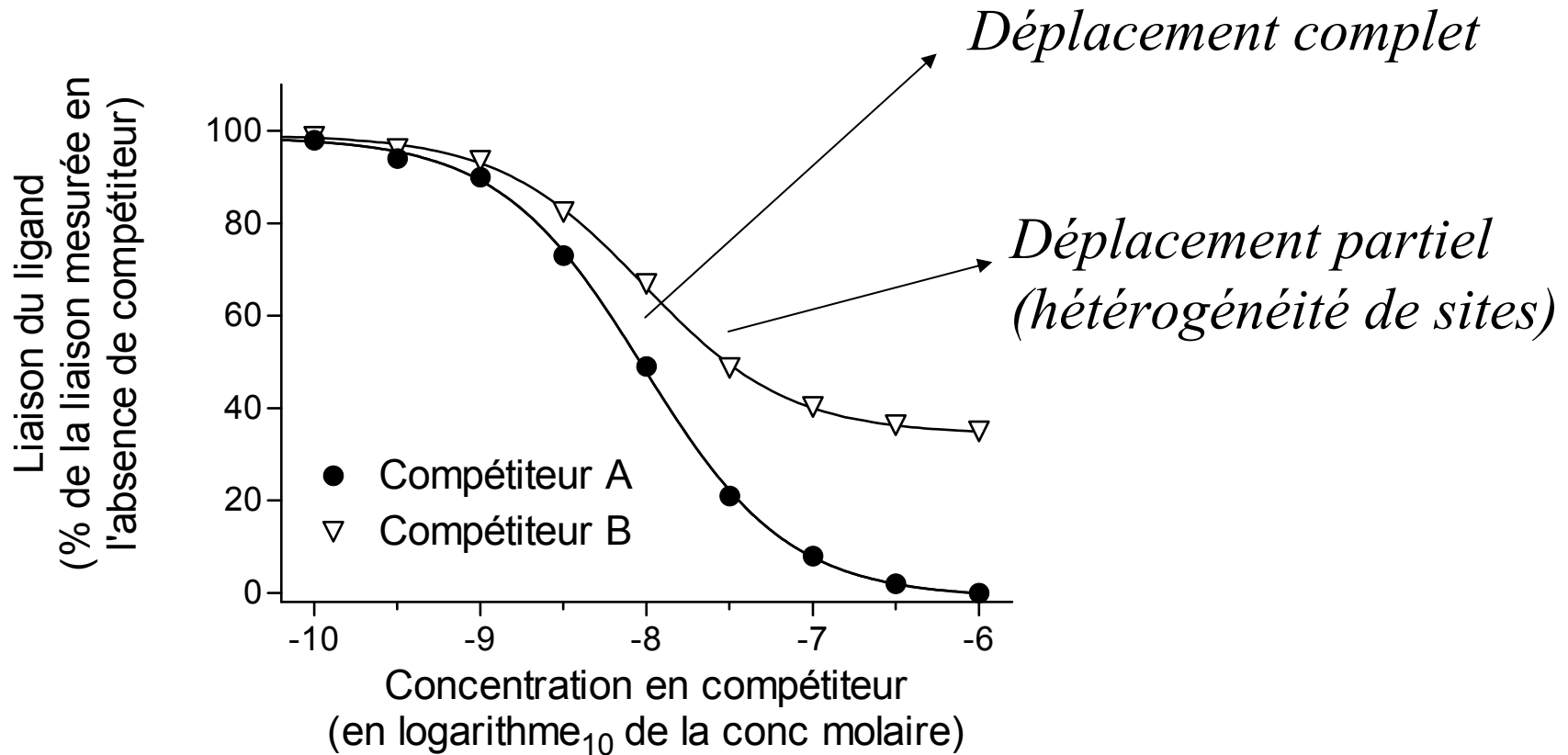
Corrélation entre l'efficacité clinique et la liaison au récepteurs dopaminergiques

*A : récepteurs D1 pas de corrélation*

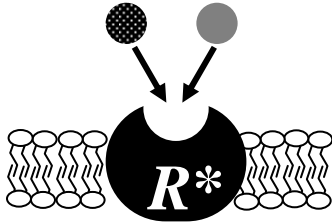
*B : récepteur D2, bonne corrélation*



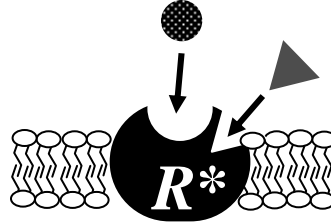
# La notion de compétition (déplacements partiels)



# Orthostérie et Allostérie



**Orthostérie** : interaction de deux ligands en un même site moléculaire de la cible. Il y a compétition ! L'un chasse l'autre (selon les concentrations et les affinités des deux substances en compétition).



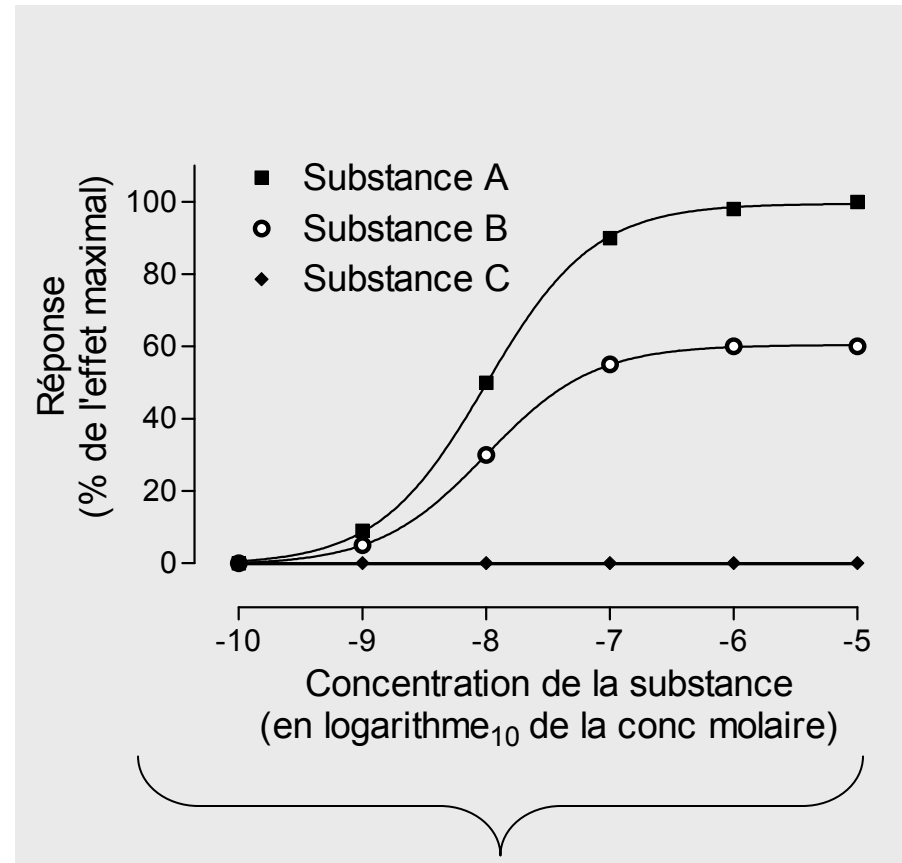
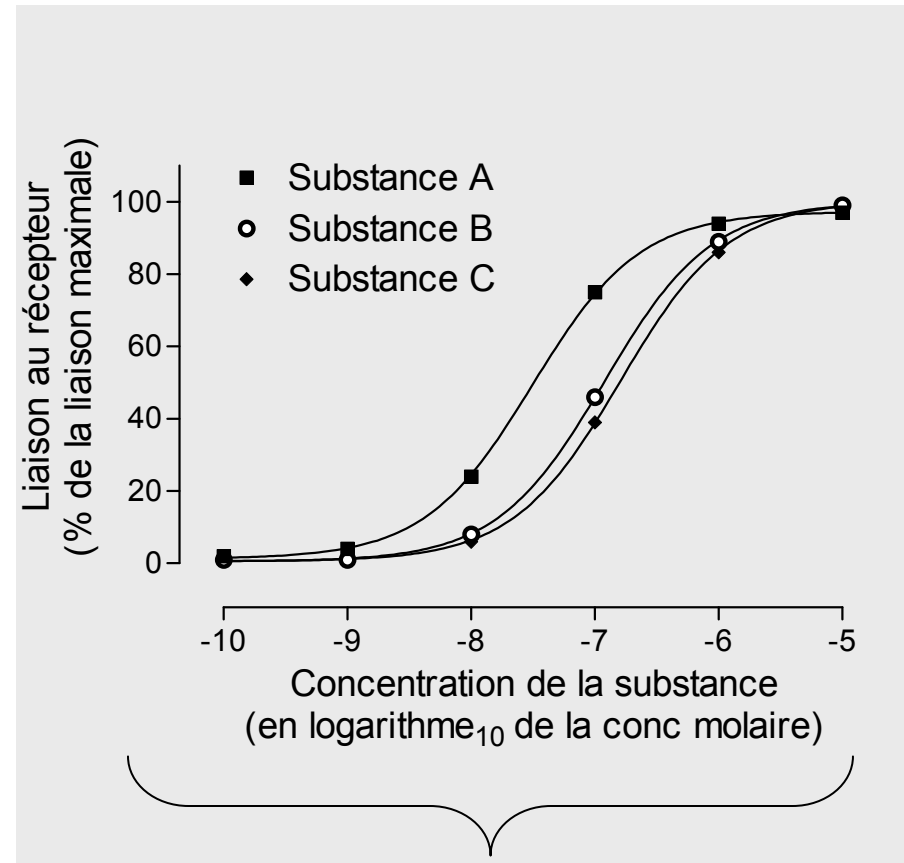
**Allostérie** : interaction de deux ligands en des sites moléculaires distincts de la cible. Il n'y a pas de compétition directe. Mais la liaison de l'un peut indirectement influencer la liaison de l'autre (influence les affinités).

## 2. Récepteurs et cibles moléculaires

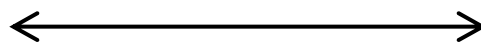
### 2.3. de la liaison à l'activité

- relation liaison - effet
  - efficacité
  - activité
- agonisme – antagonisme – agonisme inverse
- allostérie

# Relation liaison - effet



Affinité



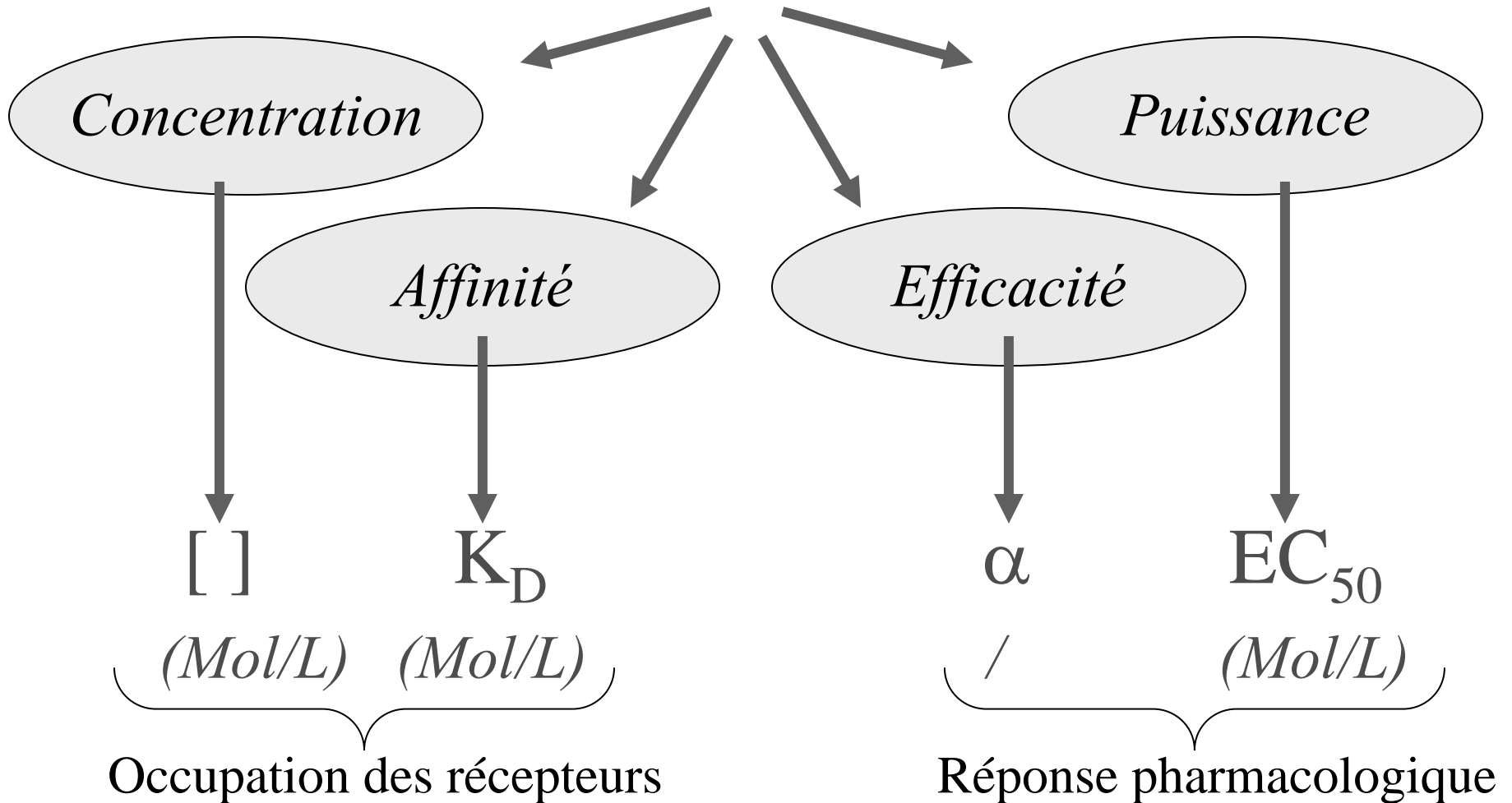
Activité

Pas de rapport direct

!

# Paramètres d'affinité et d'activité

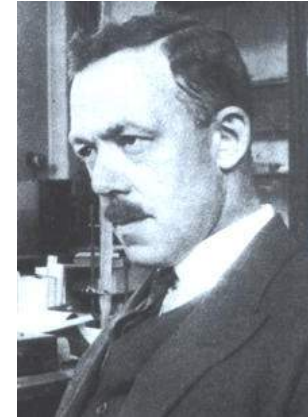
*Facteurs influençant la réponse à une substance pharmacologique*



# Relation entre occupation des récepteurs et réponse pharmacologique

## 1. Clark (1926):

- Modèle le plus simple
- Relation linéaire entre occupation et réponse
- $EC_{50} = K_D$
- Réponse maximale si occupation maximale



$$\text{Réponse} = \frac{(\text{Réponse})_{\max} [L]}{[L] + K_D}$$

*L'équation s'inspire directement de l'équation de la liaison au récepteur*

$$\frac{[RL]}{[R_{\text{tot}}]} = \frac{[L]}{K_D + [L]}$$

*La courbe concentration-effet est une hyperbole tendant vers la réponse maximale*

*MAIS très incomplet : n'explique pas la notion d'antagonisme*

# Relation entre occupation des récepteurs et réponse pharmacologique

## 2. Ariëns (1954):

- Introduit la notion d'activité intrinsèque  $\alpha$

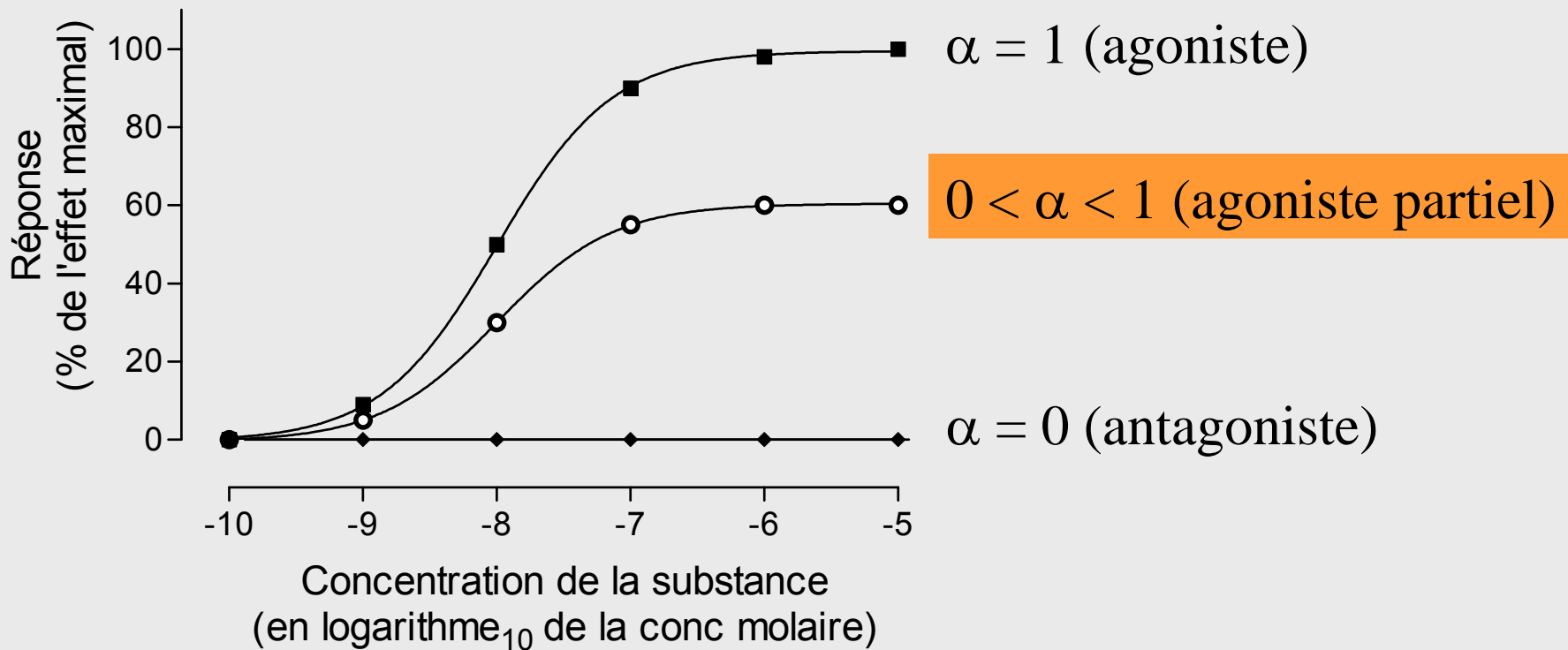
$$\text{Réponse} = \alpha \times \frac{(\text{Réponse})_{\max} [\text{L}]}{[\text{L}] + K_D}$$

- La première étape est la liaison (loi d'action des masses), définissant une courbe hyperbolique
- L'activité intrinsèque définit la capacité d'un récepteur liant le ligand à induire une réponse.

*MAIS incomplet : n'explique pas le décalage souvent observé entre l'affinité et la puissance  
n'intègre pas le concept de récepteur de réserve*

# Importance du paramètre d'activité ( $\alpha$ )

*L'amplitude de la réponse est une fonction  
de l'activité intrinsèque*



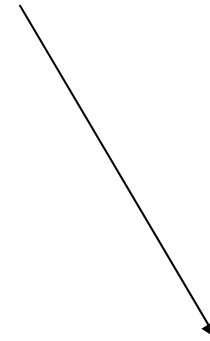


# Effacité et Activité

*Effacité intrinsèque  $\neq$  activité intrinsèque*

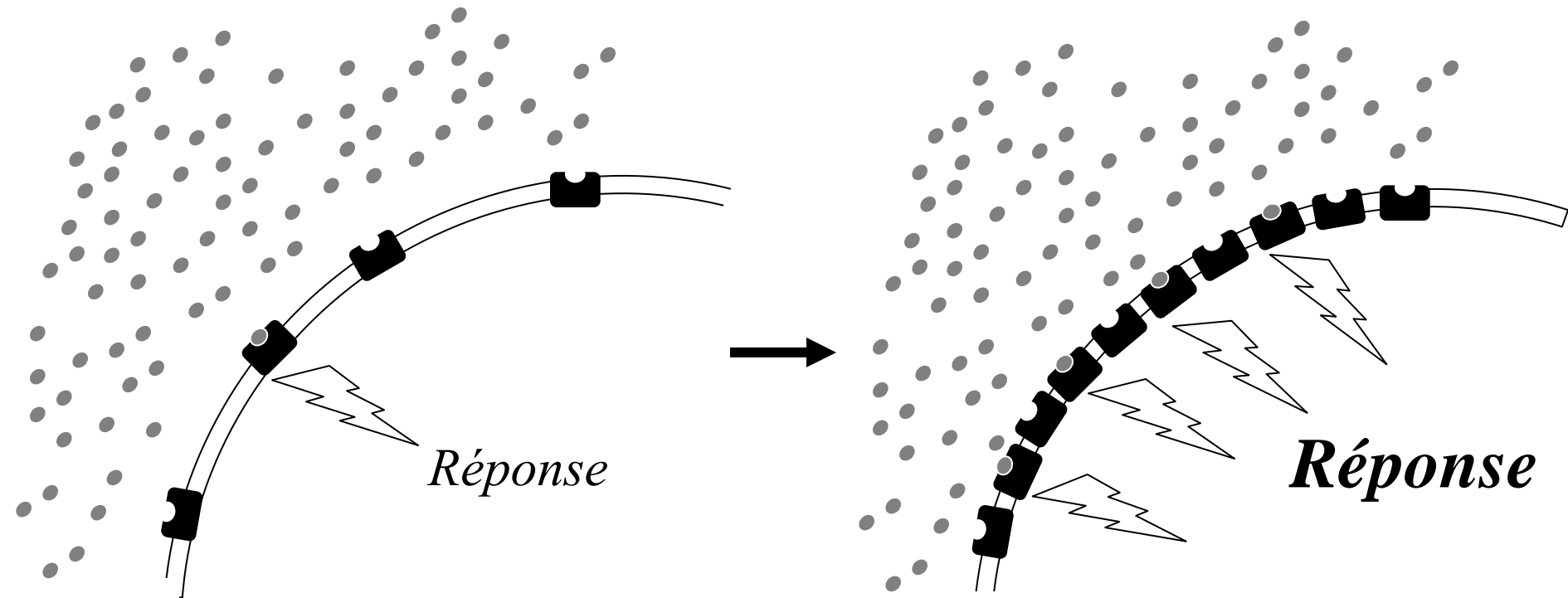


*Influence d'un ligand au  
niveau moléculaire  
(“force de l'agoniste à  
favoriser la conformation  
favorable du récepteur”)*

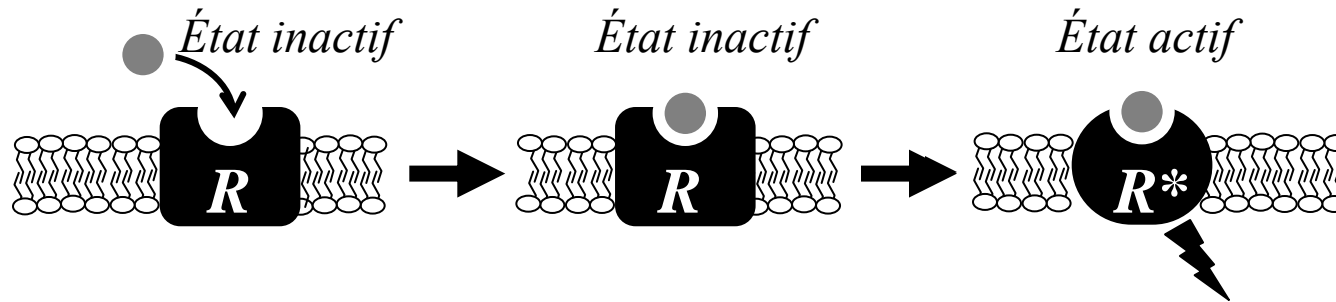


*Réponse  
physiologique  
mesurable (dans  
un tissu, un  
organisme..)*

# Influence du nombre de récepteurs sur la réponse



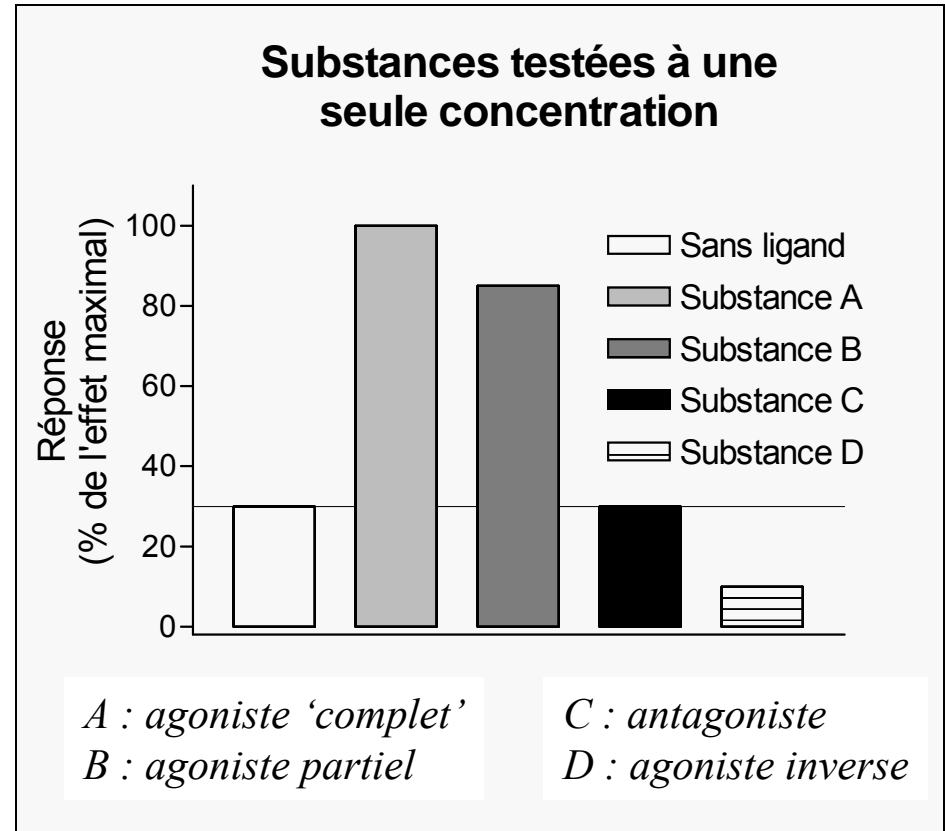
# Notion d'agonisme inverse



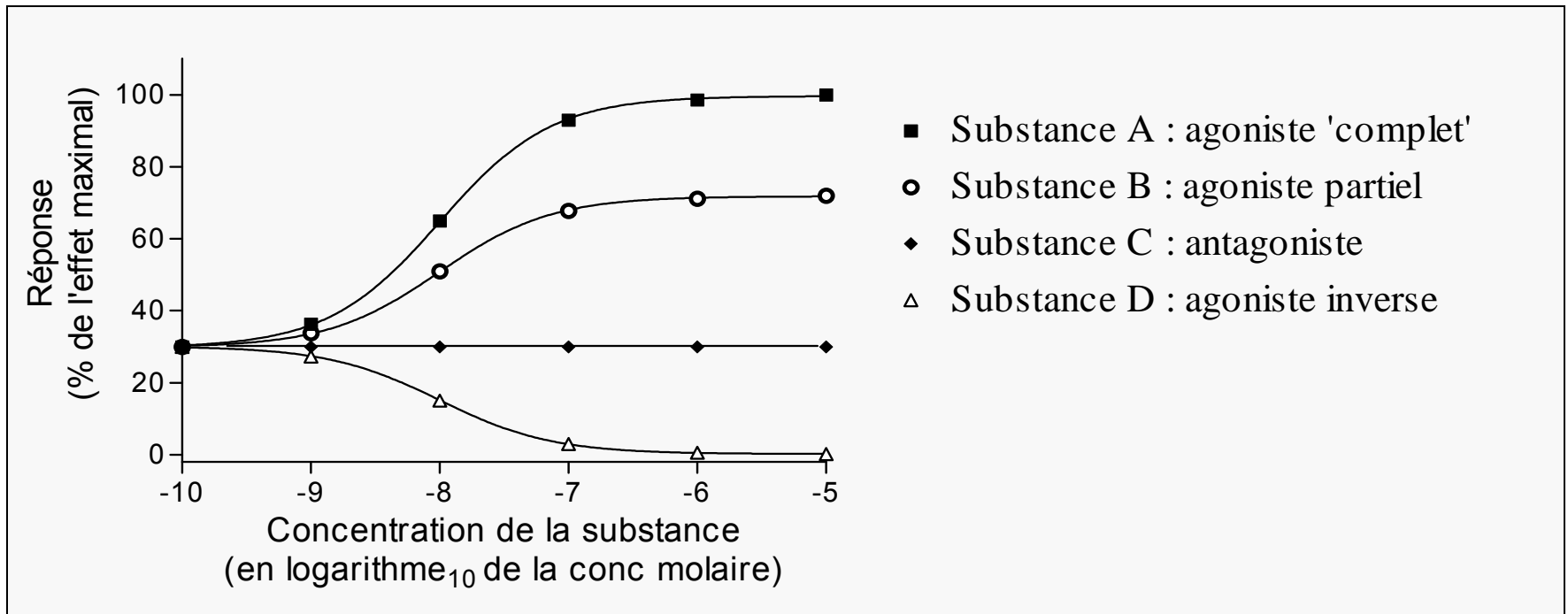
**Modèle classique** : le ligand se fixant au récepteur induit une modification structurelle favorisant l'activation

*Ce modèle n'explique pas comment*

- 1) certains modèles développent une réponse sans ligand (activation constitutive)
- 2) certains ligands diminuent cette activité constitutive



# Agonisme – Antagonisme – Agonisme inverse



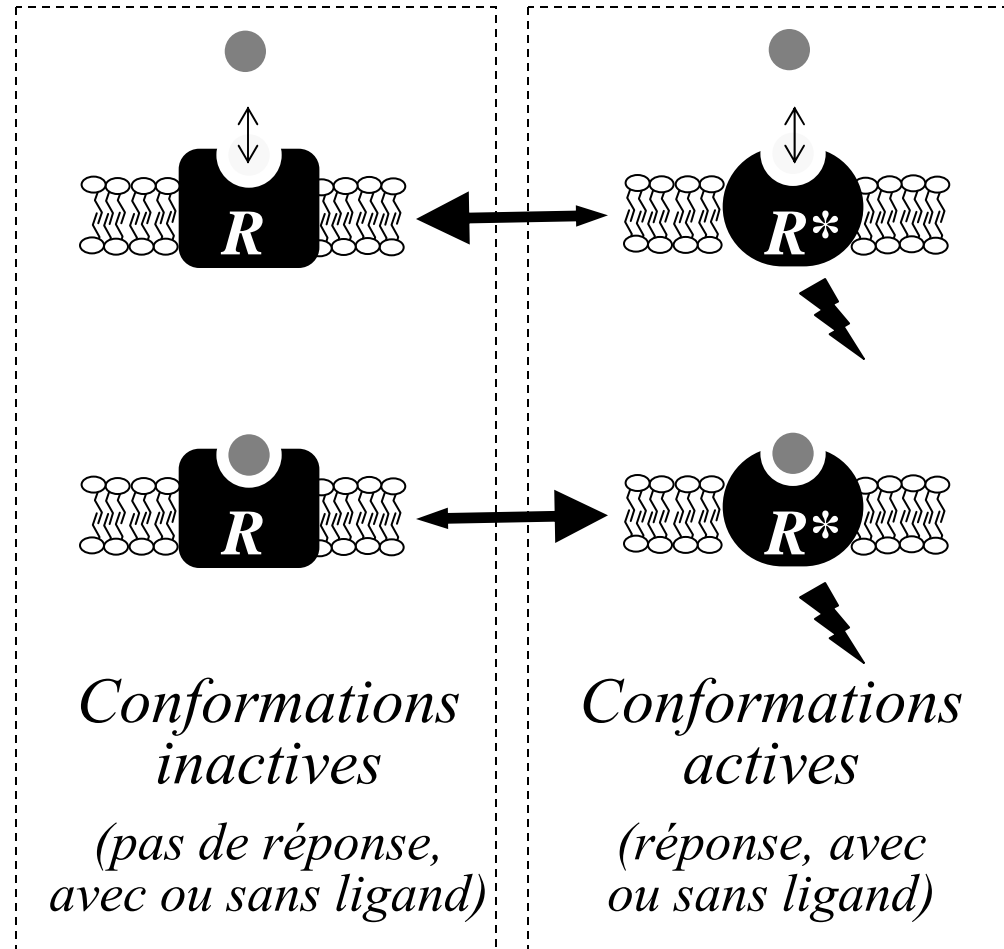
- $\alpha = 1$  (agoniste)
- $0 < \alpha < 1$  (agoniste partiel)
- $\alpha = 0$  (antagoniste)
- $\alpha < 0$  (agoniste inverse)

*L'agoniste inverse  
possède une activité intrinsèque négative*

# Modèles à deux états du récepteur

## *Modèle à deux états :*

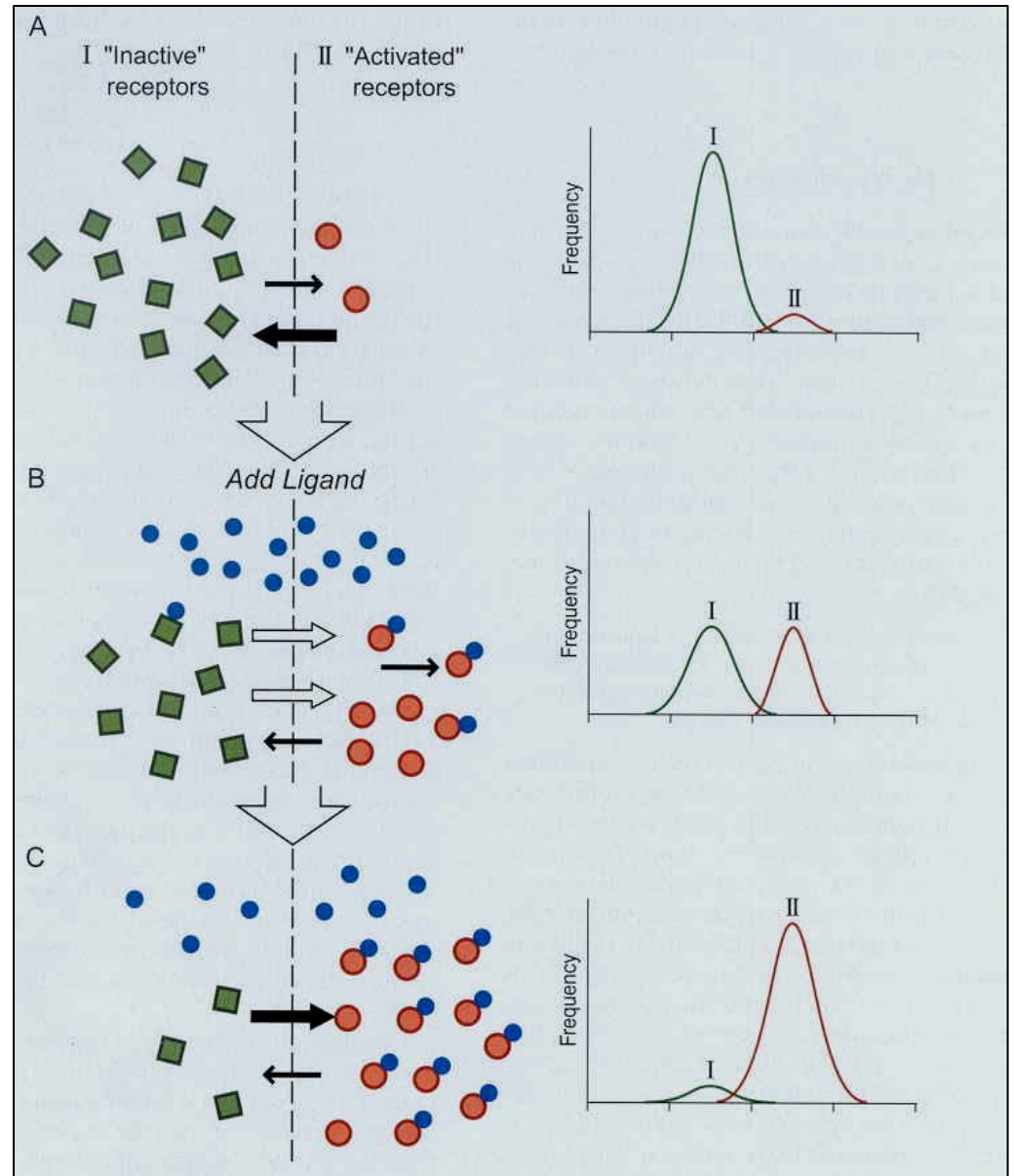
- Le récepteur oscille entre deux états (inactif et actif).
- L'agoniste stabilise l'état actif, avec plus ou moins de 'force' que son activité intrinsèque est élevée.



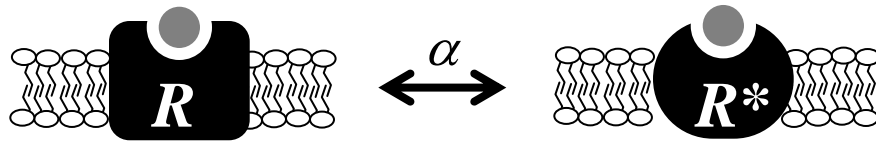
# Modèles à deux états du récepteur

## *Modèle à deux états :*

- Le récepteur oscille entre deux états (inactif et actif).
- L'agoniste stabilise l'état actif, avec plus ou moins de 'force' que son activité intrinsèque est élevée.



# Modèles à deux états et agonisme/antagonisme/agonisme inverse



## Agoniste

Se fixe préférentiellement à R\* et stabilise cet état

$$\alpha = 1$$

→ *Induit la réponse*

## Antagoniste

Se fixe indifféremment à R ou R\*

$$\alpha = 0$$

→ *Ni induction ni diminution (voir note)*

**Agoniste partiel** Se fixe aux deux états avec une préférence (partielle!) pour R\*

$$0 < \alpha < 1$$

→ *Induit partiellement la réponse*

**Agoniste inverse** Se fixe préférentiellement à R et stabilise cet état

$$\alpha < 0$$

→ *Diminution de la réponse constitutive*

Note : en soi l'antagoniste ne provoque pas d'effet. Il contrecarre l'effet d'autres substances pouvant se lier au récepteur (tant les agonistes complets, que les agonistes partiels et les agonistes inverses)

# Antagonisme

Caractérisation d'antagonistes dopaminergiques par déplacement d'un radioligand ( $^3\text{H}$ -Halopéridol) et par blocage de réponses fonctionnelles

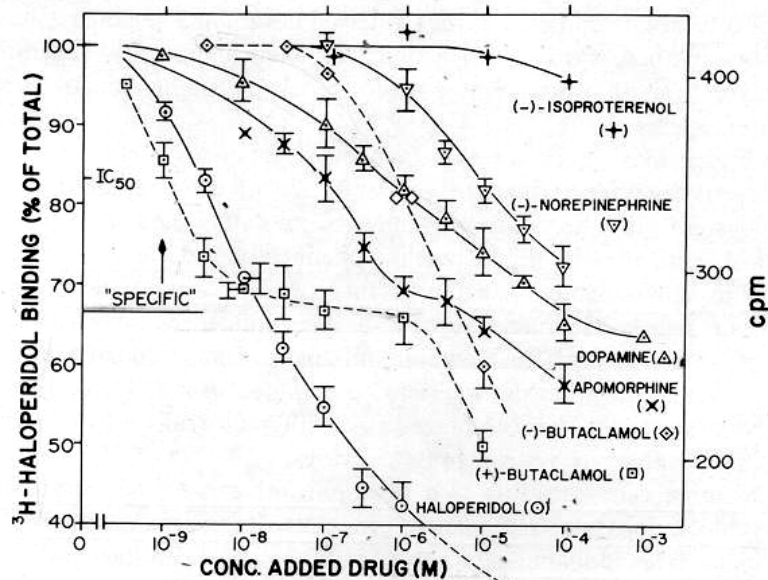


FIG. 1. Displacement of [ $^3\text{H}$ ]haloperidol binding to calf striatal membranes by nonradioactive drugs. (From ref. 2.)

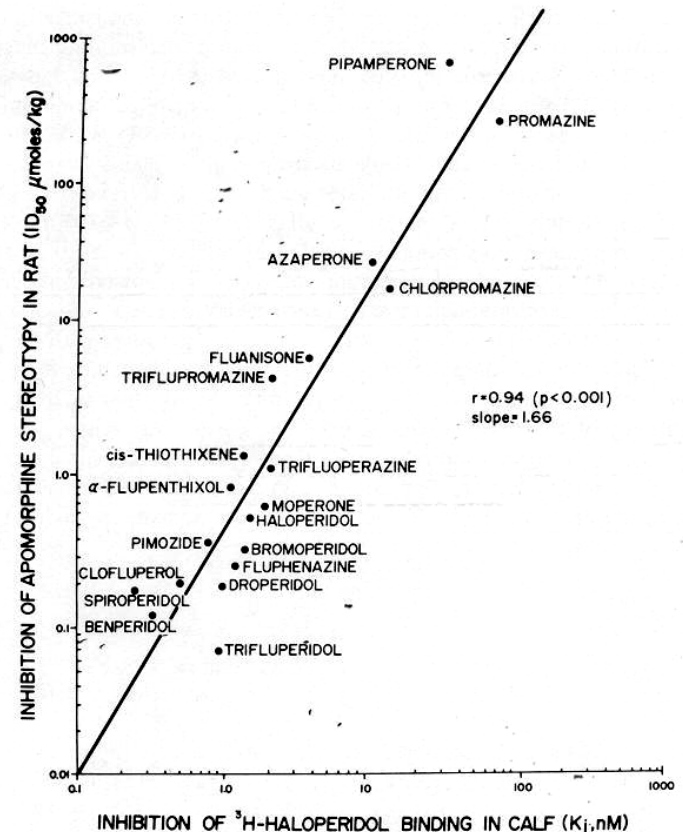
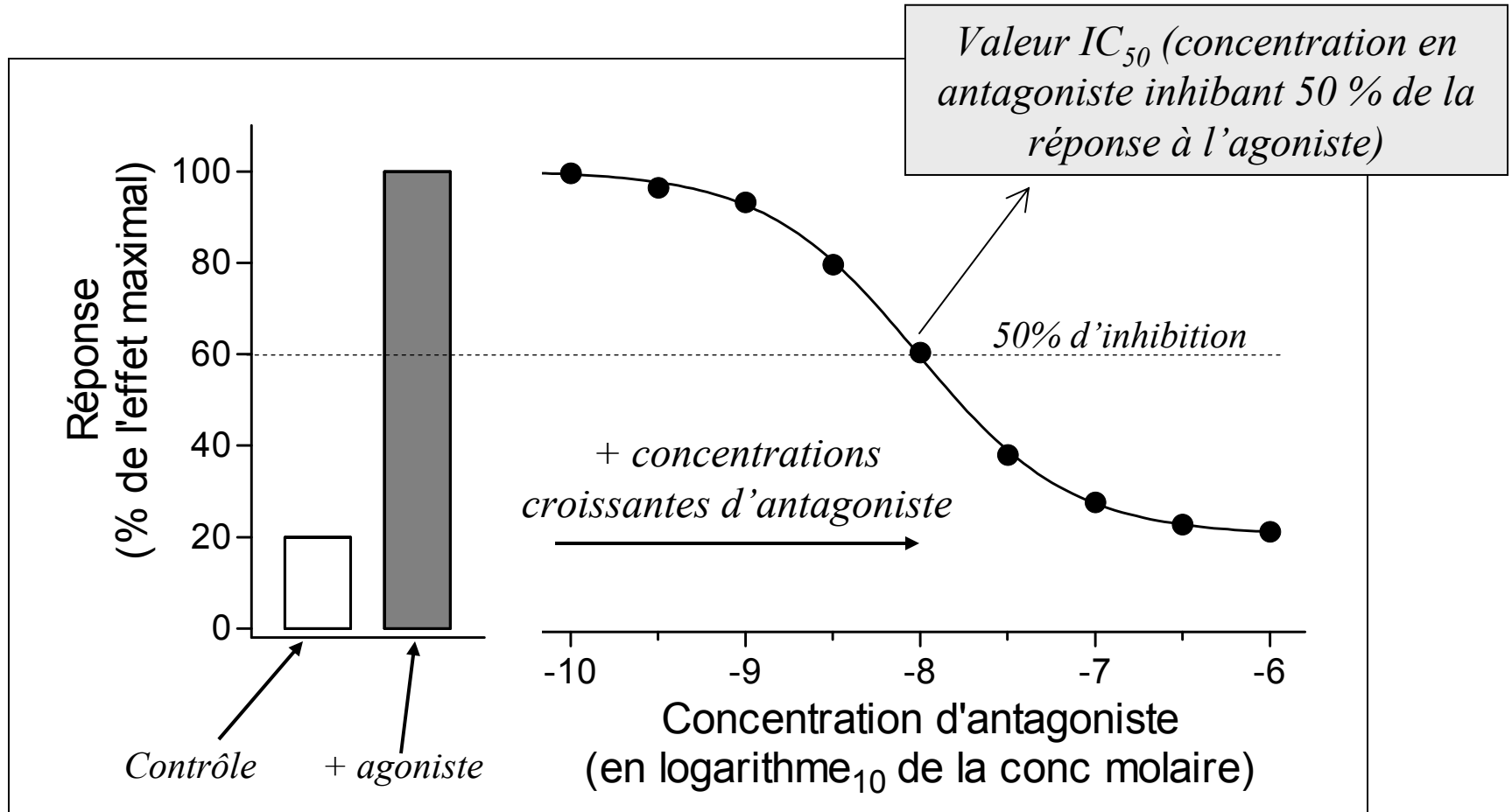


FIG. 2. Correlation of neuroleptic drug affinity for [ $^3\text{H}$ ]haloperidol binding sites in calf striatal membranes and antagonism of apomorphine stereotypy in the rat. (From ref. 40.)



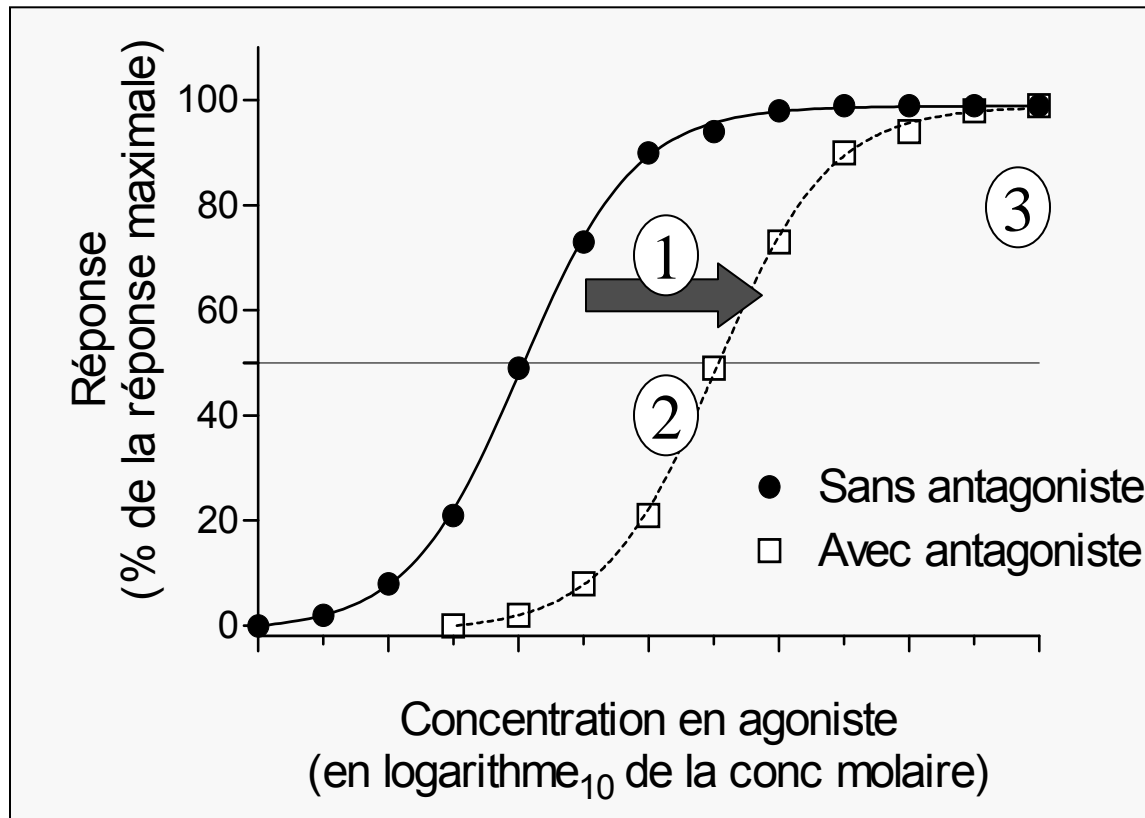
# Compétition et antagonisme

*Évaluation expérimentale de l'effet d'un antagoniste : étude de l'effet de concentrations croissantes d'antagoniste sur la réponse induite par un agoniste*



# Antagonisme compétitif réversible

*L'antagonisme compétitif est surmontable : en augmentant la concentration de l'agoniste, on peut contrecarrer l'effet de l'antagoniste.*



- La courbe sigmoïde indiquant la réponse à l'agoniste est déplacée vers la droite (1)
- La puissance 'apparente' de l'agoniste est diminuée (EC<sub>50</sub> augmente) (2)
- A haute concentration, l'effet de l'antagoniste n'est pas observé (3)
- Plus la concentration en antagoniste est élevée, plus le déplacement est important.

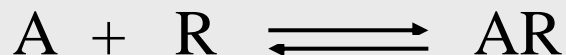
# Antagonisme compétitif réversible

*Analyse : Comment évolue la réponse à l'agoniste quand on augmente la concentration de l'antagoniste B ?*

*Il n'y a pas forcément de relation directe entre l'affinité et la puissance & l'efficacité d'un agoniste*

*Pour les antagonistes, (qui n'ont comme propriété que de se lier et ainsi entraver), il y a une relation directe entre l'affinité et sa puissance.*

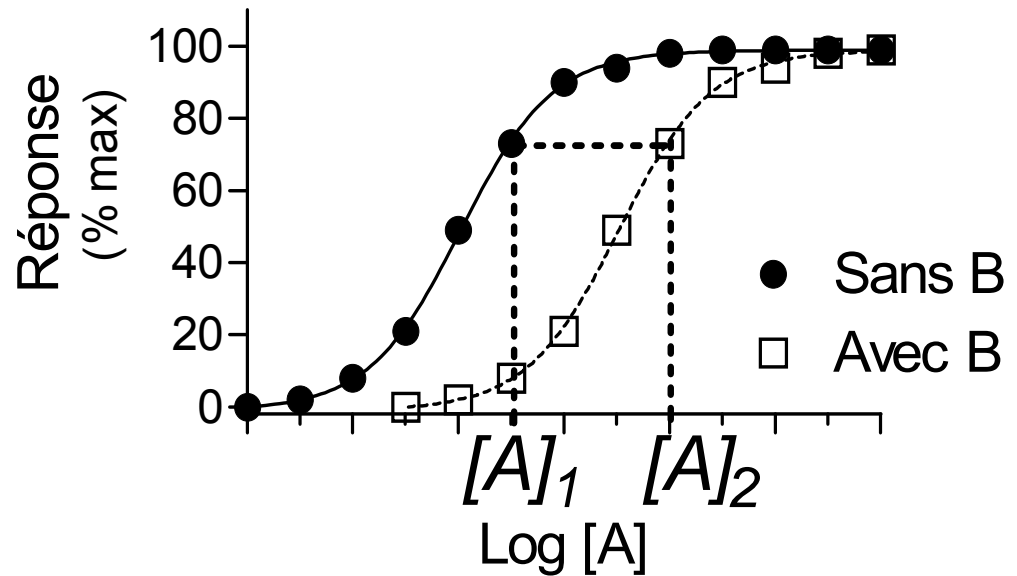
*La question de l'antagonisme relève donc de la question de compétition :*



# Antagonisme compétitif réversible

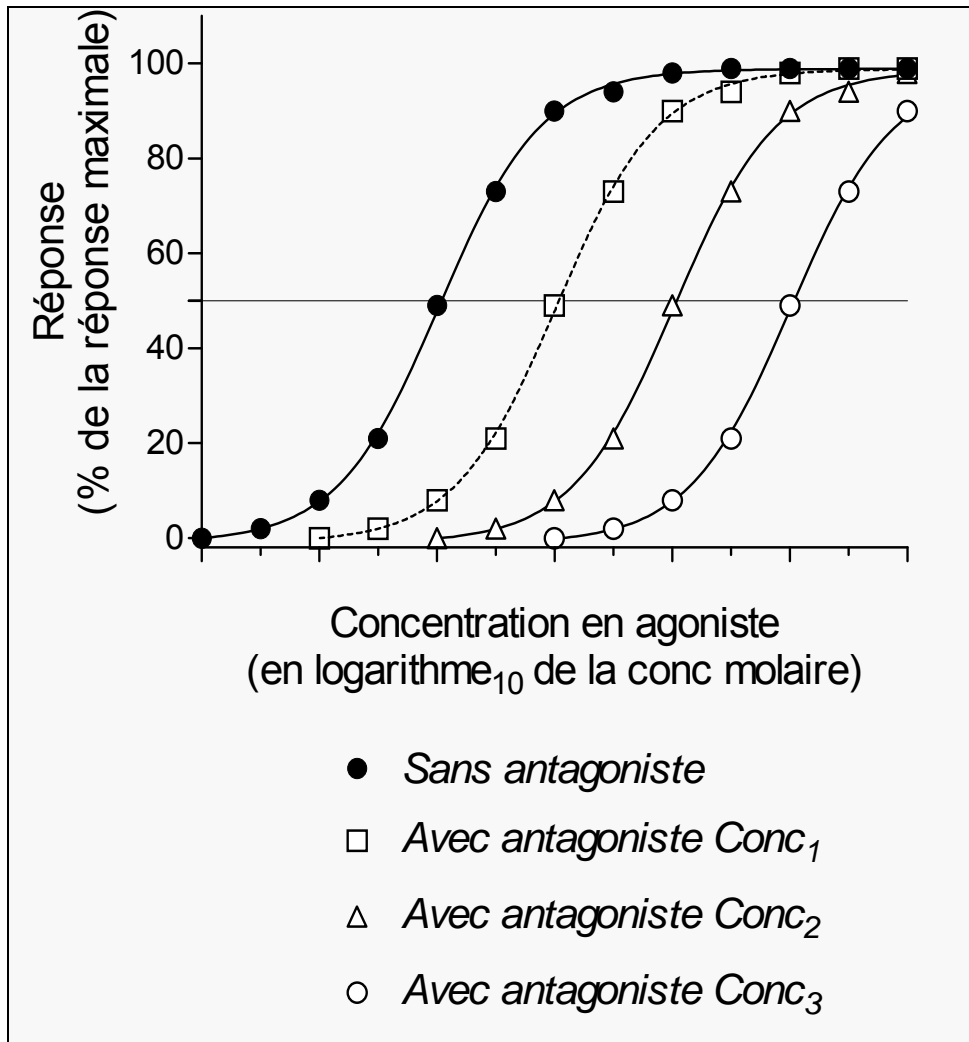
*Ce qui nous intéresse, c'est le déplacement de la courbe (concentration-effet de l'agoniste) vers des concentrations supérieures*

*Une manière d'aborder cette question du déplacement est d'étudier l'augmentation d'agoniste qu'il faut considérer pour conserver une réponse identique*



# Antagonisme compétitif réversible

*Évaluation expérimentale de la puissance de l'antagoniste*

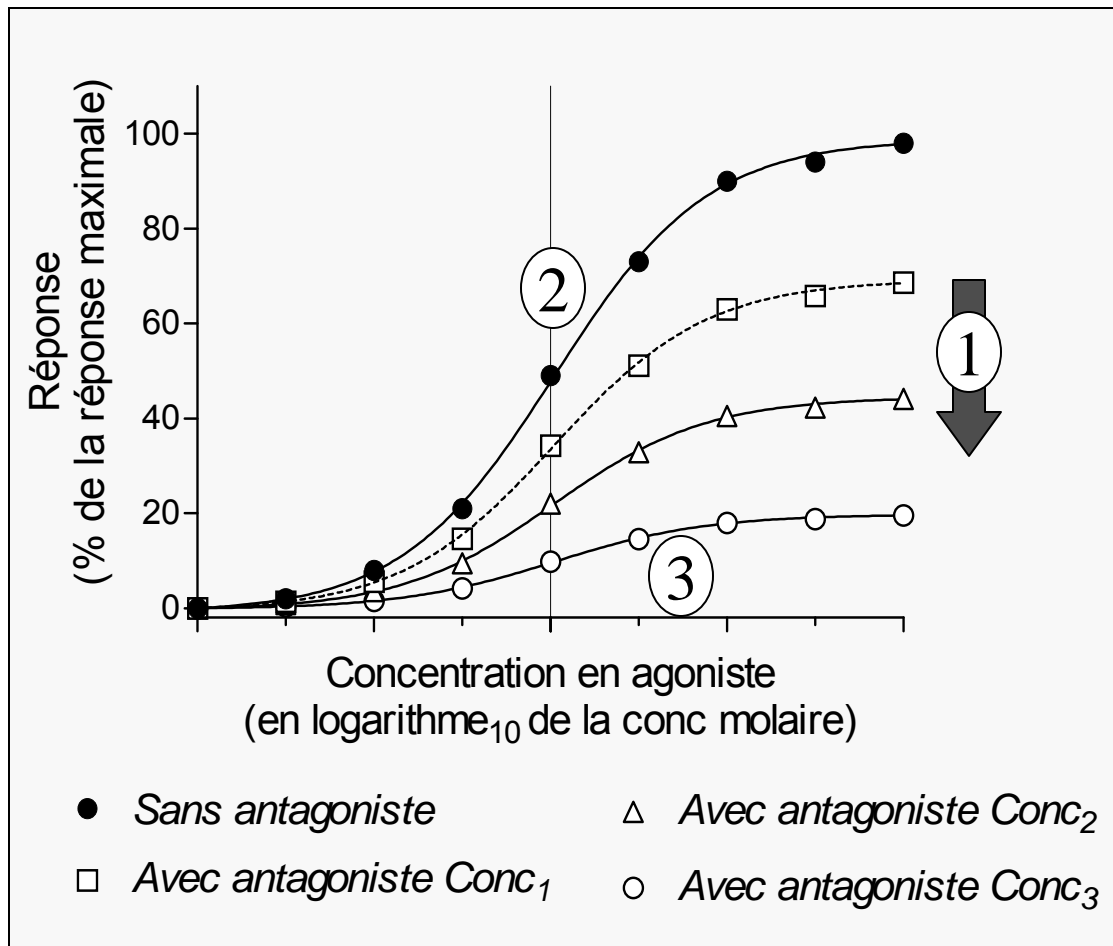


*Plus de précision dans l'évaluation expérimentale de la puissance d'un antagoniste compétitif :*

*La mesure du  $pA_2$ , sur base de l'effet de l'antagoniste testé à plusieurs concentrations*

# Antagonisme non compétitif

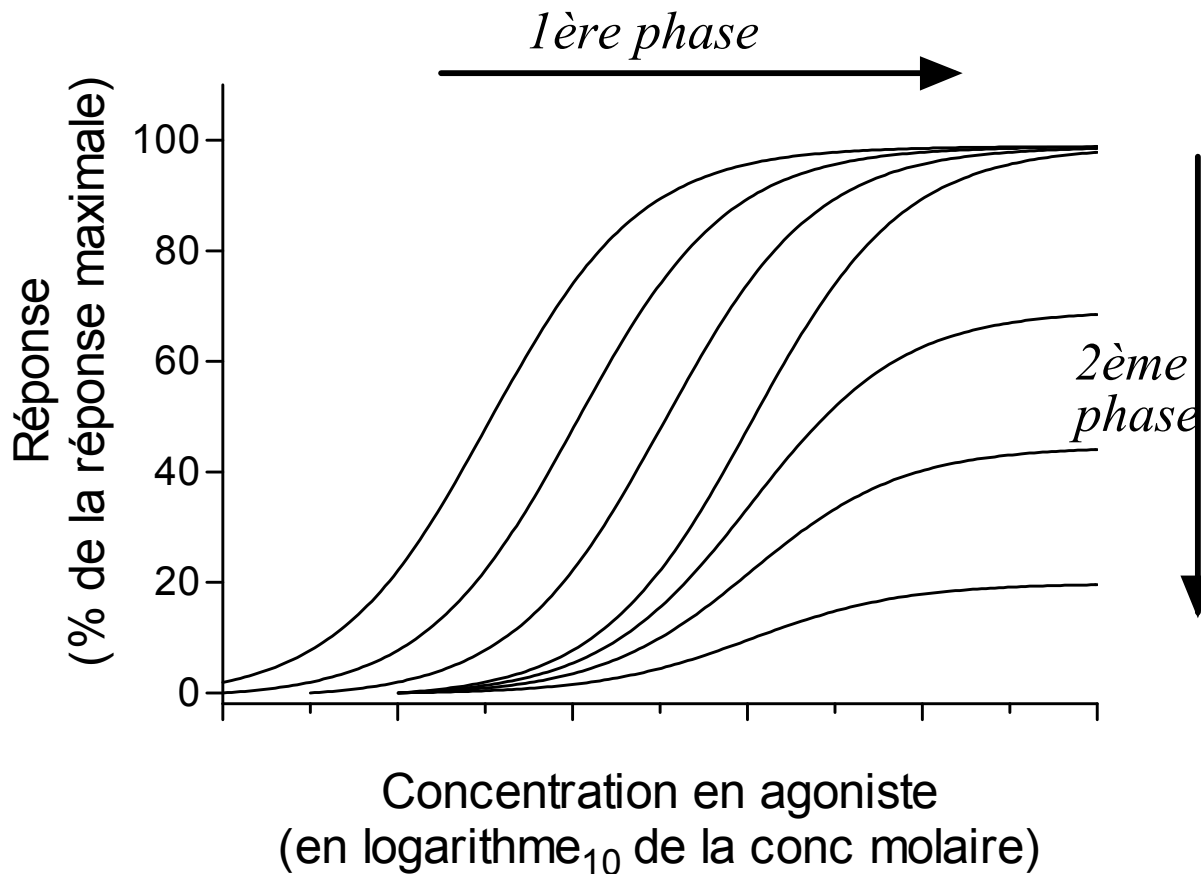
*L'antagonisme non-compétitif est -en théorie- insurmontable : en augmentant la concentration de l'agoniste, on ne peut contrecarrer l'effet de l'antagoniste.*



- La courbe sigmoïde indiquant la réponse à l'agoniste est déplacée vers le bas (1)
- L'efficacité apparente de l'agoniste diminue
- La puissance 'apparente' de l'agoniste est inchangée ( $EC_{50}$  constante) (2)
- Plus la concentration en antagoniste est élevée, plus la diminution est importante. (3)

# Antagonisme non compétitif surmontable

*La réserve de récepteurs peut rendre l'antagonisme non compétitif surmontable dans une certaine gamme de concentrations.*

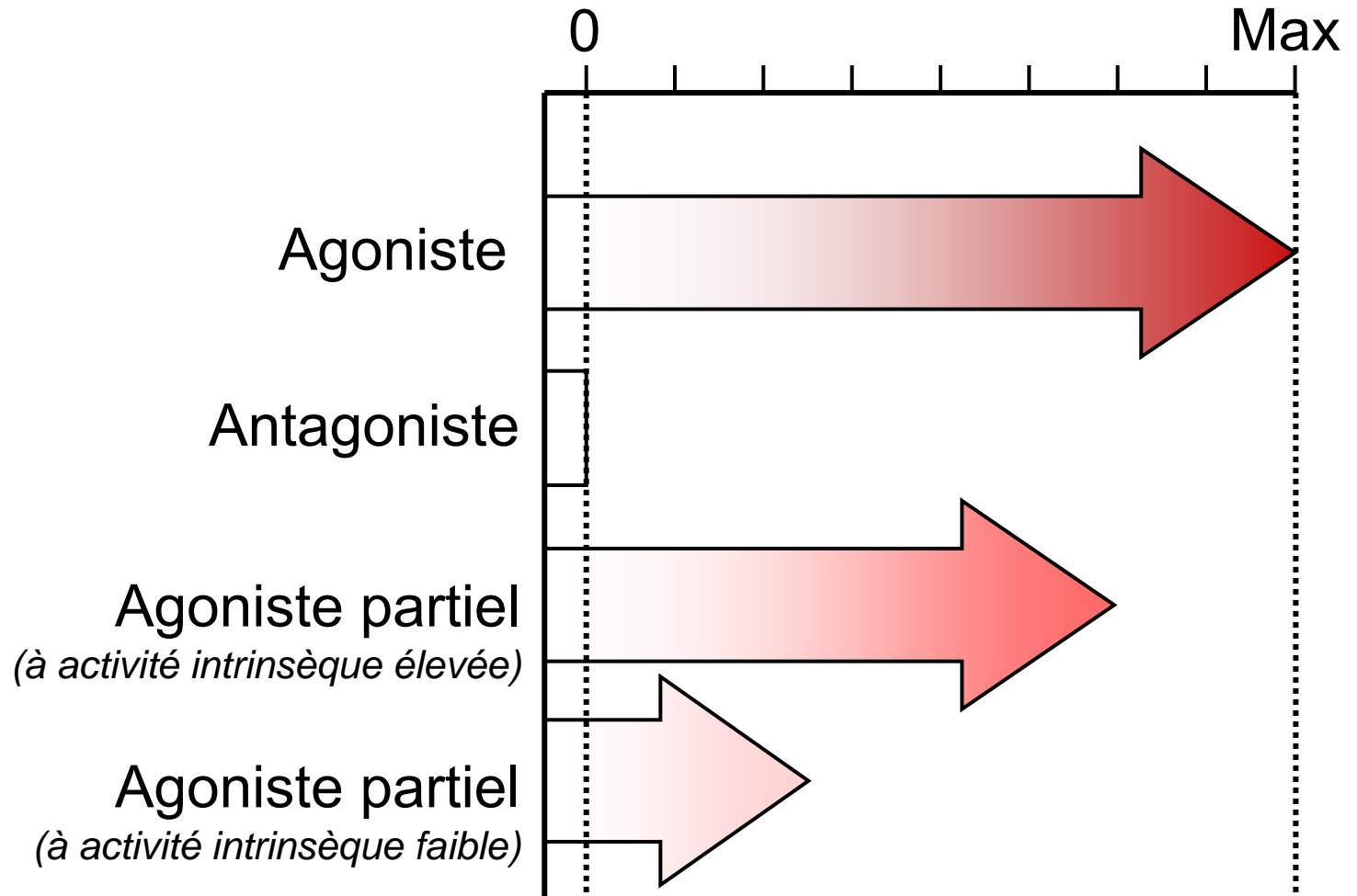


*1ère phase :*  
La réserve de récepteurs s'épuise ,  
l'effet semble surmontable

*2ème phase :*  
la réserve est épuisée,  
l'antagonisme devient insurmontable.

# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel

Amplitude de la réponse atteinte lors de l'occupation des récepteurs

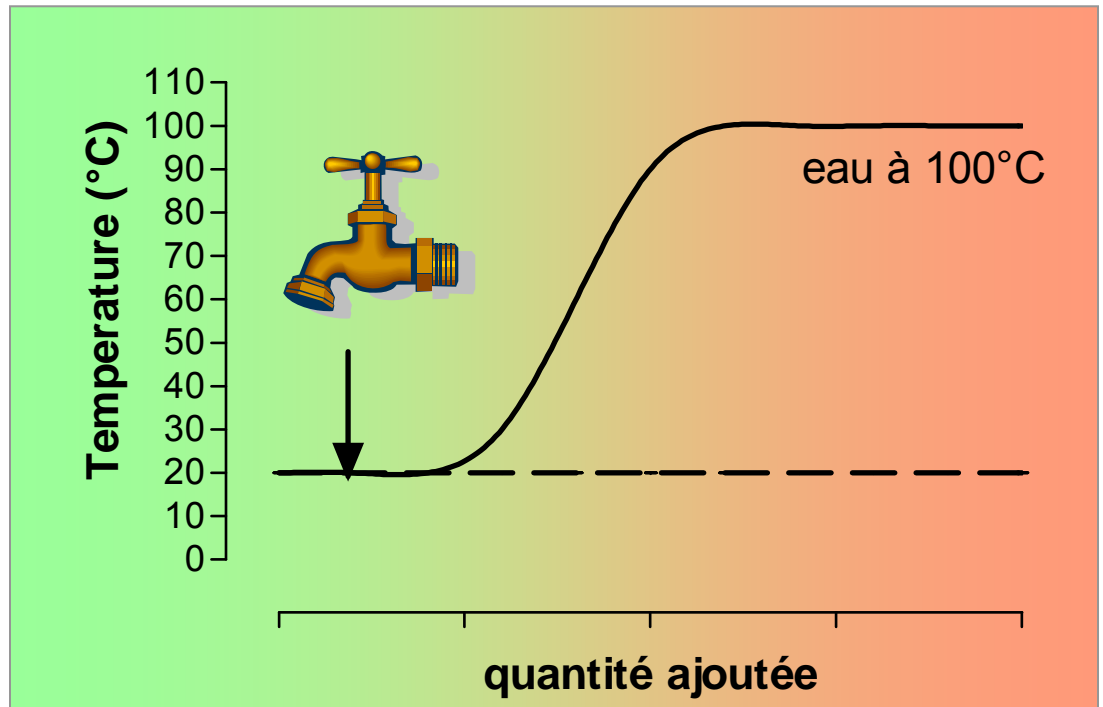




# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel



*100°C*  
*AGONISTE*



# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel



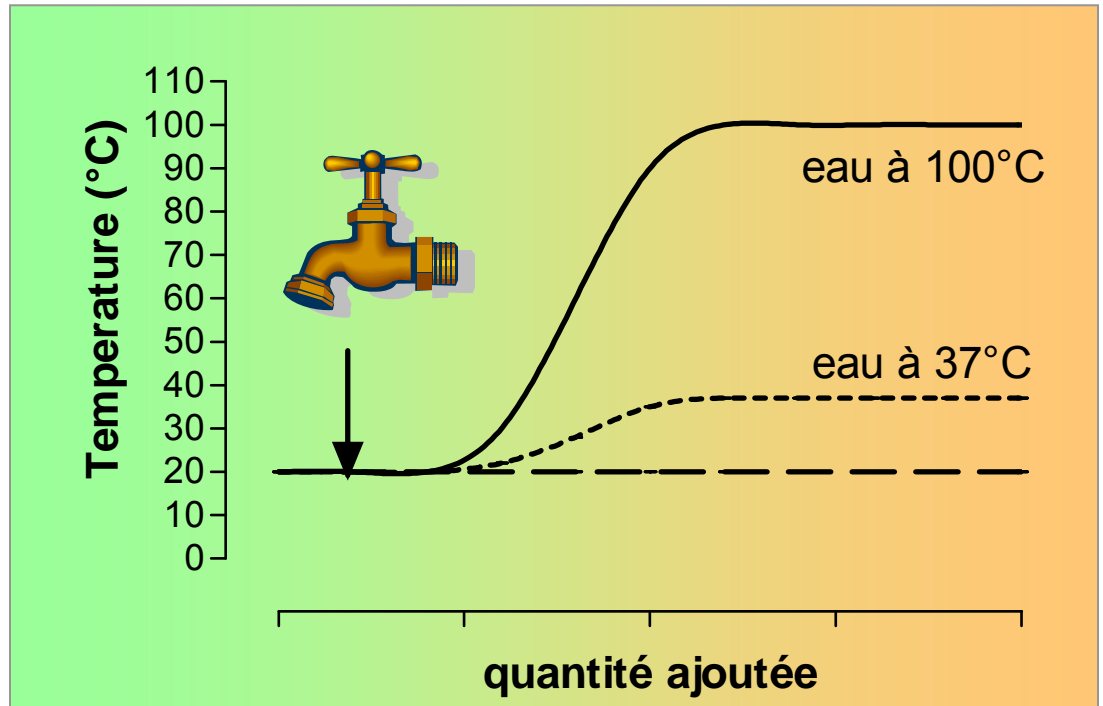
100°C

AGONISTE



37°C

Agoniste PARTIEL



# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel



100°C

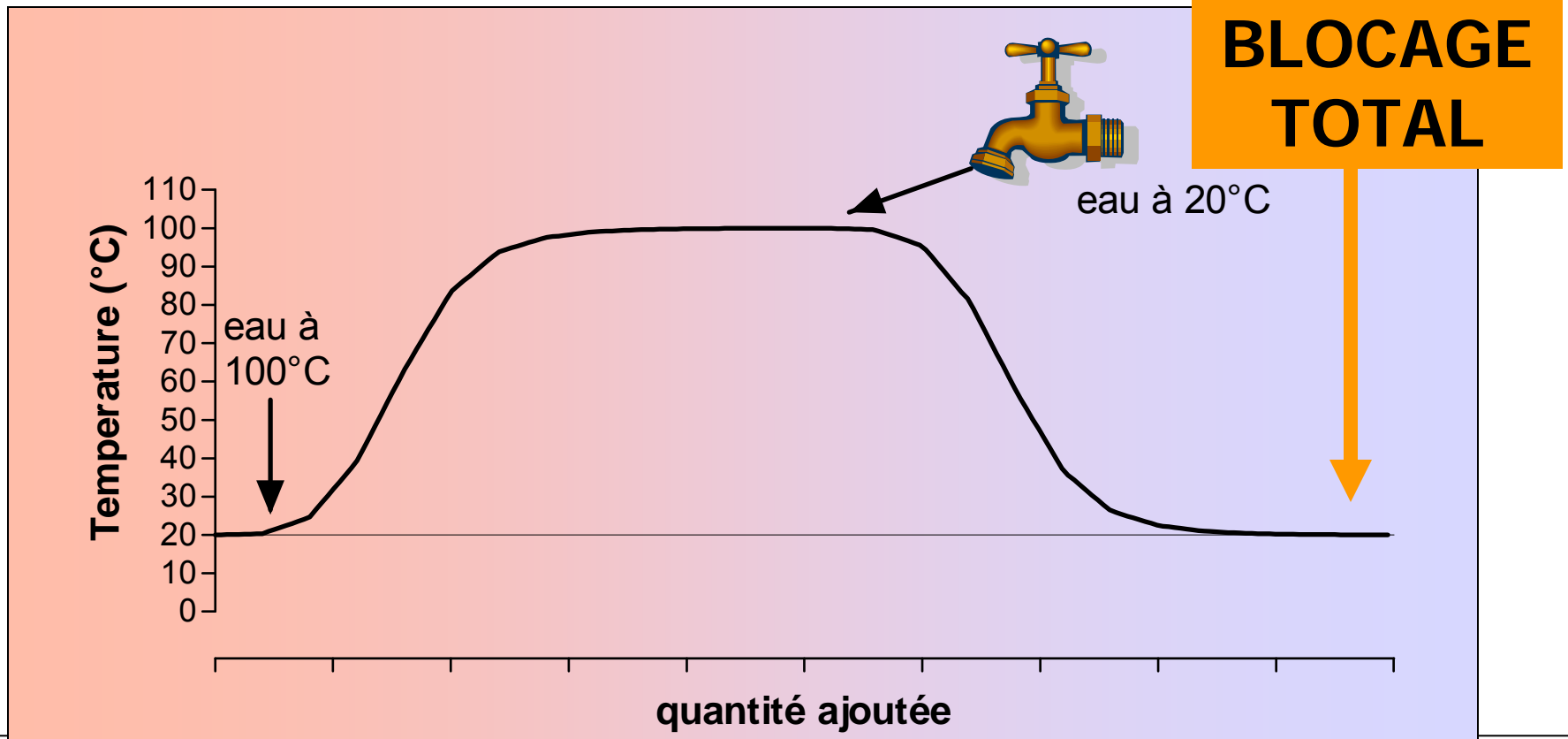
AGONISTE

+



20°C

ANTAGONISTE



# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel



100°C

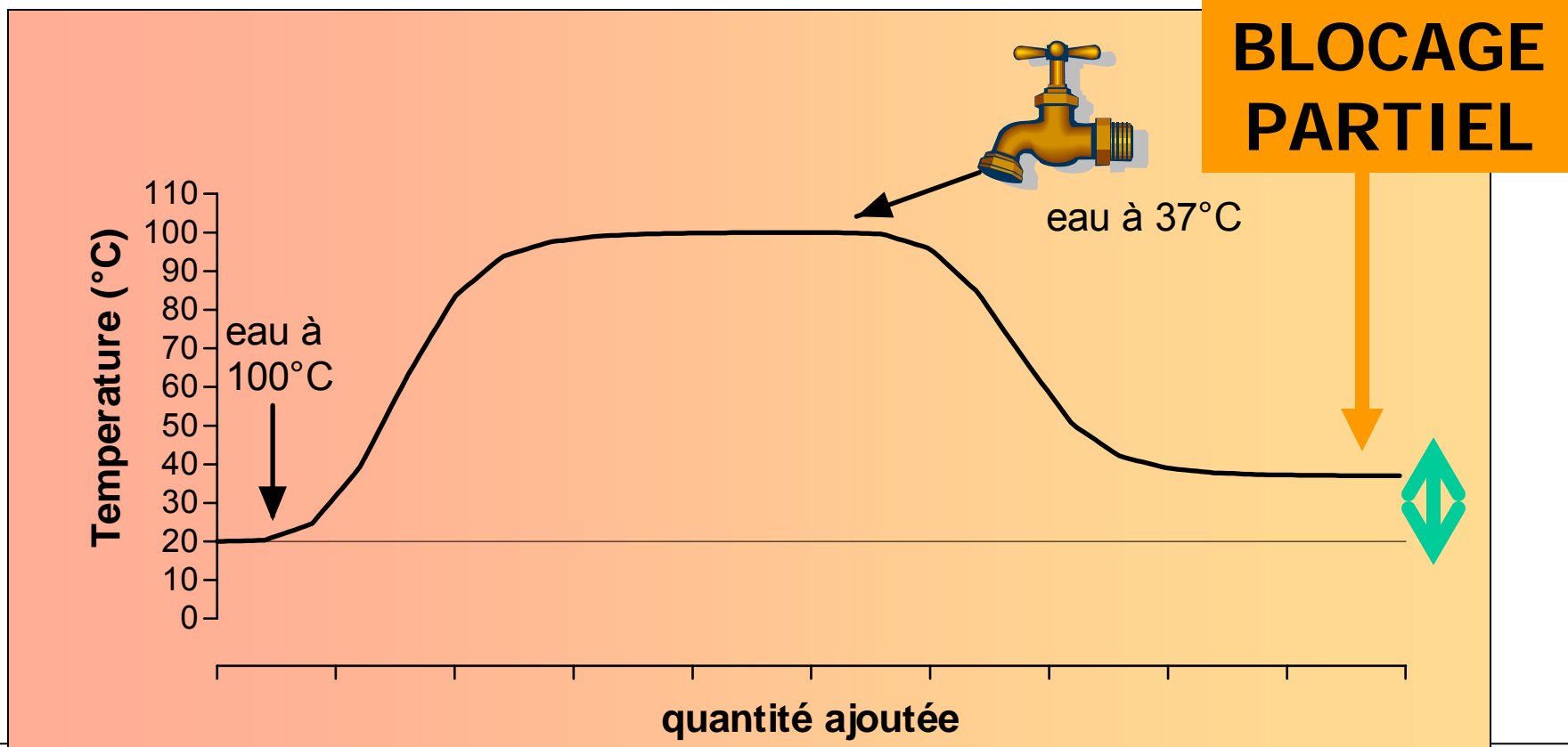
AGONISTE

+

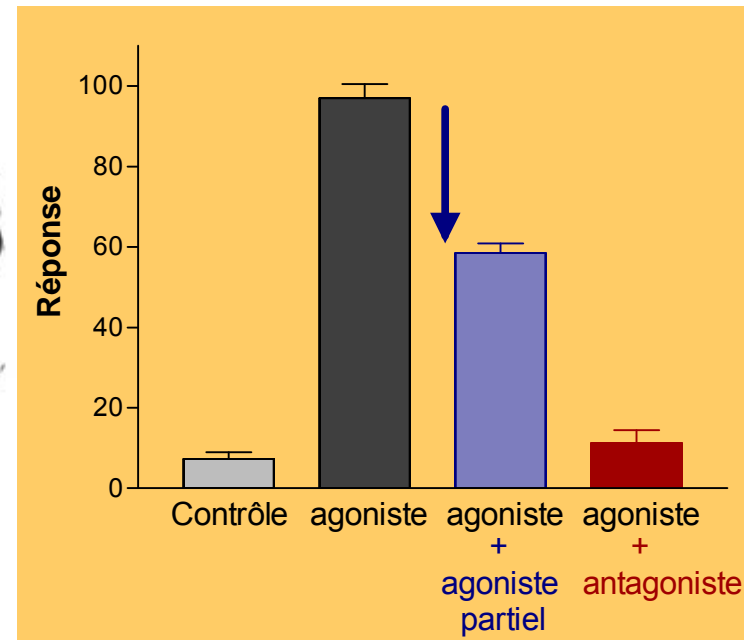
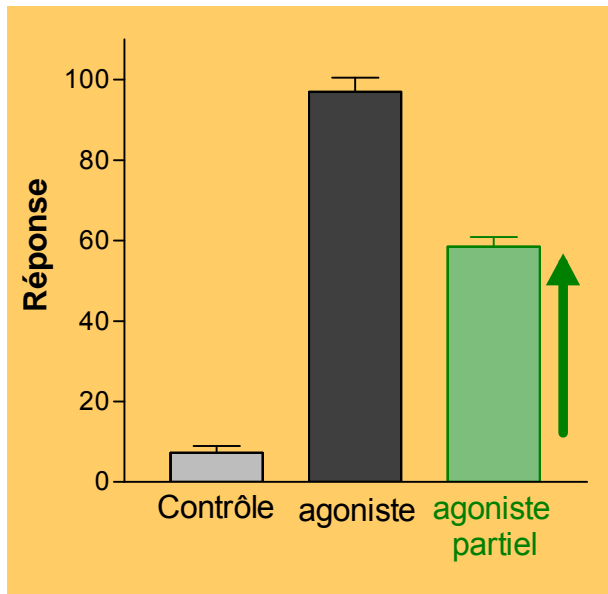
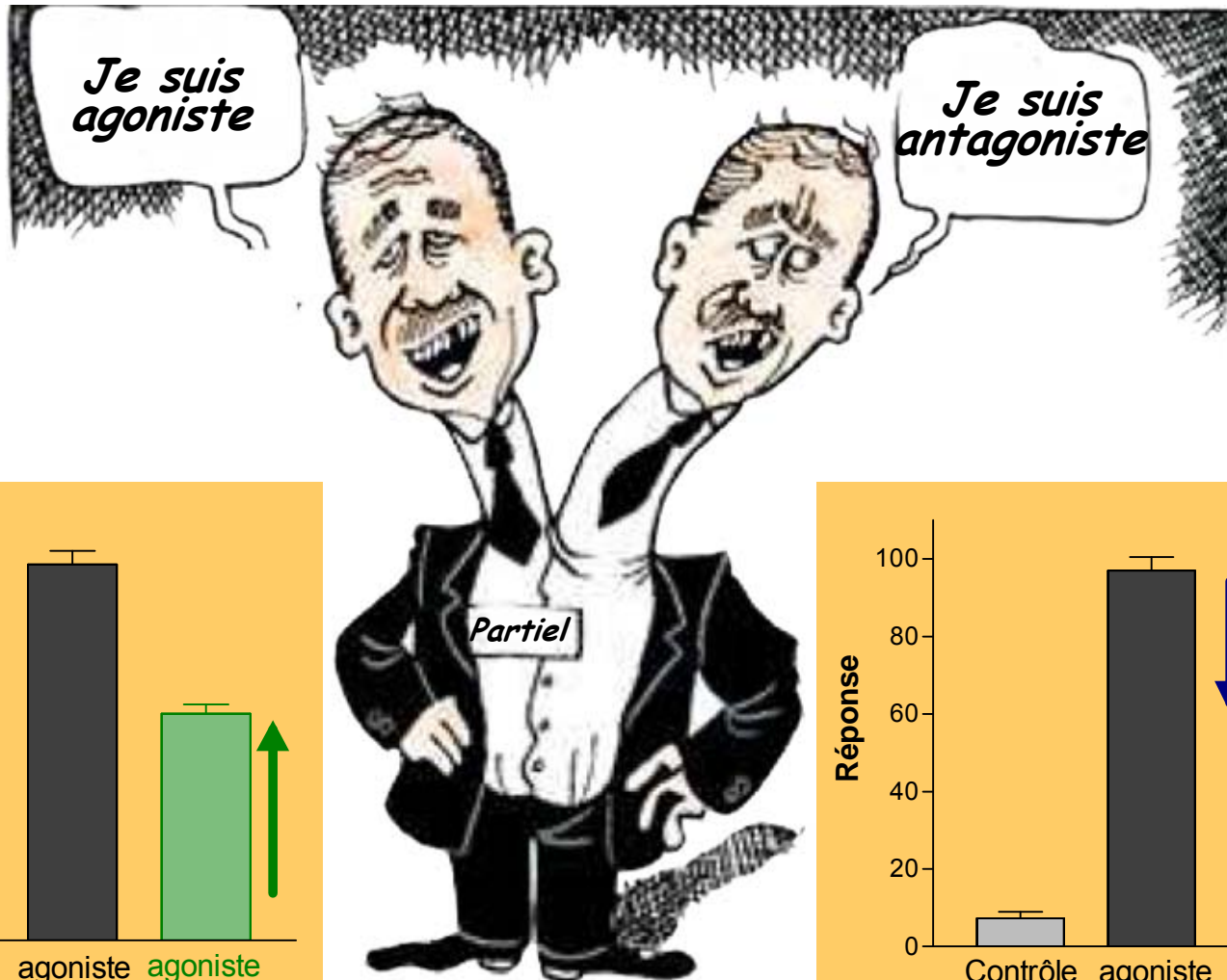


37°C

AGONISTE PARTIEL



# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel

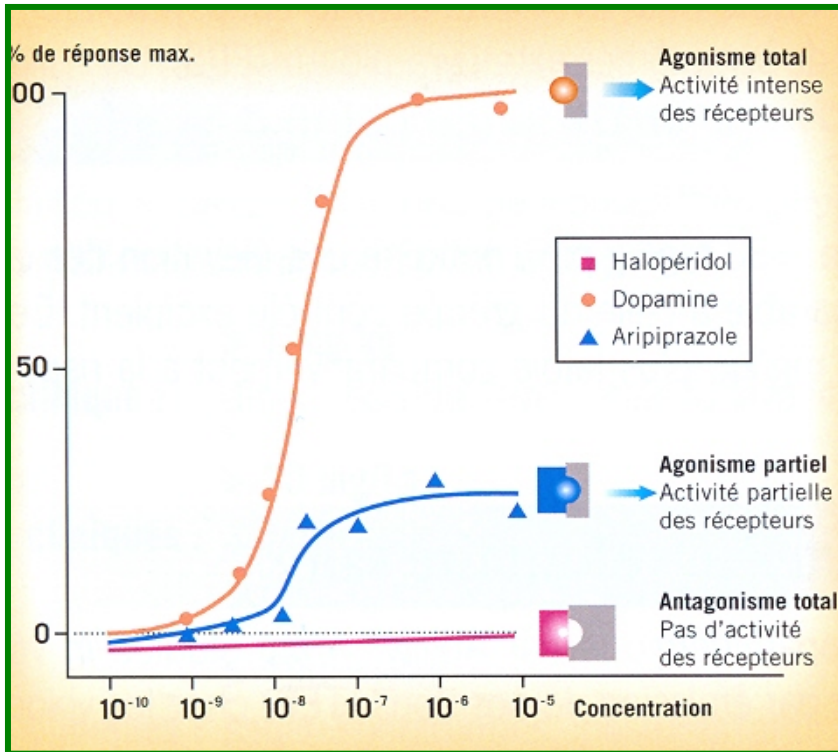


*L'effet d'un agoniste partiel dépendra du contexte*

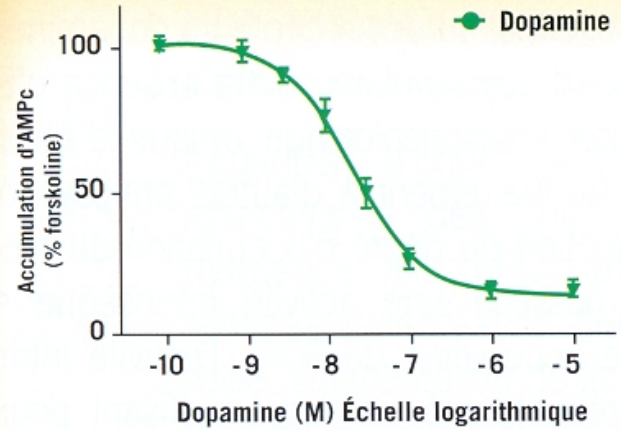
# Agoniste – Antagoniste – Agoniste partiel

## Aripiprazole, a Novel Antipsychotic, Is a High-Affinity Partial Agonist at Human Dopamine D2 Receptors

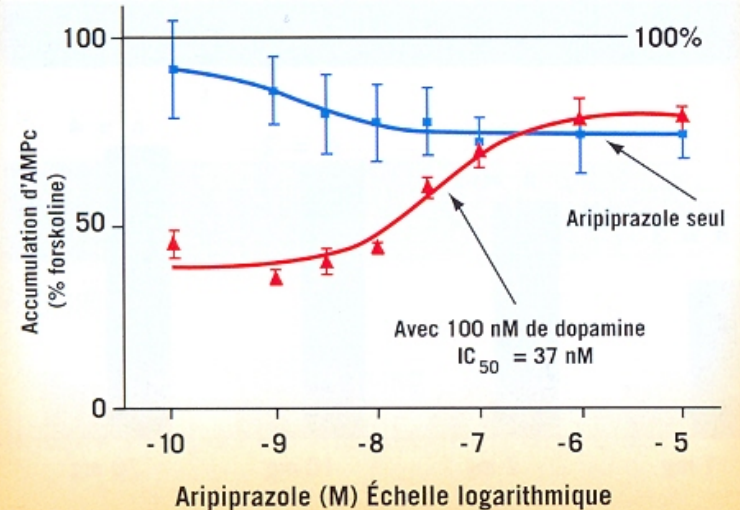
KEVIN D. BURRIS,<sup>1</sup> THADDEUS F. MOLSKI, CEN XU, ELAINE RYAN, KATSURA TOTTORI, TETSURO KIKUCHI, FRANK D. YOCCA, AND PERRY B. MOLINOFF<sup>1</sup>



### A. Action de la dopamine



### B. Action de l'aripiprazole en absence ou présence de 100 nM de dopamine



# Intérêt des agonistes partiels en pharmacothérapie



## Leur visage d'antagoniste

- permet de freiner la communication cellulaire excessive (endogène ou exogène)

## Leur visage d'agoniste

- maintient une activité de base, respectant une certaine physiologie
- Évite le blocage (responsable d'effets secondaires et de phénomènes d'adaptation)

# Intérêt des agonistes partiels en pharmacothérapie

Champix<sup>R</sup>

3474

*J. Med. Chem.* 2005, 48, 3474–3477

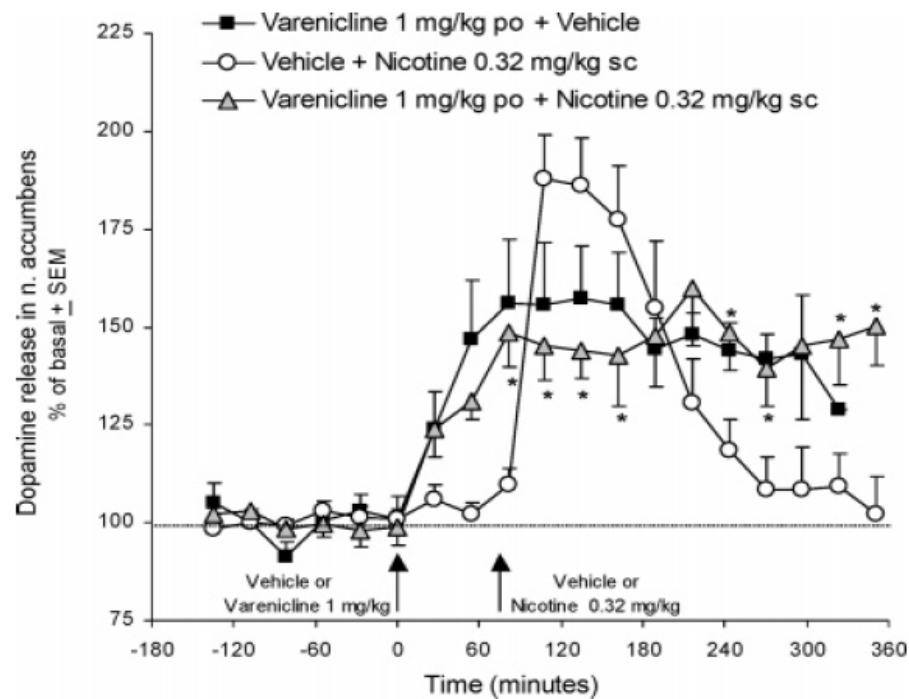
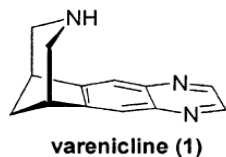
## Varenicline: An $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Receptor Partial Agonist for Smoking Cessation

Jotham W. Coe,\* Paige R. Brooks, Michael G. Vetelino, Michael C. Wirtz, Eric P. Arnold, Jianhua Huang, Steven B. Sands, Thomas I. Davis, Lorraine A. Lebel, Carol B. Fox, Alka Shrikhande, James H. Heym, Eric Schaeffer, Hans Rollema, Yi Lu, Robert S. Mansbach, Leslie K. Chambers, Charles C. Rovetti, David W. Schulz, F. David Tingley, III, and Brian T. O'Neill

*Pfizer Global Research and Development, Groton Laboratories, Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340*

*Received January 25, 2005*

**Abstract:** Herein we describe a novel series of compounds from which varenicline (1, 6,7,8,9-tetrahydro-6,10-methano-6H-pyrazino[2,3-h][3]benzazepine) has been identified for smoking cessation. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) mediate the dependence-producing effects of nicotine. We have pursued  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic receptor partial agonists to inhibit dopaminergic activation produced by smoking while simultaneously providing relief from the craving and withdrawal syndrome that accompanies cessation attempts. Varenicline displays high  $\alpha 4\beta 2$  nAChR affinity and the desired in vivo dopaminergic profile.

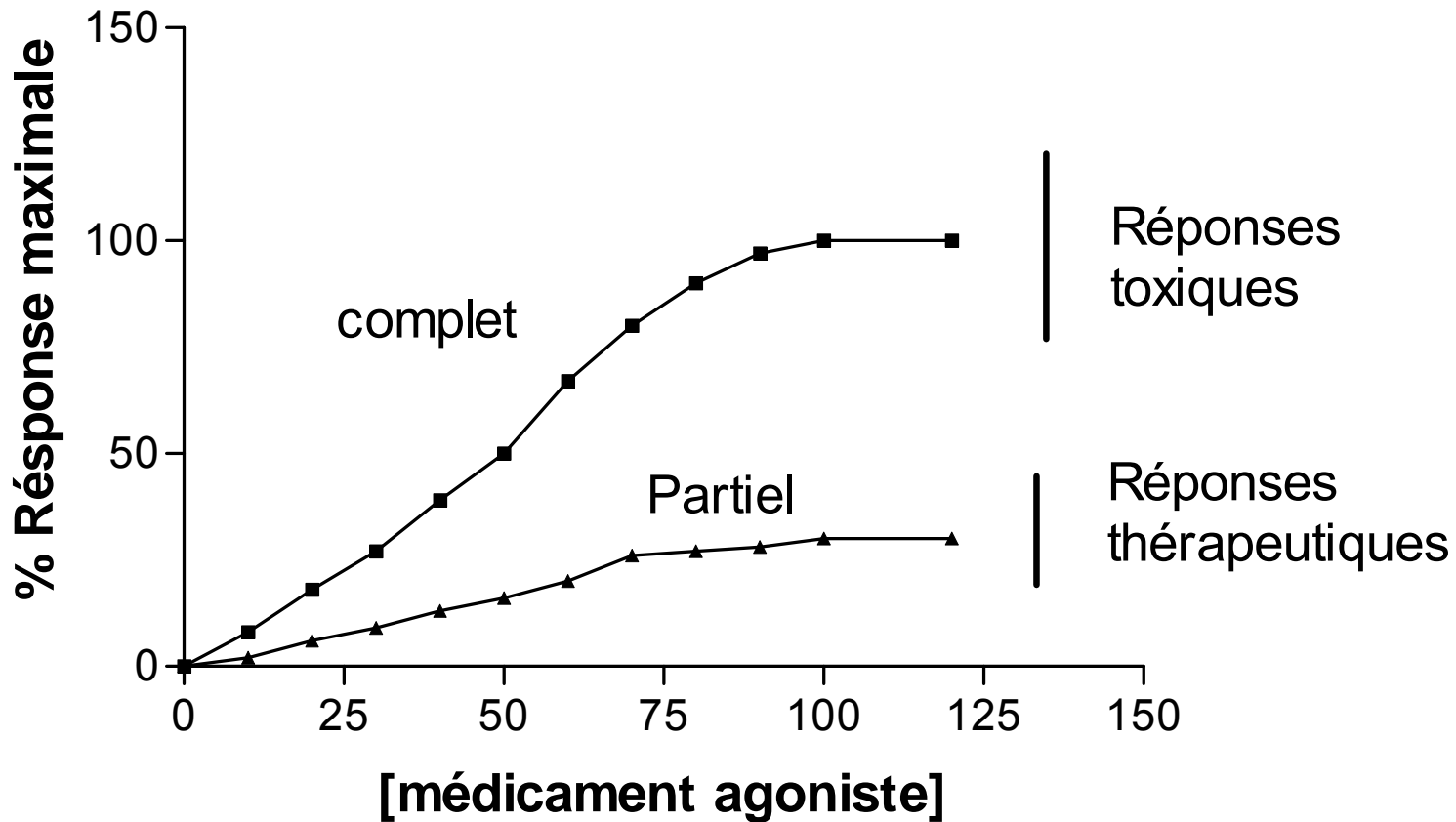


**Figure 2.** Time courses for the effects of 0.32 mg/kg sc nicotine (open circles) and 1.0 mg/kg po varenicline (1, filled squares) alone and in combination (triangles) on extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens of conscious Sprague–Dawley rats. Varenicline was administered 1 h before nicotine (arrows), and effects on dopamine release are expressed as a percentage of baseline (mean of last five predrug basal levels)  $\pm$  SEM ( $N = 4–6$ ). \* $p < 0.05$ : varenicline with nicotine vs nicotine alone (two-factor analysis, repeated measures, Western-Electric).

FOR RESPONSE TO :

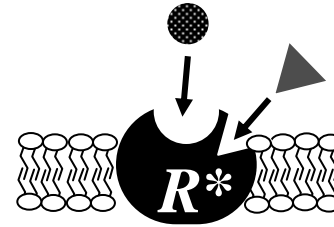


# Intérêt des agonistes partiels en pharmacothérapie



# Allostérie : notions fonctionnelles

*Les ligands allostériques ne sont ni agonistes ni antagonistes. Ils modifient la sensibilité du récepteur vis-à-vis d'un ligand orthostérique.*



## **Modulateur allostérique négatif :**

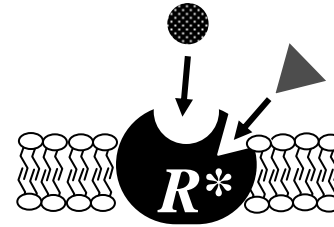
*En se fixant, il diminue l'affinité du ligand orthostérique. Il diminue ainsi l'affinité des agonistes et donc sont défavorables à l'activation de la cible.*

## **Modulateur allostérique positif :**

*En se fixant, il augmente l'affinité du ligand orthostérique. Il augmente ainsi l'affinité des agonistes et donc sont favorables à l'activation de la cible.*

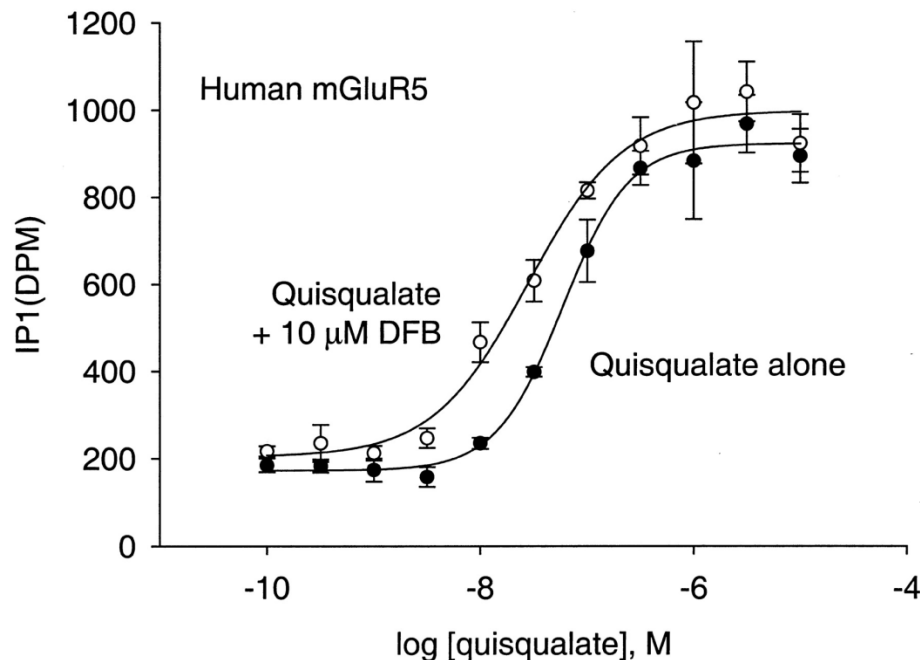
# Allostérie : notions fonctionnelles

*Les ligands allostériques ne sont ni agonistes ni antagonistes. Ils modifient la sensibilité du récepteur vis-à-vis d'un ligand orthostérique.*



*A Family of Highly Selective Allosteric Modulators of the Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 5*

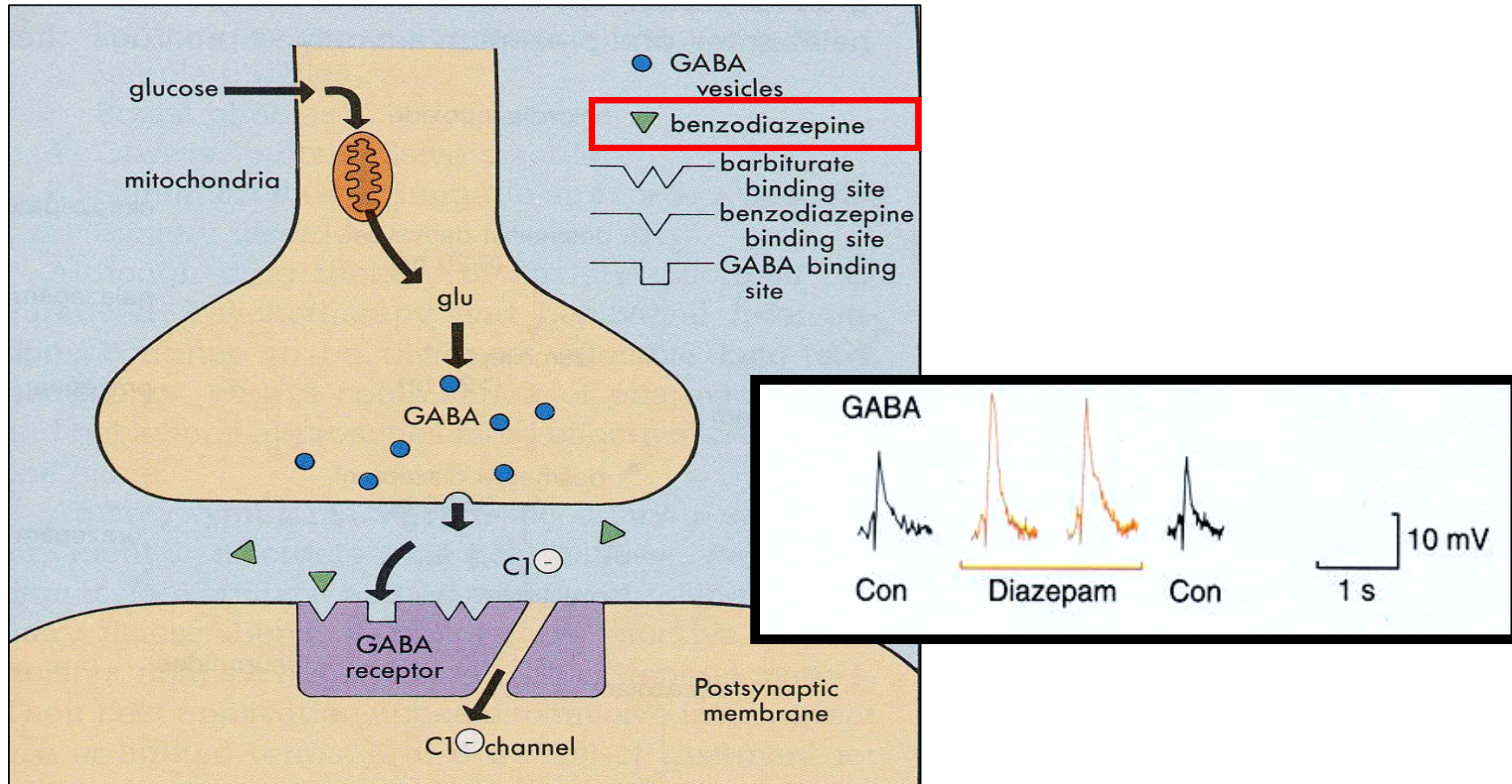
*Mol Pharmacol 64:731-740, 2003*



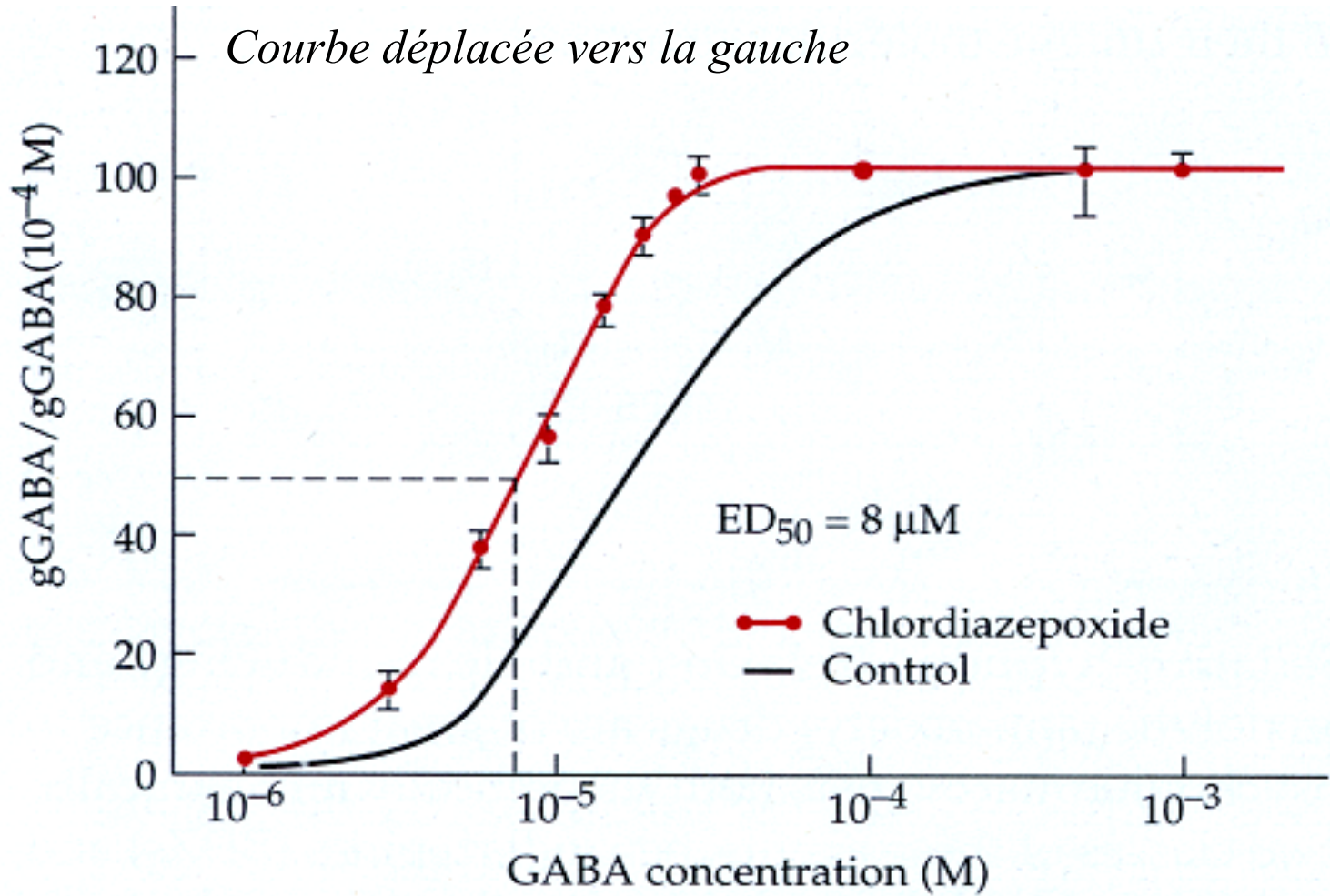
*Quisqualate : agoniste*  
*DFB : modulateur allostérique positif*

# Allostérie fonctionnelle: un exemple important

- Les benzodiazépines se lient au récepteur GABA-A



# Benzodiazépines : Mécanisme d'action



## **2. Récepteurs et cibles moléculaires**

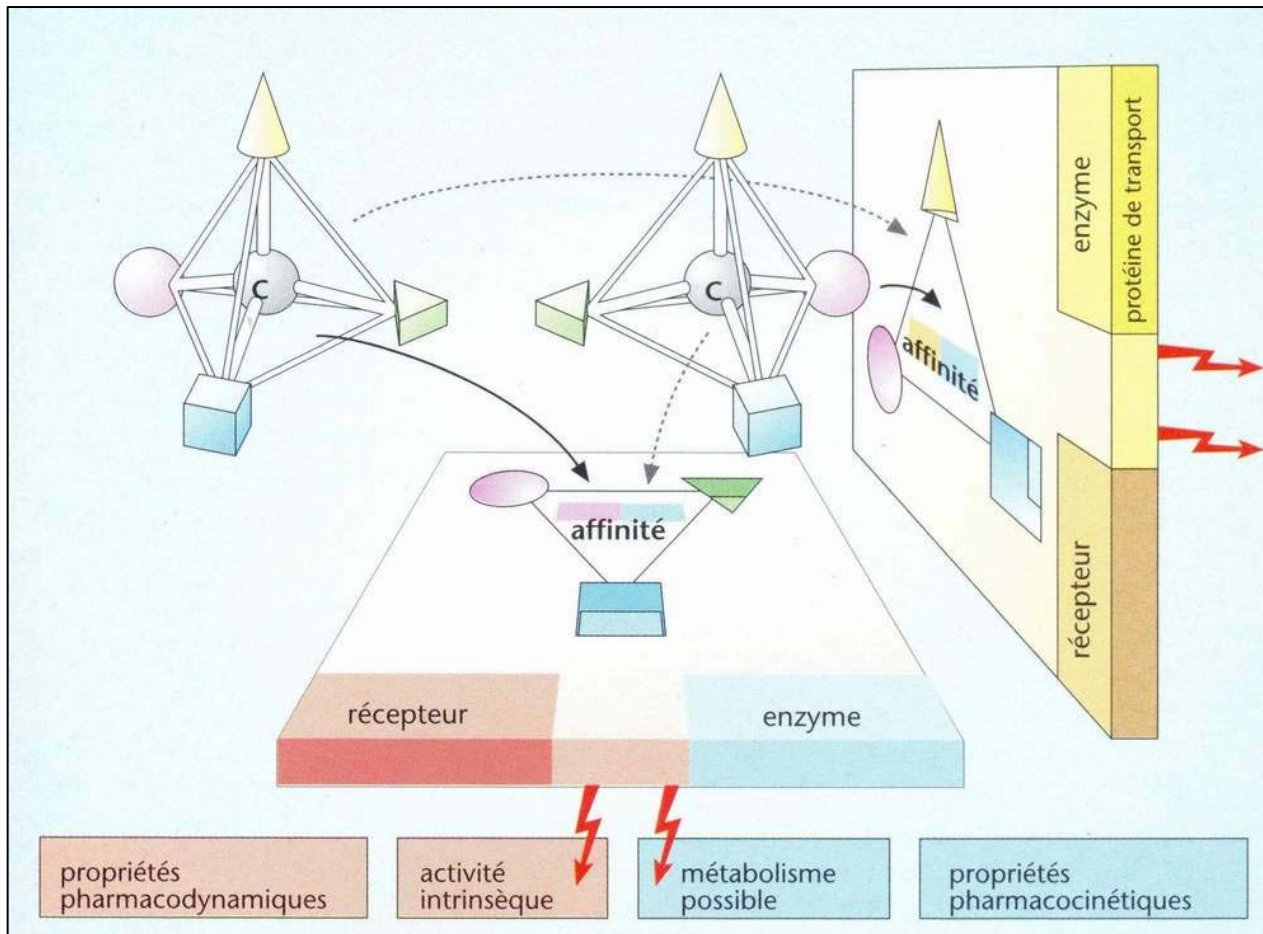
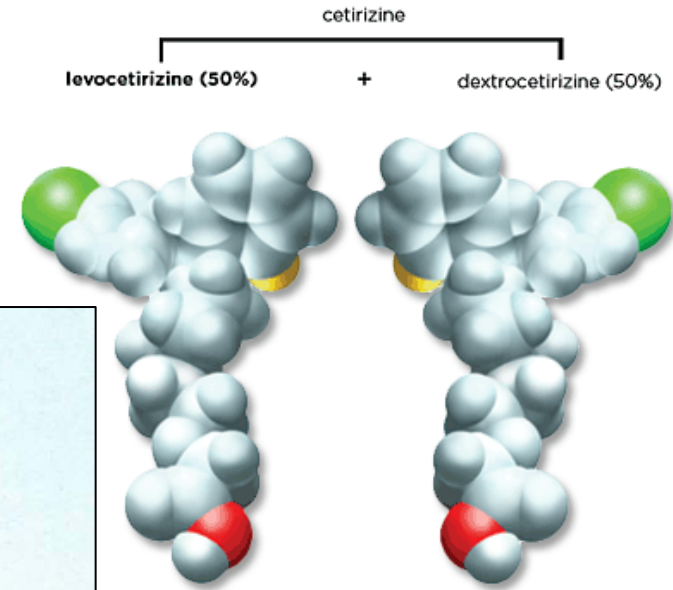
### **2.3. aspects moléculaires**

- stéréospécificité
- localisation
- aspects structuraux

## Propriétés des récepteurs

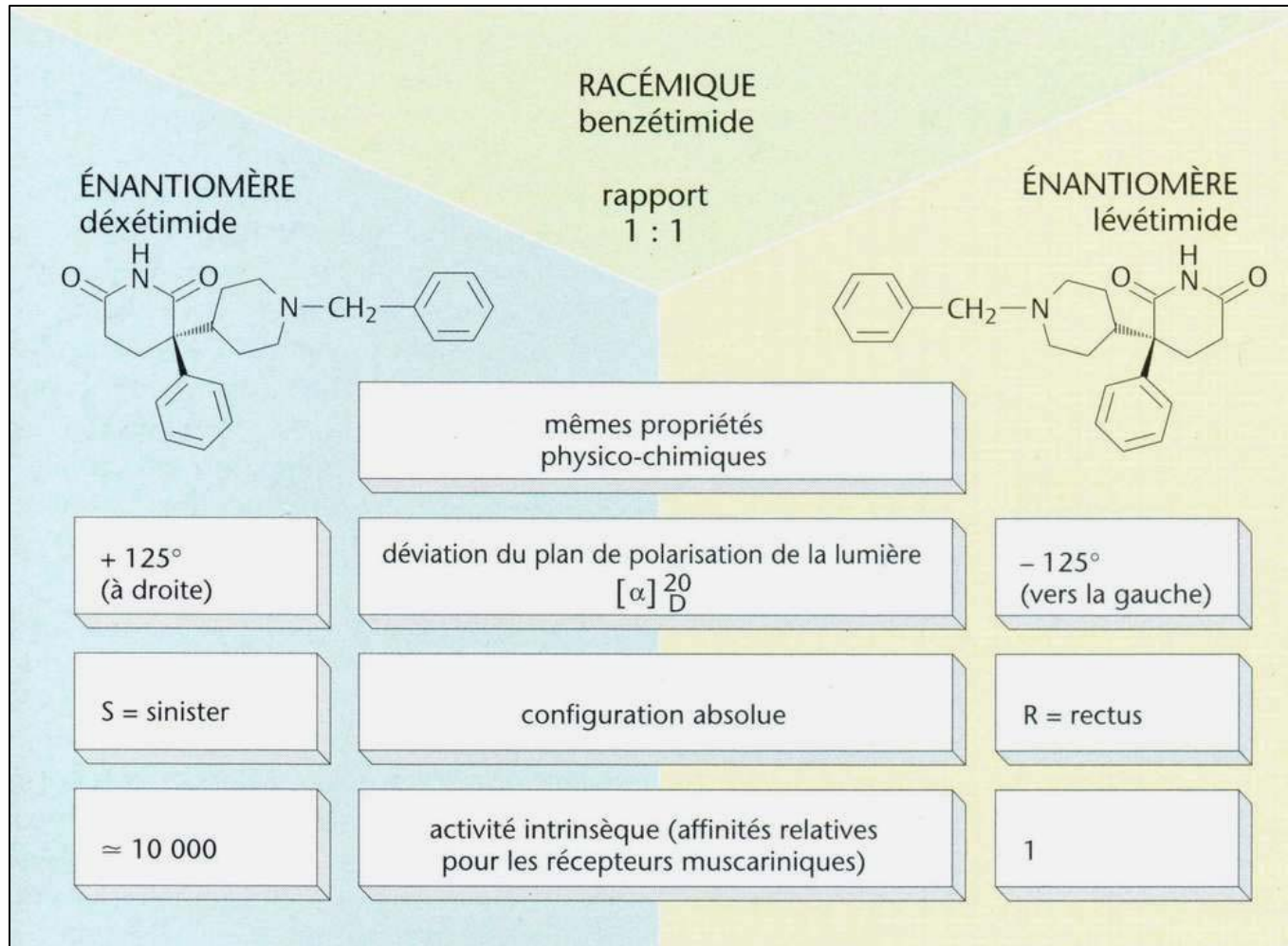
- Liaison de ligands (un transmetteur) avec une haute **affinité**. L'affinité du transmetteur est compatible avec les concentrations physiologiques de ce transmetteur.
- La liaison est **réversible (non covalente)**
- La liaison est **déplaçable** par des substances de classes chimiques différentes
- **Spécificité** structurale (stérique)
- Liaison **stéréosélective** (isomères optiques)
- Liaison **saturable**
- La liaison est spécifique des cellules où est décelée la **réponse fonctionnelle**
- La liaison du transmetteur induit une **réponse**. Corrélation entre concentration et effet.
- **Distribution** régionale et subcellulaire précise
- Caractérisation **moléculaire**
- Processus de **régulation**.

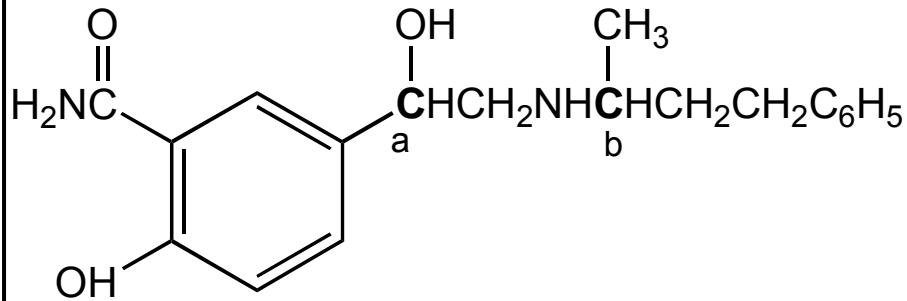
• Liaison stéréosélective (isomères optiques)



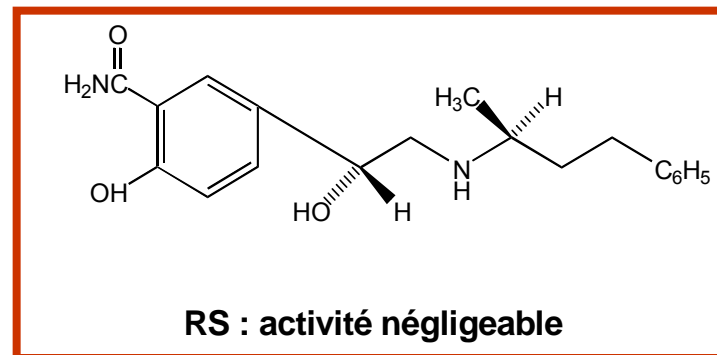
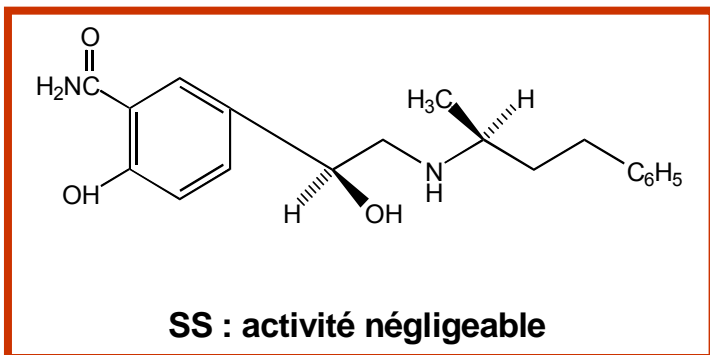
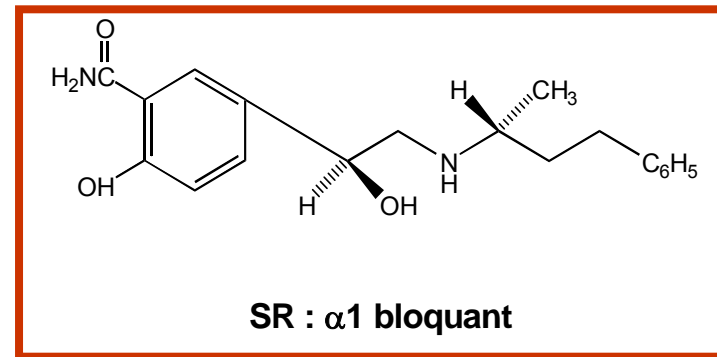
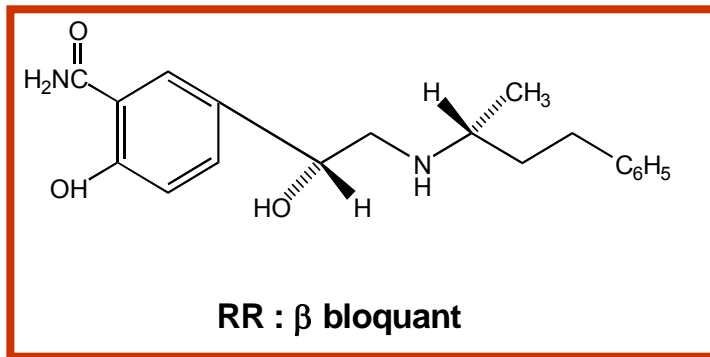


• Liaison **stéréosélective** (isomères optiques)





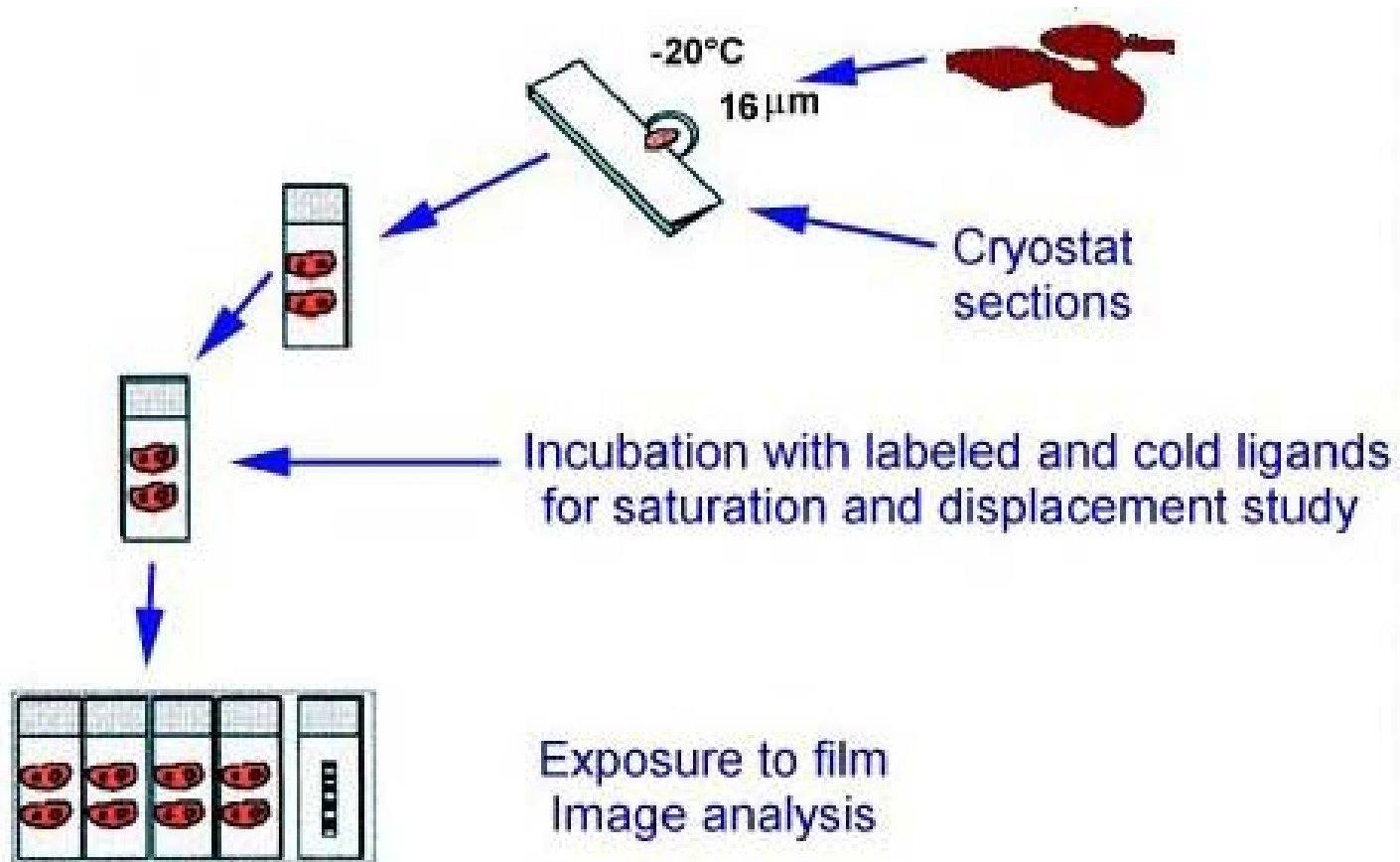
*Labétolol : 2 carbones  
asymétriques, soit 4  
énantiomères*



*Les stéréoisomères ont des propriétés pharmacodynamiques différentes!*

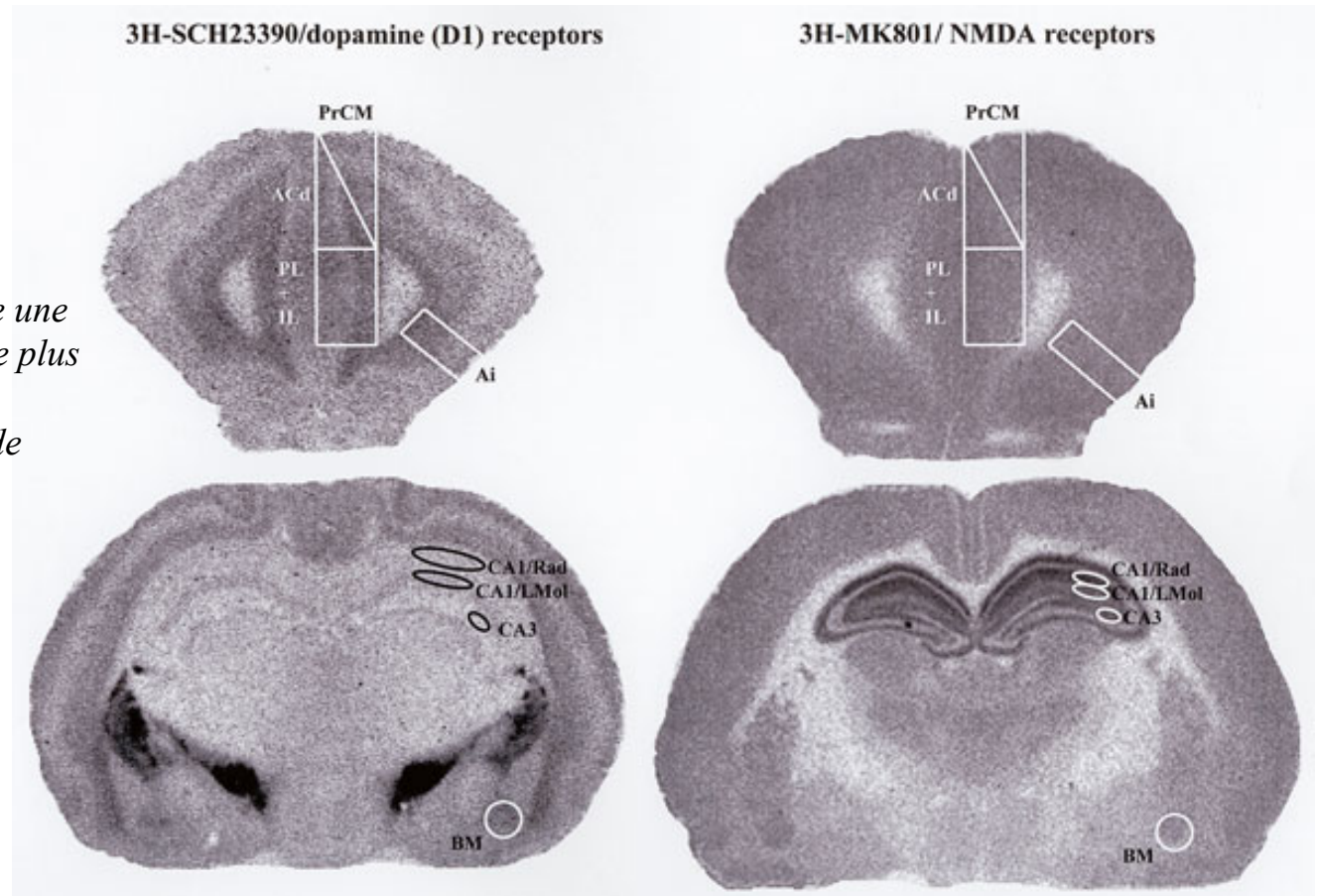
# Localisation tissulaire définie des récepteurs :

étude par autoradiographie de la liaison d'un radioligand



# Localisation tissulaire définie des récepteurs :

étude par autoradiographie de la liaison d'un radioligand



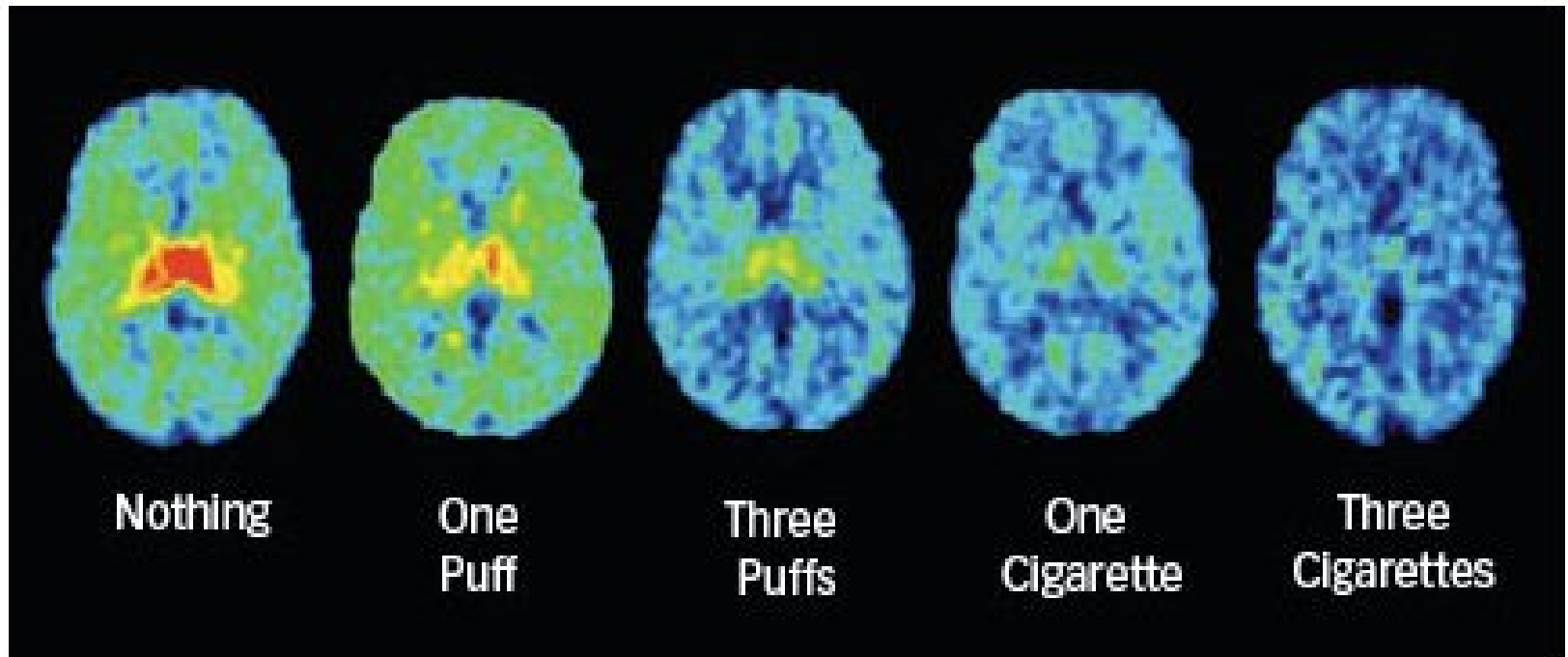
*L'intensité du signal reflète une quantité de radioligand liée plus importante et indique ainsi indirectement une densité de récepteur plus élevée*

# Localisation tissulaire définie des récepteurs :

étude par autoradiographie de la liaison d'un radioligand



**SMOKING SATURATES RECEPTORS** As nicotine from a cigarette attaches to the  $\alpha 4\beta 2^*$ -nACh nicotinic receptors in the brain, it displaces a radiolabeled tracer (red and yellow indicate high levels of the tracer, green indicates intermediate levels, and blue indicates low levels). The nicotine from three puffs displaced 75 percent of the tracer from study participants' receptors, and the nicotine from three cigarettes, nearly all.

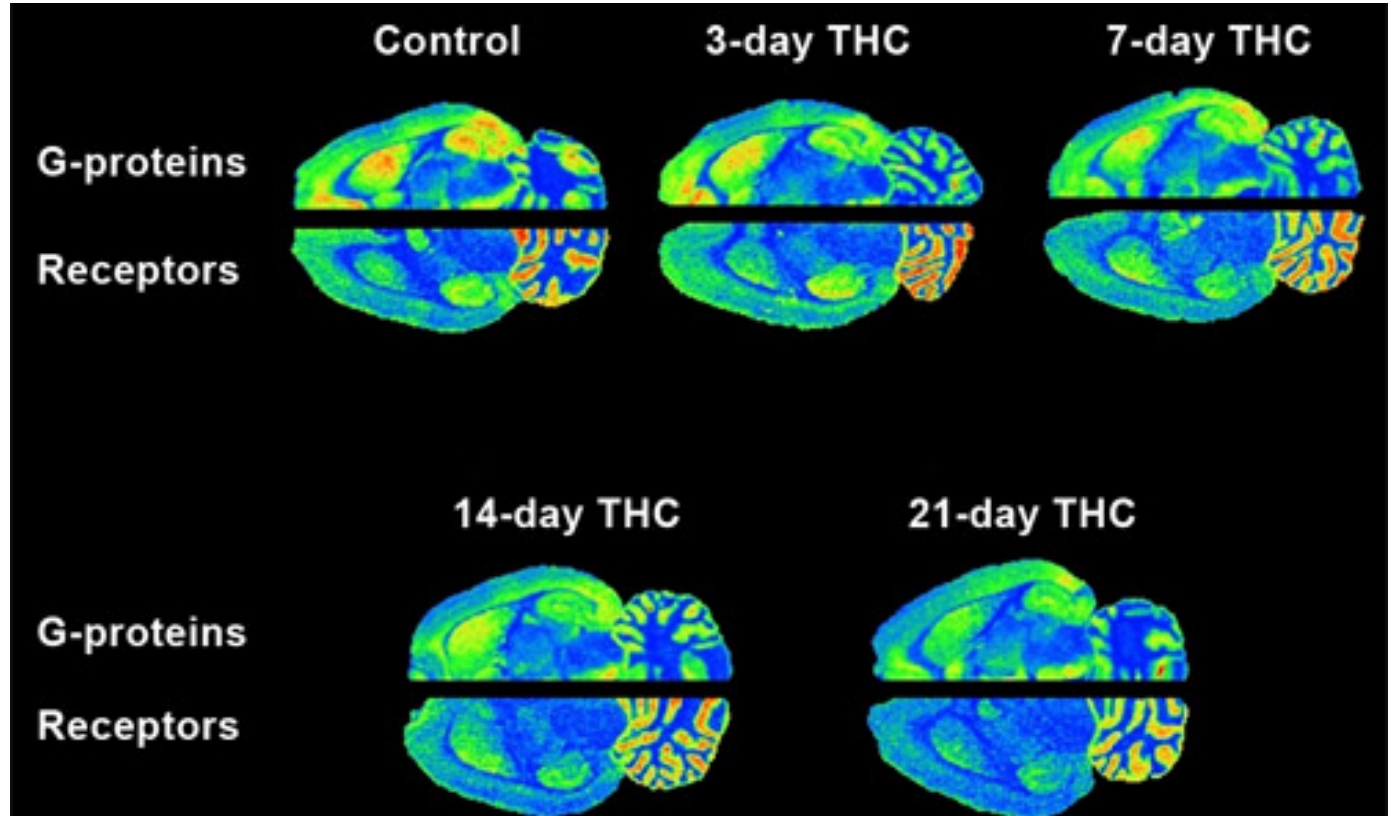


Themed Issue: Drug Addiction - From Basic Research to Therapies  
Guest Editors - Rao Rapaka and Wolfgang Sadée

## Activation of G-proteins in Brain by Endogenous and Exogenous Cannabinoids

Submitted: December 23, 2005; Accepted: December 29, 2005; Published: March 10, 2006

Steven R. Childers<sup>1</sup>



Effect of chronic treatment of rats with  $\Delta^9$ -THC on WIN 55212-2-stimulated [ $^{35}$ S]GTP $\gamma$ S binding (top) and [ $^3$ H]SR141716A binding, determined by autoradiography of brain sections. Rats were treated with 10 mg/kg  $\Delta^9$ -THC for 3 to 21 days. Note the time-dependent reductions in [ $^{35}$ S]GTP $\gamma$ S binding in hippocampus, caudate, globus pallidus, and cerebellum.

# Description moléculaire et fonctionnelle des récepteurs

## Les principaux types de récepteurs

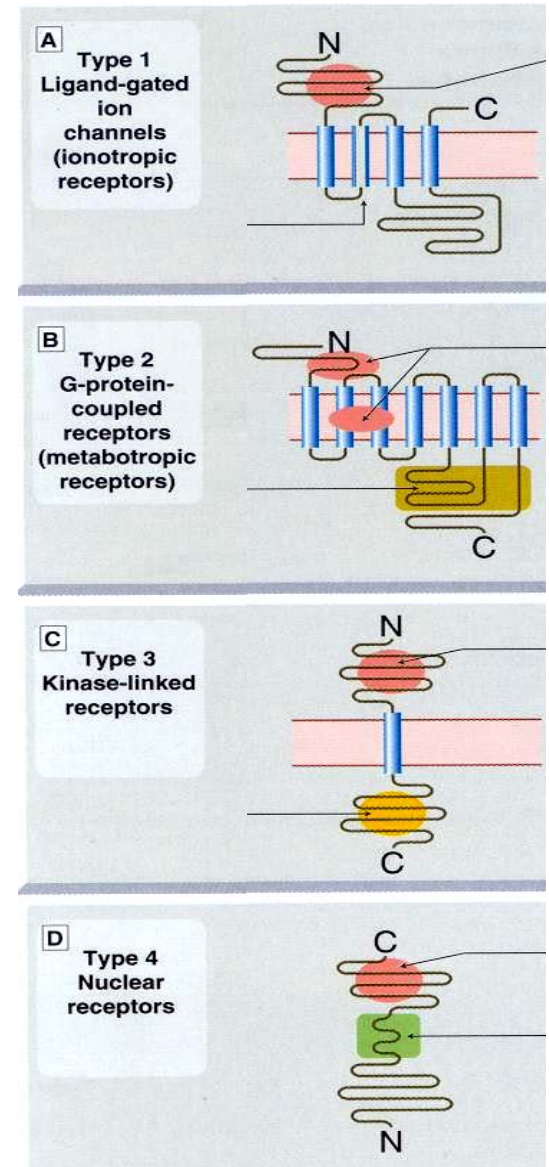
4 grandes classes distinctes :

Les récepteurs-canaux  $\begin{cases} \rightarrow \text{Ligand-dép.} \\ \rightarrow \text{Voltage-dép.} \end{cases}$

Les récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs - tyrosine kinase

Les récepteurs intracellulaires





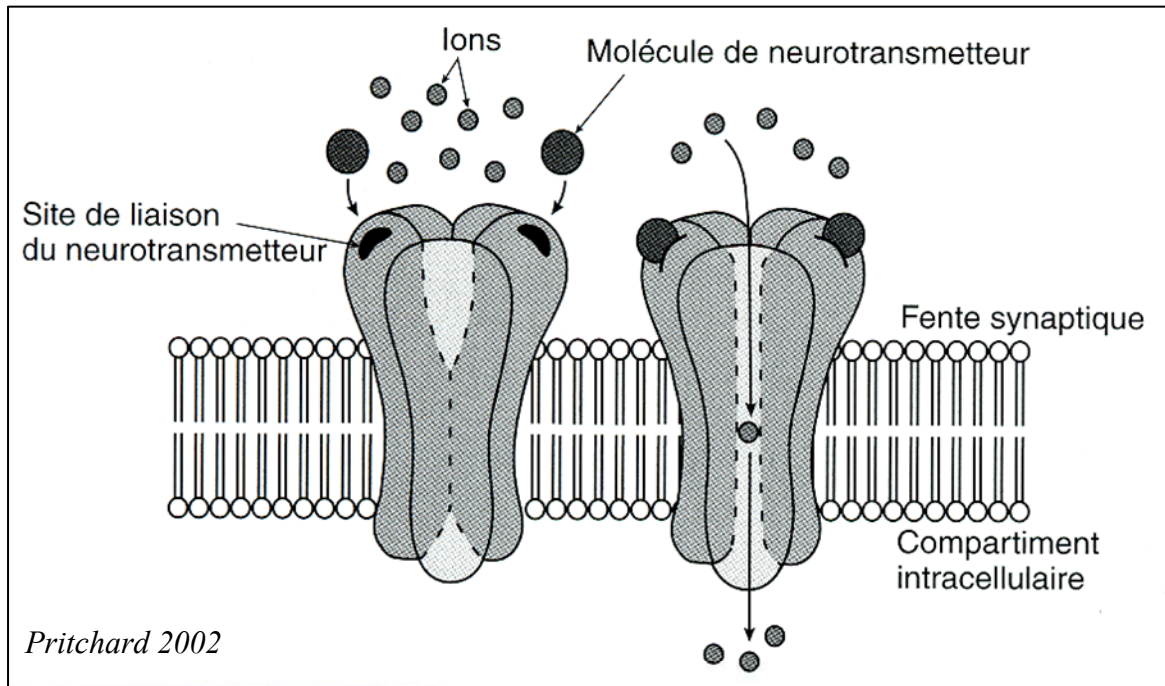
# Les récepteurs-canaux ioniques (ionotropiques)

= Canaux ioniques ligands dépendants

- Protéines membranaires impliquées dans le passage d'ions selon leur gradient de concentration
- ions entrants :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$
- ion sortant :  $\text{K}^+$
- Leur ouverture se fait en réponse à un neurotransmetteur (GABA, glutamate)

	<u>out</u>	<u>in</u>
$\text{Na}^+$	140 mM	14 mM
$\text{Ca}^{2+}$	1 mM	$10^{-7}\text{M}$
$\text{Cl}^-$	147 mM	14 mM
$\text{K}^+$	5 mM	140 mM

*(se distinguent des canaux voltage dépendants qui s'ouvrent en réponse à une modification du potentiel de membrane)*



# Les canaux ioniques ligands dépendants (*récepteurs ionotropiques*)

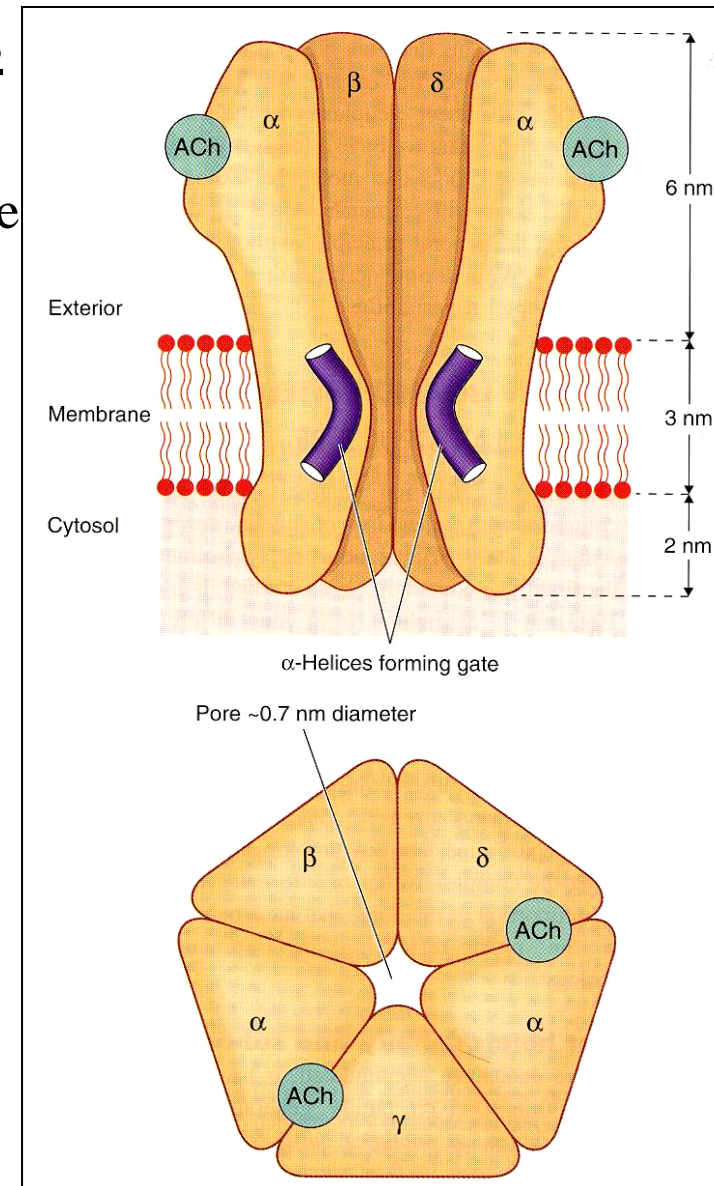
Modèle-type : récepteur nicotinique de l'acétylcholine

Structure :

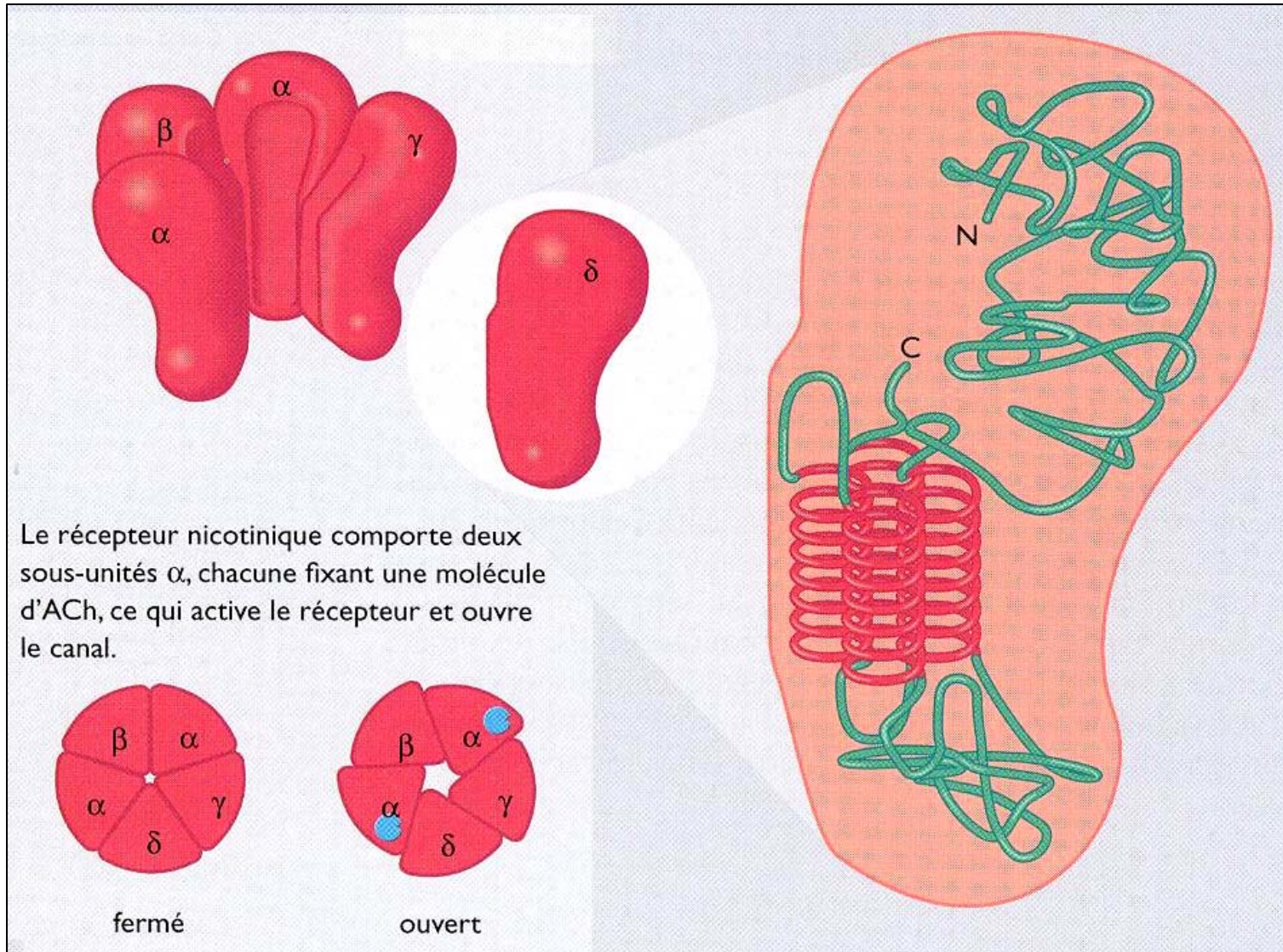
- 5 sous-unités : ( $\alpha$ - $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$ )
- Chaque sous-unité = 4 domaines transmembranaires
- 2 sites de fixation pour l'acétylcholine (jouxent les sous-unité  $\alpha$ )
- fixations simultanées indispensables à l'activation
- Les agonistes permettent la perméabilité au  $\text{Na}^+$
- Couplage direct = réponse immédiate

Exemples :

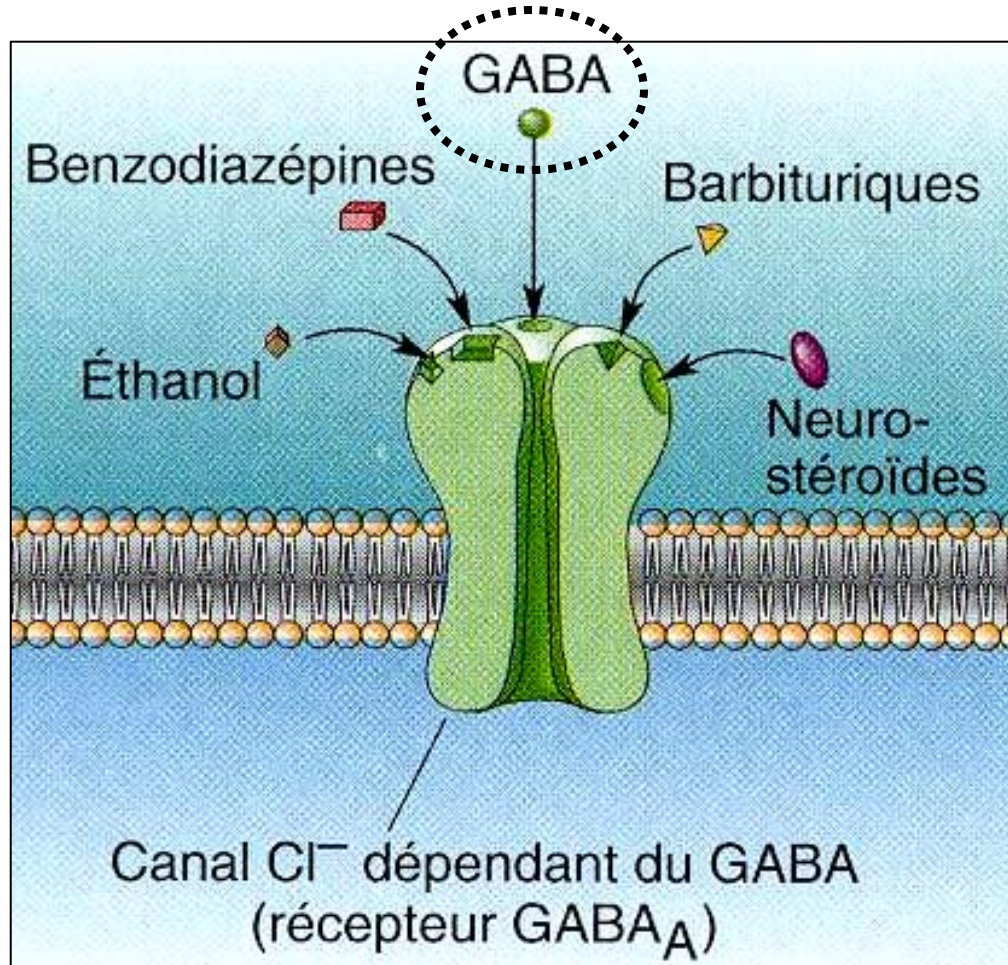
- Récepteur nicotinique de l'acétylcholine ( $\text{Na}^+$ )
- Récepteur  $\text{GABA}_A$  de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique ( $\text{Cl}^-$ )
- Récepteur  $5\text{HT}_3$  de la sérotonine ( $\text{Na}^+$ )
- Récepteurs NMDA du glutamate ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ )



# Les récepteurs-canaux ioniques (ionotropiques)

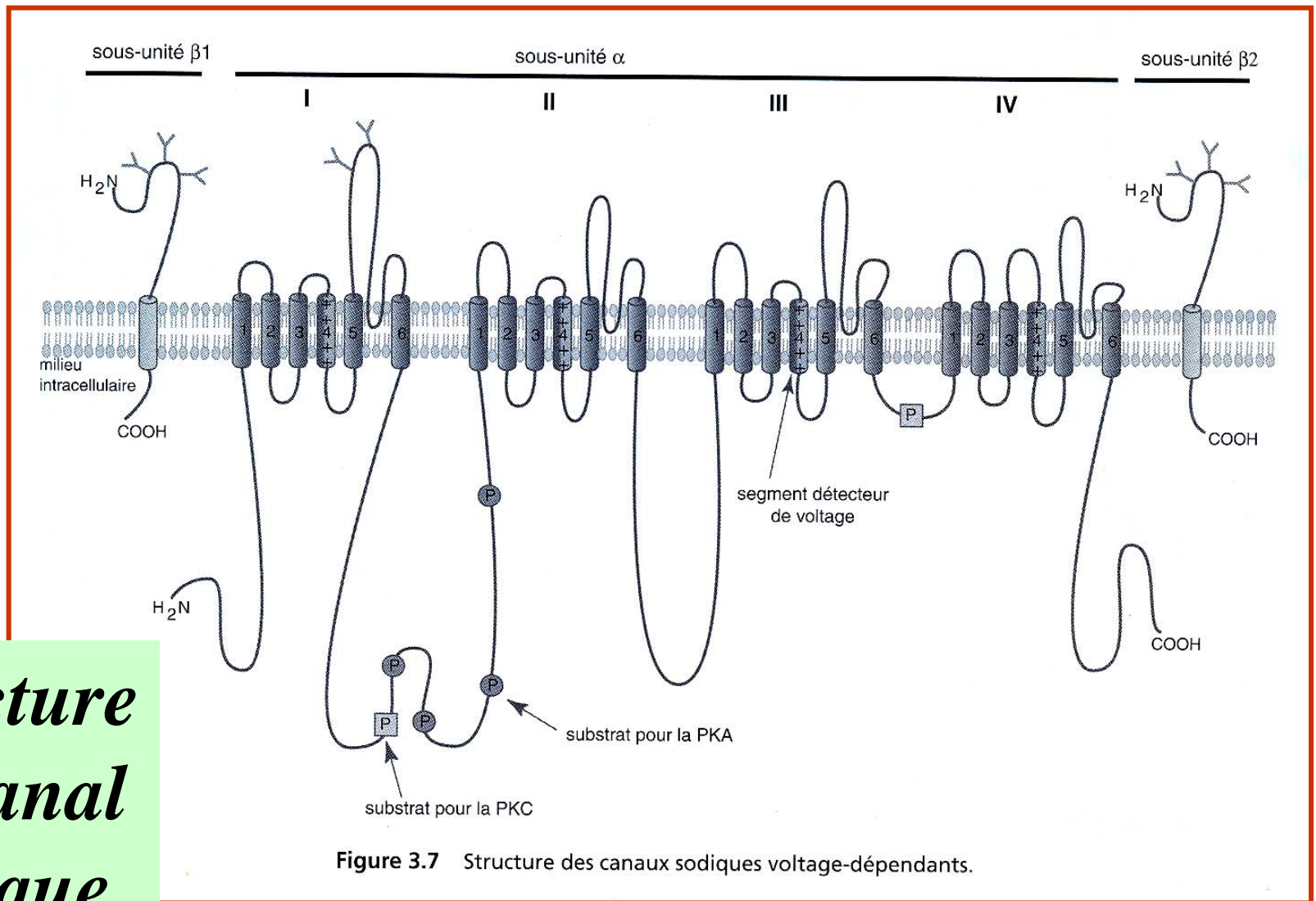


# Les canaux ioniques ligands dépendants : pharmacologie (*récepteurs ionotropiques*)



Présence de nombreux sites modulateurs, agonistes, agonistes inverses, antagonistes compétitifs et antagonistes non-compétitifs, exploités en pharmacologie

# Les canaux ioniques voltage dépendants



*Structure  
du canal  
sodique*

Figure 3.7 Structure des canaux sodiques voltage-dépendants.

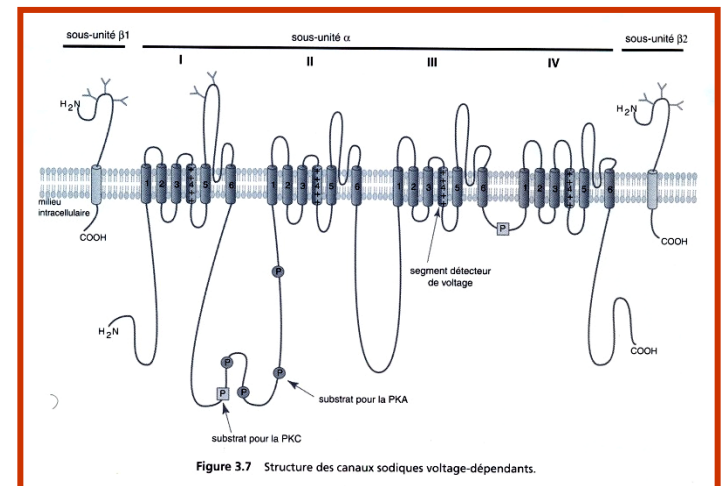
# Canal ionique Na<sup>+</sup>, voltage dépendant

## sous-unité $\alpha$ :

- 1 seul long peptide principal de 280 Kda
- 4 motifs de 6 hélices transmembranaires
- Entre les motifs 1 et 2 : sites de phosphorylation (régulation)
- Hélices IV : riches en arginine/lysine, sensibilité au voltage
- Hélices V & VI + boucles : pore, passage des ions

## sous-unités $\beta$ :

2 petites sous-unités avec une seule hélice transmembranaire (rôle inconnu, mineur)



---

# **Canal ionique Na<sup>+</sup>, voltage dépendant**

**Pas de modulation spécifique directe par un ligand endogène, mais bien par le voltage (rôle dans la conduction des potentiels d'action)**

**Modulation physiologique indirecte par des autres récepteurs régulant ces canaux (cfr dia suivante)**

**Modulation par des agents pharmacologiques (bloqueurs) :**

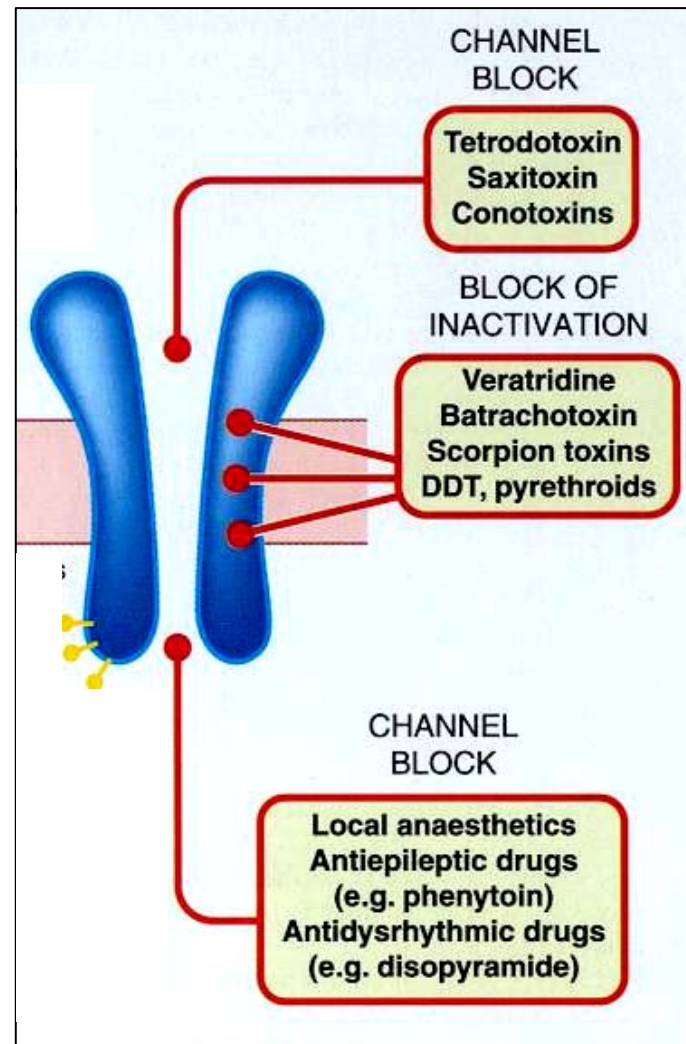
Anesthésiques locaux (ex : lidocaïne, xylocaïne)

Antiarythmiques (ex : lidocaïne)

Antiépileptiques (ex : phénytoïne)

## Remarque sur les canaux ioniques voltage dépendants

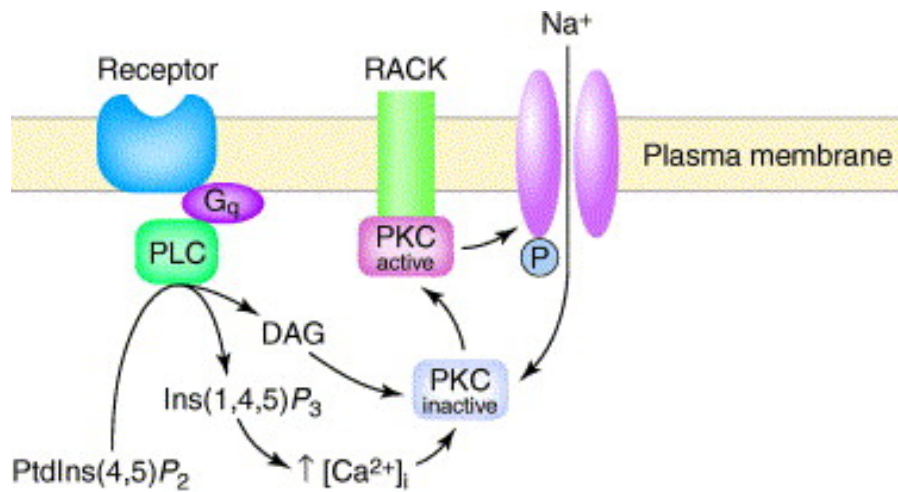
- Les canaux ioniques voltages dépendants ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) sont également la cible de certains médicaments.
- Ils opèrent en bloquant (ou en maintenant ouvert) le canal.
- Ils se distinguent des canaux ligands dépendants par leur sensibilité primaire au voltage et non à un transmetteur endogène.
- Exemple : les anesthésiques locaux inhibent la conduction nerveuse en bloquant les canaux  $\text{Na}^+$  voltage dépendants



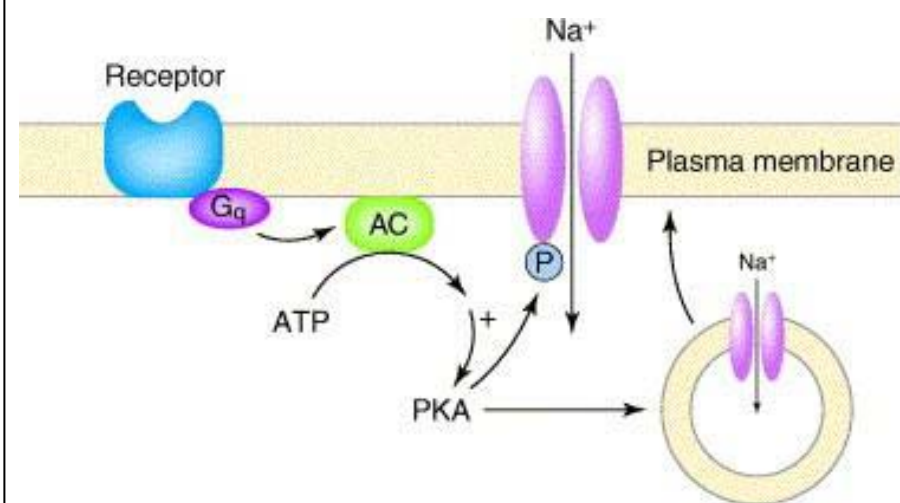


## Remarque sur les canaux ioniques voltage dépendants

*Les canaux ioniques peuvent être modulés de façon indirecte : par exemple par des kinases*



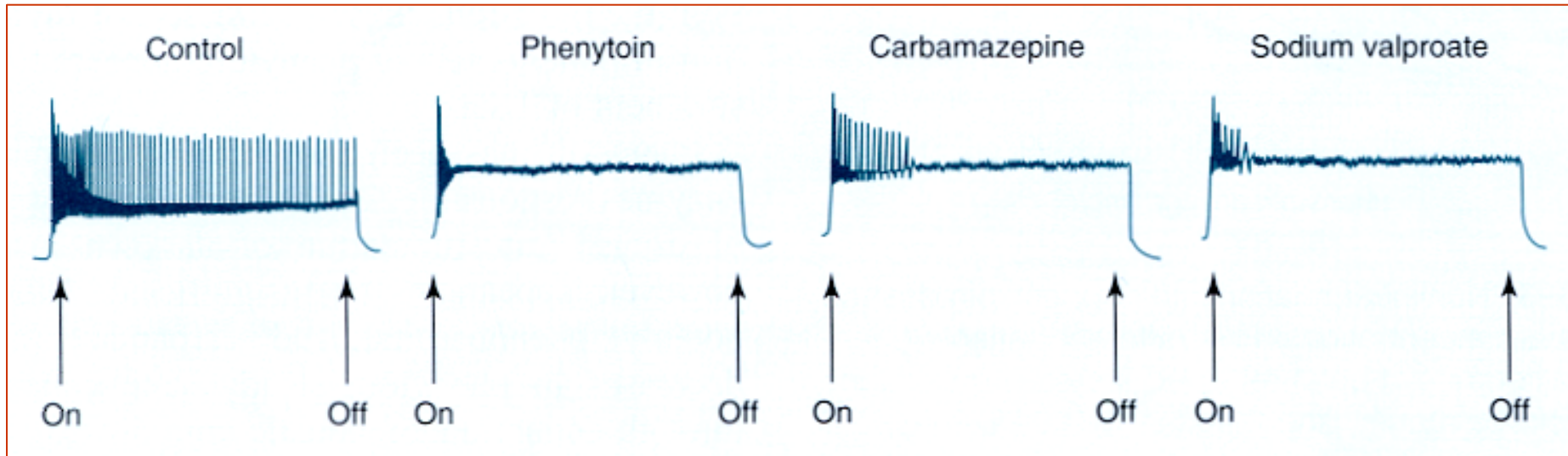
TRENDS in Pharmacological Sciences



TRENDS in Pharmacological Sciences

## Remarque sur les canaux ioniques voltage dépendants

### Antiépileptiques et conductance sodique



Ces substances prolongent la durée de l'état inactivé (post-activation) des canaux sodiques

(Katzung, 1998)

# Canal ionique K<sup>+</sup>

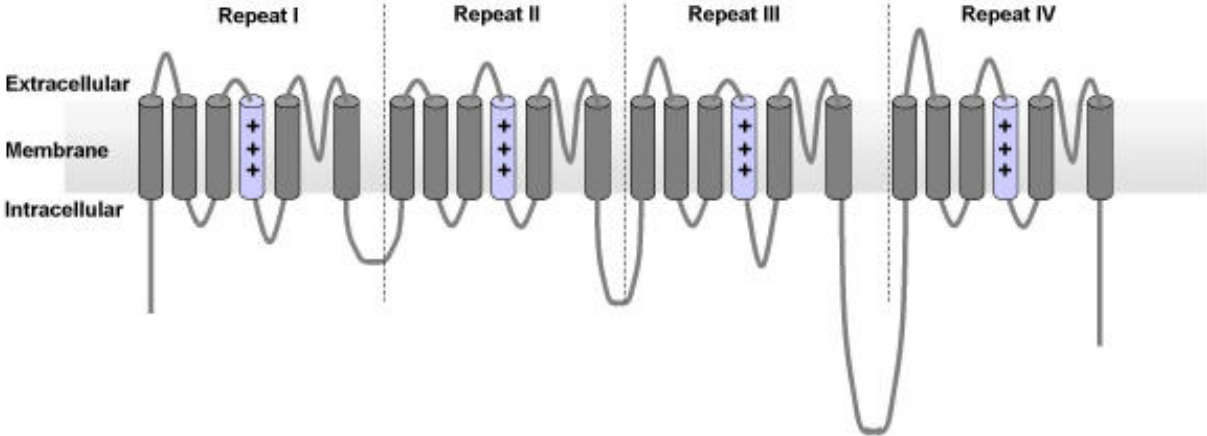
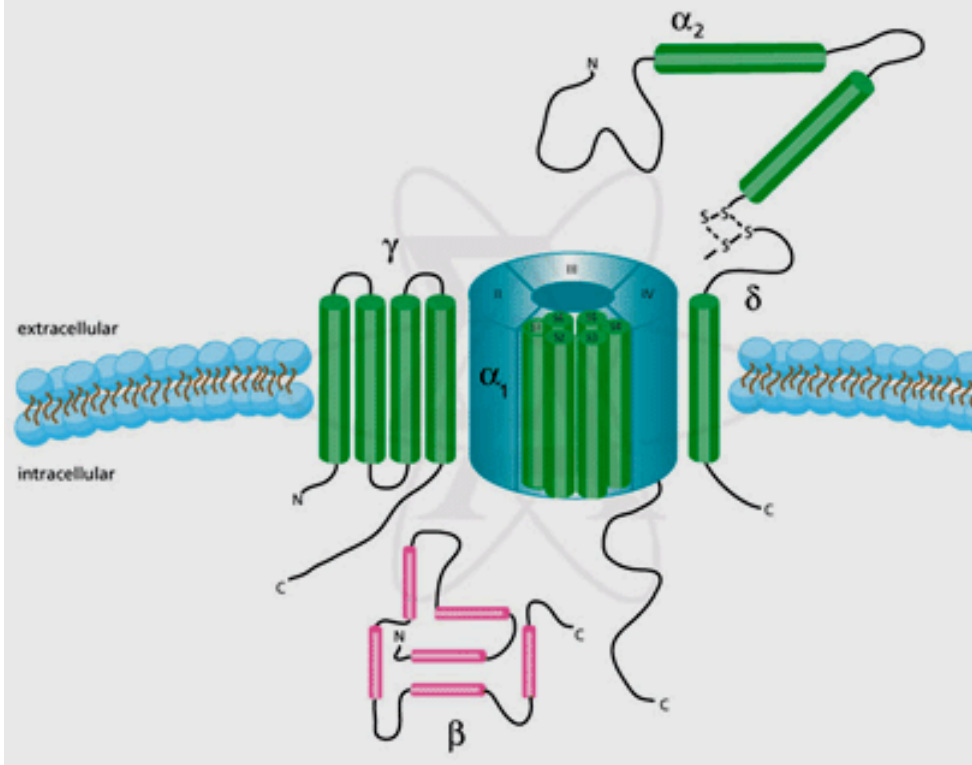
- Très grande famille, grande diversité de structure (plusieurs sous-unités, de 2 à 7 hélices transmembranaires)
- Modulation physiologiques par :
  - le voltage (re-polarisation)
  - les protéines G
  - l'ATP intracellulaire
  - le Ca<sup>2+</sup> intracellulaire
- Modulation pharmacologique : diverses classes de médicaments.
- Exemple :

Certains antidiabétiques bloquent les canaux K<sup>+</sup> sur les cellules  $\beta$  du pancréas (insuline). Fermeture du canal = dépolarisation prolongée = libération accrue d'insuline.

# Canal ionique Ca<sup>2+</sup>

- Grande famille (très nombreux gènes différents)
- Structure : un grand peptide de 4 motifs x 6 hélices transmembranaires (cfr canal Na<sup>+</sup> voltage dép) + sous unités  $\beta$ ,  $\chi$ ,  $\delta$  modulatrices
- Modulation physiologique :
  - essentiellement par le voltage
  - par les sous-unités beta-gamma des protéines G
  - par le calcium cytosolique (interaction avec la calmoduline liant le calcium)
- Modulation pharmacologique :
  - Spécificité assurée par la nature de petites sous-unités modulatrices :
  - Exemple : les canaux contenant  $\beta_4$  (surtout vasculaires = canaux L, lents) sont sensibles aux *dihydropiridines* (Nifédipine, Vérapamil) = relaxant vasculaires = antihypertenseurs.

# Canal ionique Ca<sup>2+</sup> perméable, voltage dépendant



# Description moléculaire et fonctionnelle des récepteurs

## Les principaux types de récepteurs

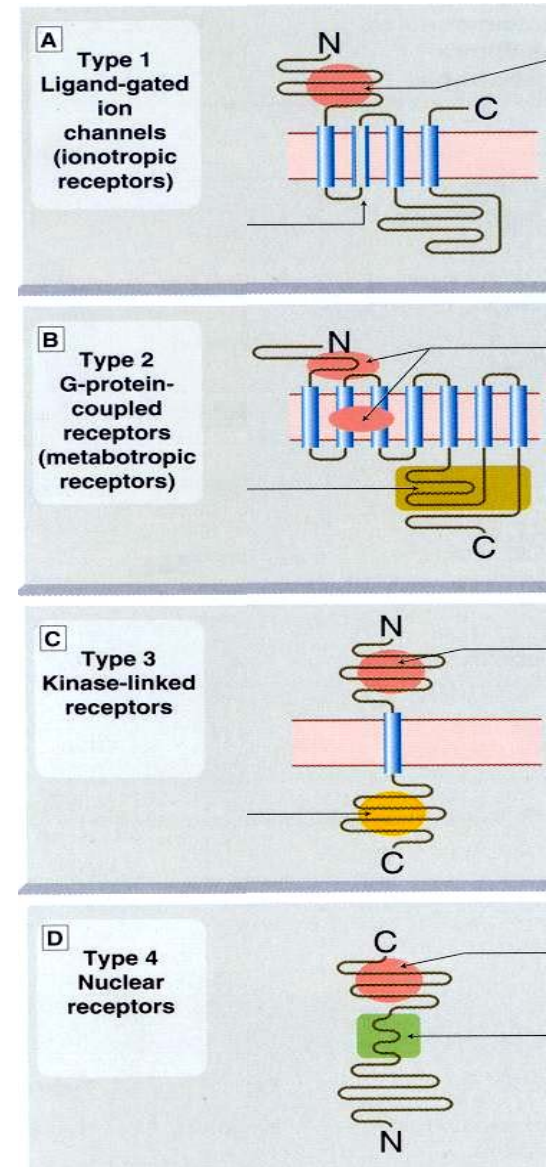
4 grandes classes distinctes :

Les récepteurs-canaux  $\begin{cases} \rightarrow \text{Ligand-dép.} \\ \rightarrow \text{Voltage-dép.} \end{cases}$

Les récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs - tyrosine kinase

Les récepteurs intracellulaires

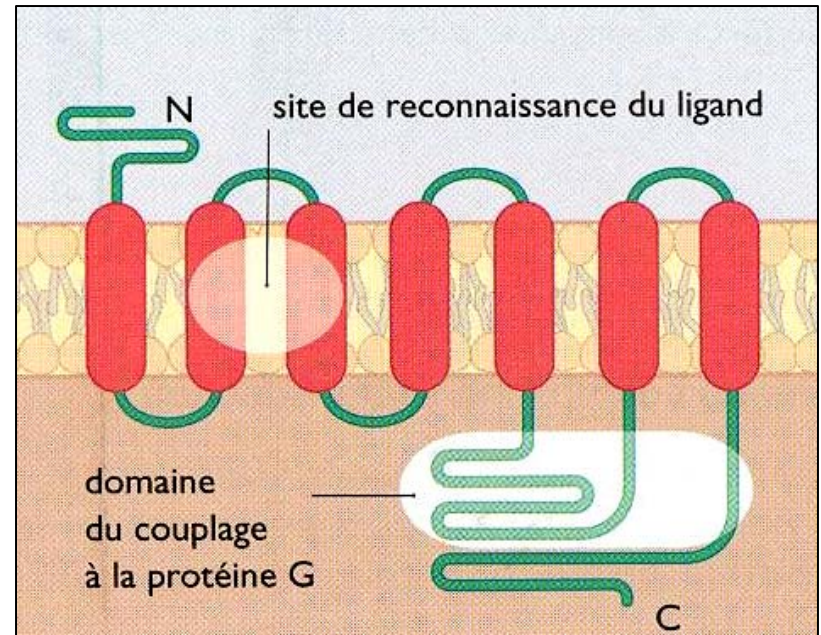


# Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)

Modèle-type : récepteur  $\beta$ -adrénergique des catécholamines

Structure :

- Une chaîne peptidique traversant 7 fois la membrane cellulaire (sept hélices  $\alpha$  = sept domaines).
- S'agence en un 'puit' dans la membrane cellulaire
- L'agoniste se fixe du côté extracellulaire
- Le couplage à la protéine G s'opère du côté intracellulaire
- Couplage indirect avec un effecteur = réponse retardée



# Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)



The Nobel Prize in Chemistry 2012  
Robert J. Lefkowitz, Brian K. Kobilka

The Nobel Prize in Chemistry 2012

Robert J. Lefkowitz

Brian K. Kobilka



Photo: Stewart Waller/PR Newswire. © HHMI

Robert J. Lefkowitz



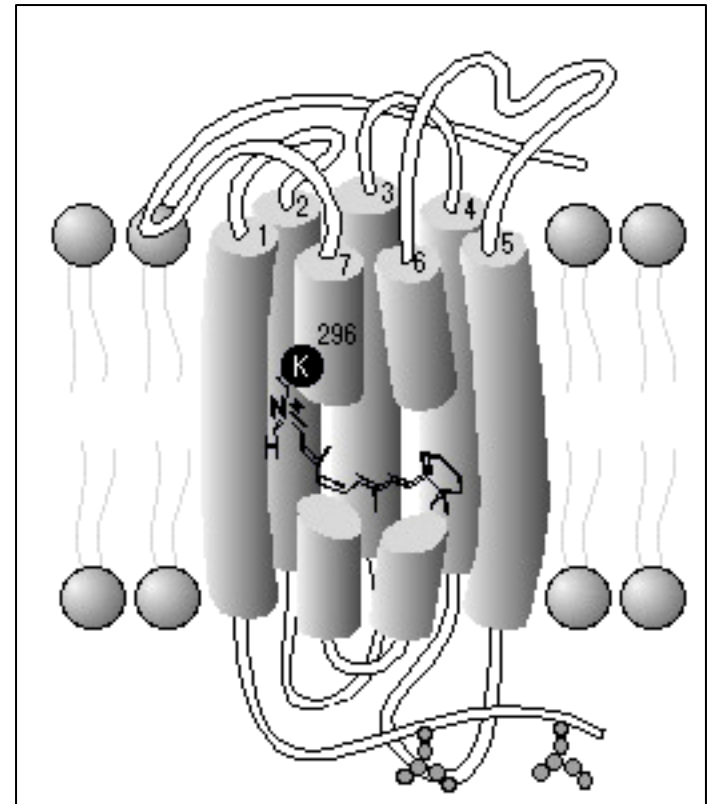
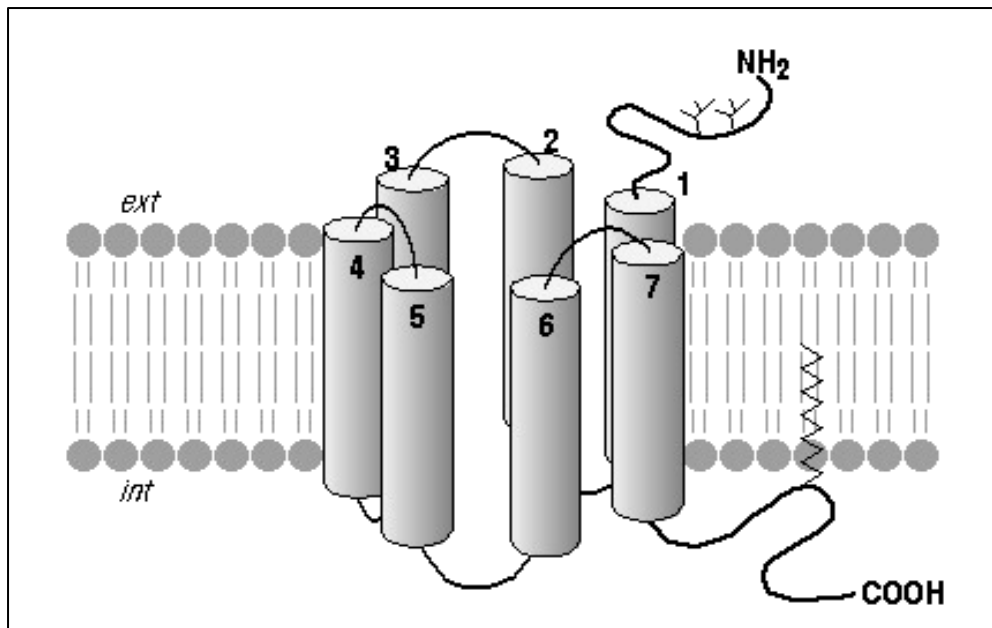
Photo: © Stanford University

Brian K. Kobilka

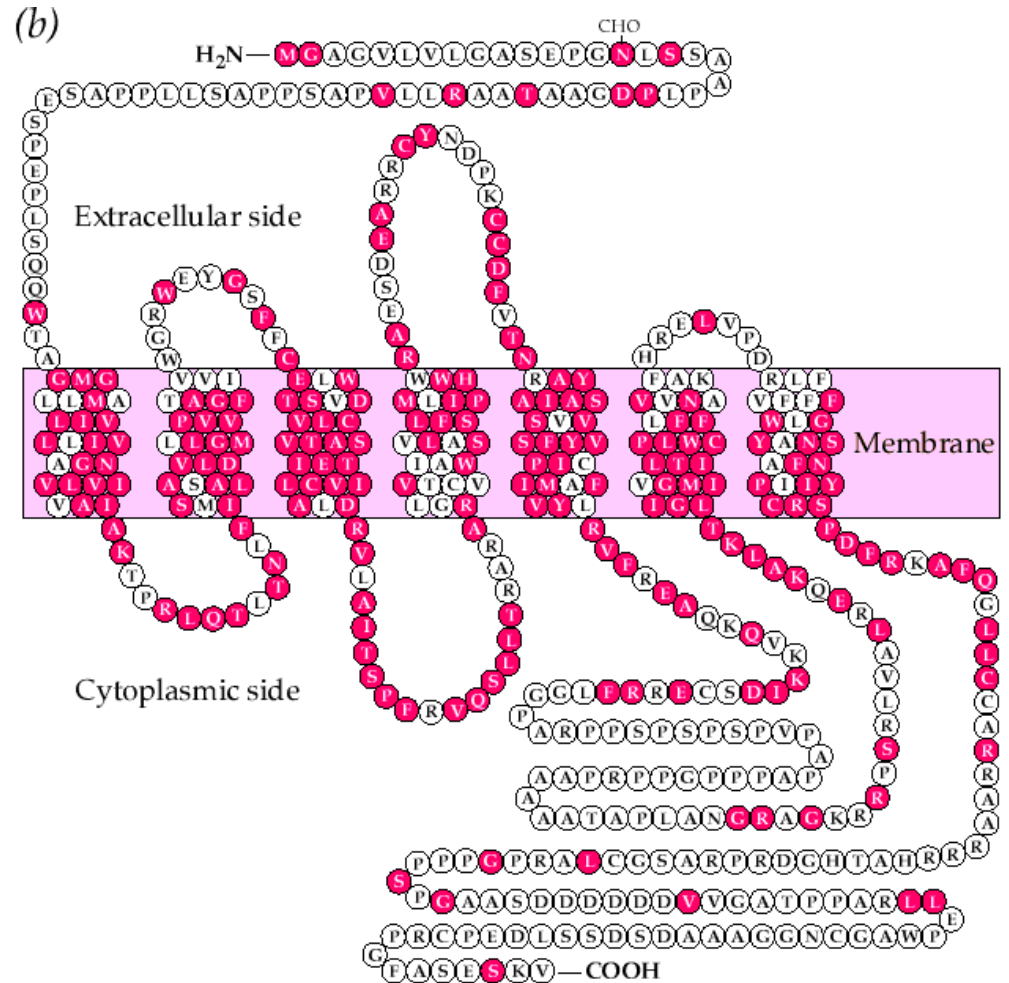
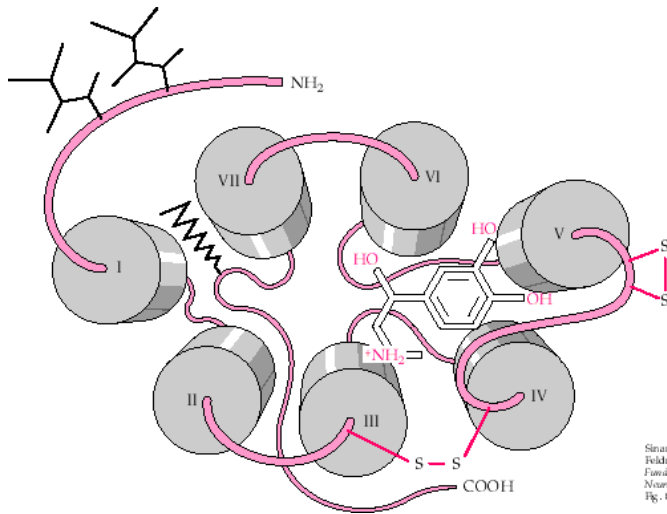
The Nobel Prize in Chemistry 2012 was awarded jointly to Robert J. Lefkowitz and Brian K. Kobilka *"for studies of G-protein-coupled receptors"*



# Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)



# Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)



---

## Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)

*Exemples : (grande diversité : > 1000 connus)*

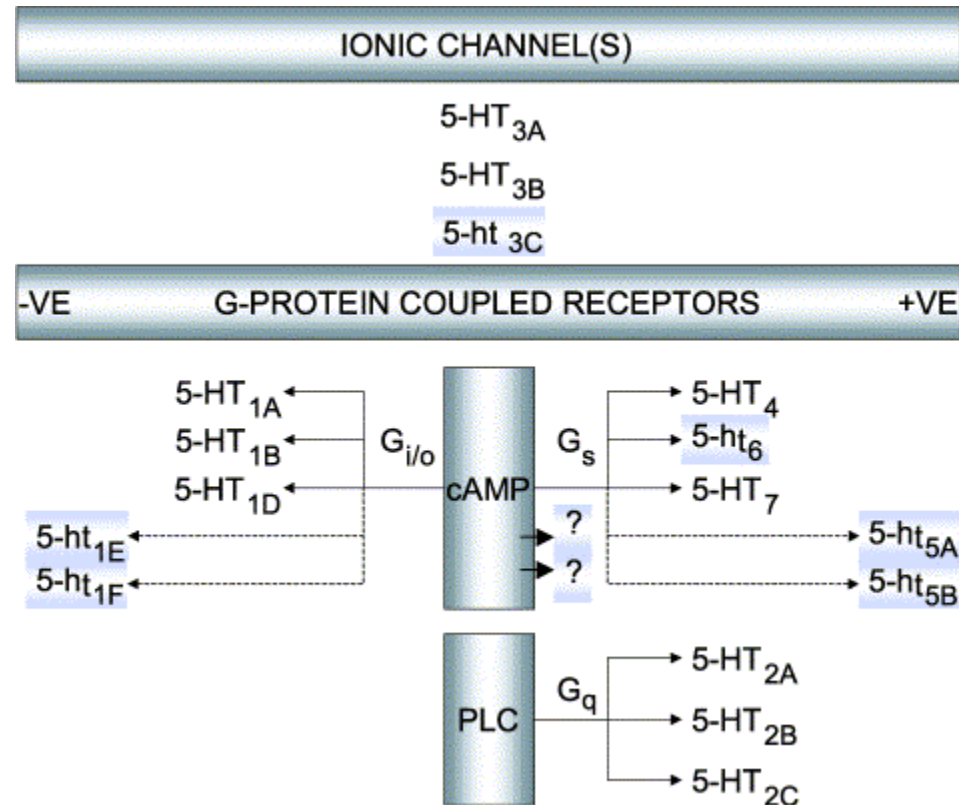
- Récepteurs de l'adrénaline et noradrénaline (adrénergiques)
- Récepteurs de la dopamine (dopaminergiques)
- Récepteurs de l'acétylcholine (muscariniques) ( ≠ ionotropiques)
- Récepteurs de l'histamine
- Récepteurs des opiacés (enképhaline, morphine)
- Récepteurs du glucagon
- Récepteur du glutamate ( ≠ ionotropiques)
- Récepteurs de la sérotonine (5HT) ( ≠ ionotropiques)
- Récepteurs GABA<sub>B</sub> du GABA ( ≠ ionotropiques)

# Les récepteurs couplés aux protéines G : Multiplicité

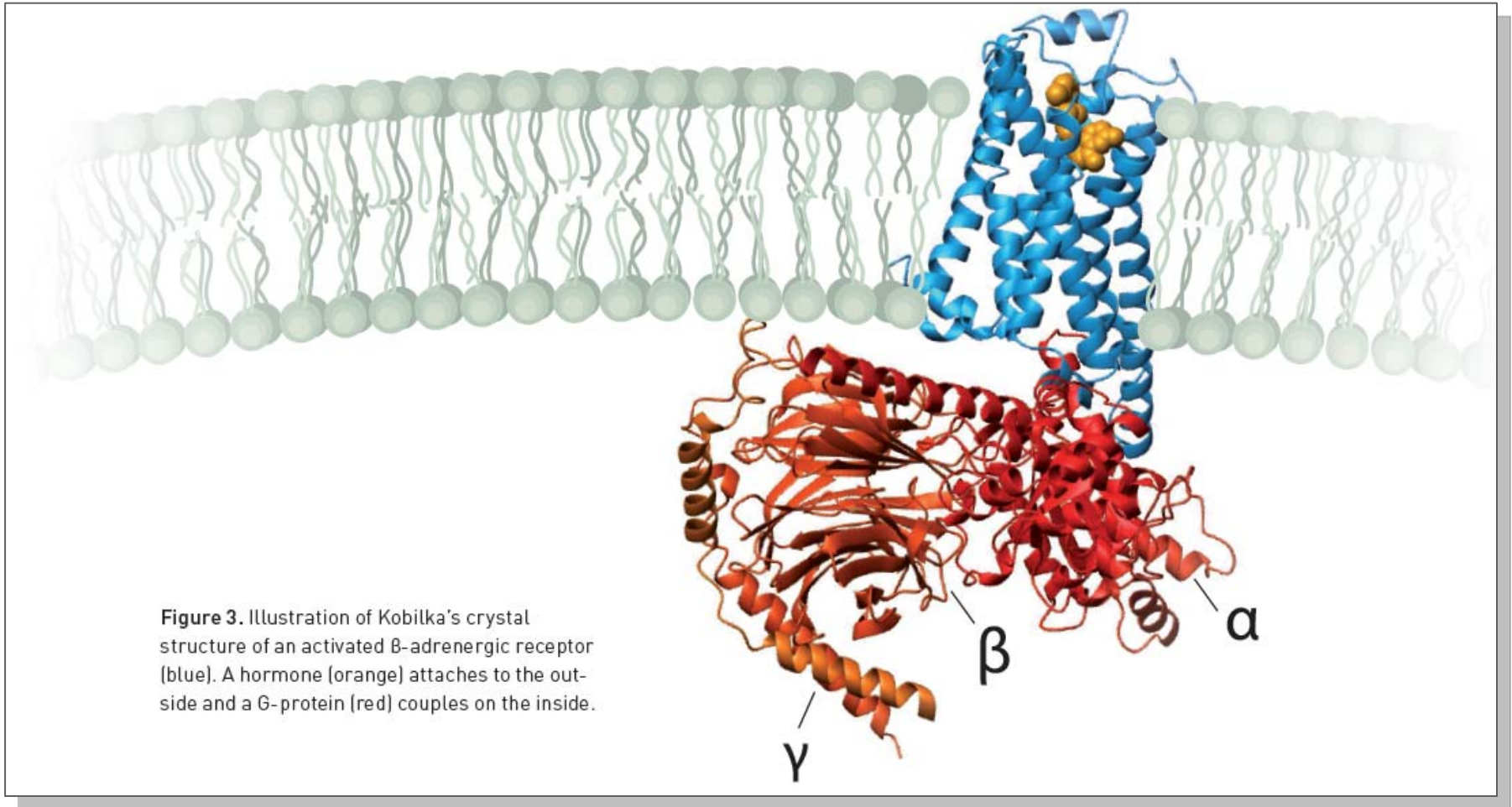
Certains neurotransmetteurs reconnaissent à la fois des récepteurs ionotropiques et des récepteurs métabotropiques

Exemple :

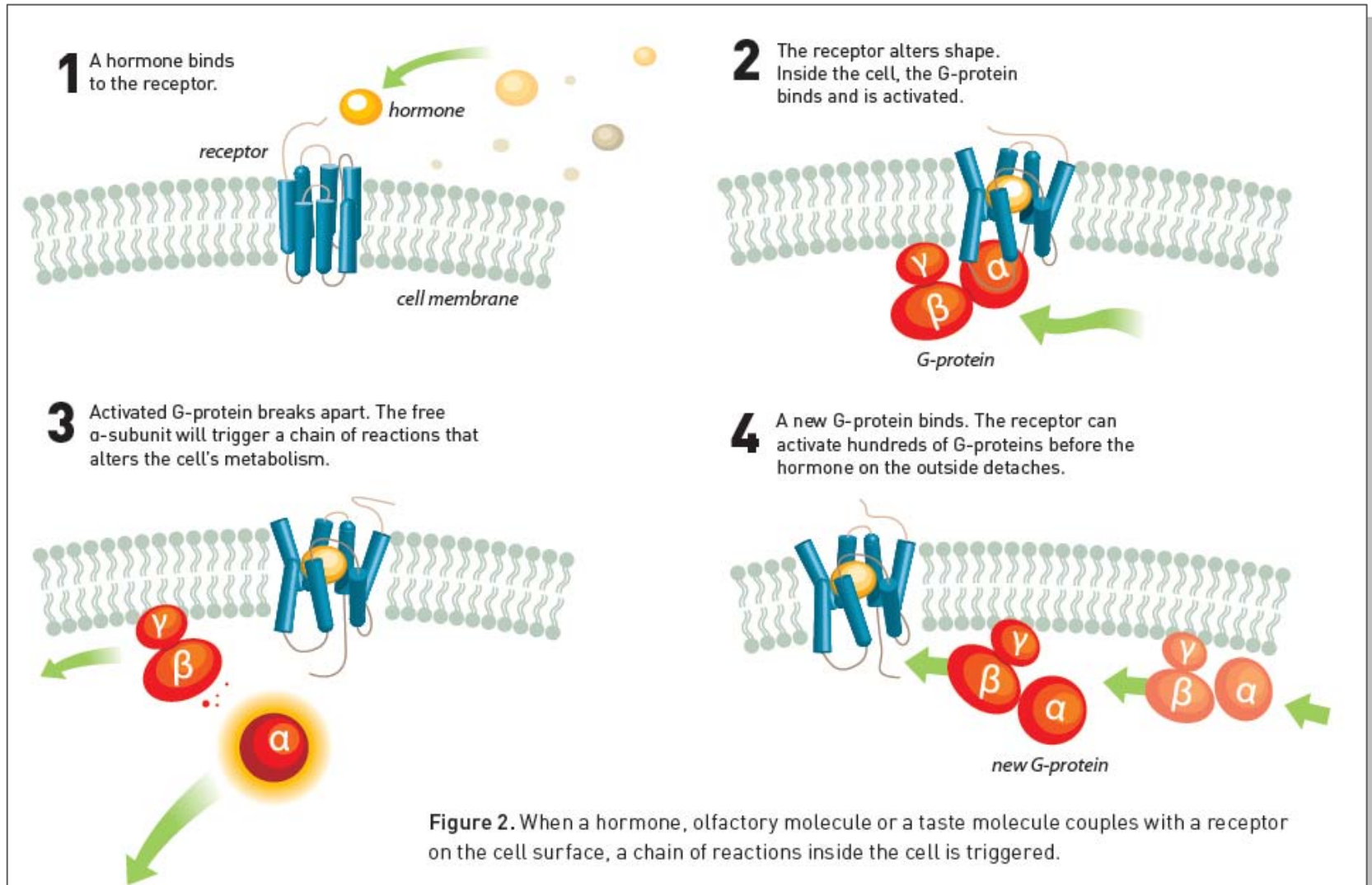
Sérotonine (5HT)  
Glutamate  
Acétylcholine  
GABA!!!



## Les récepteurs couplés aux protéines G



# Les récepteurs couplés aux protéines G



**Figure 2.** When a hormone, olfactory molecule or a taste molecule couples with a receptor on the cell surface, a chain of reactions inside the cell is triggered.

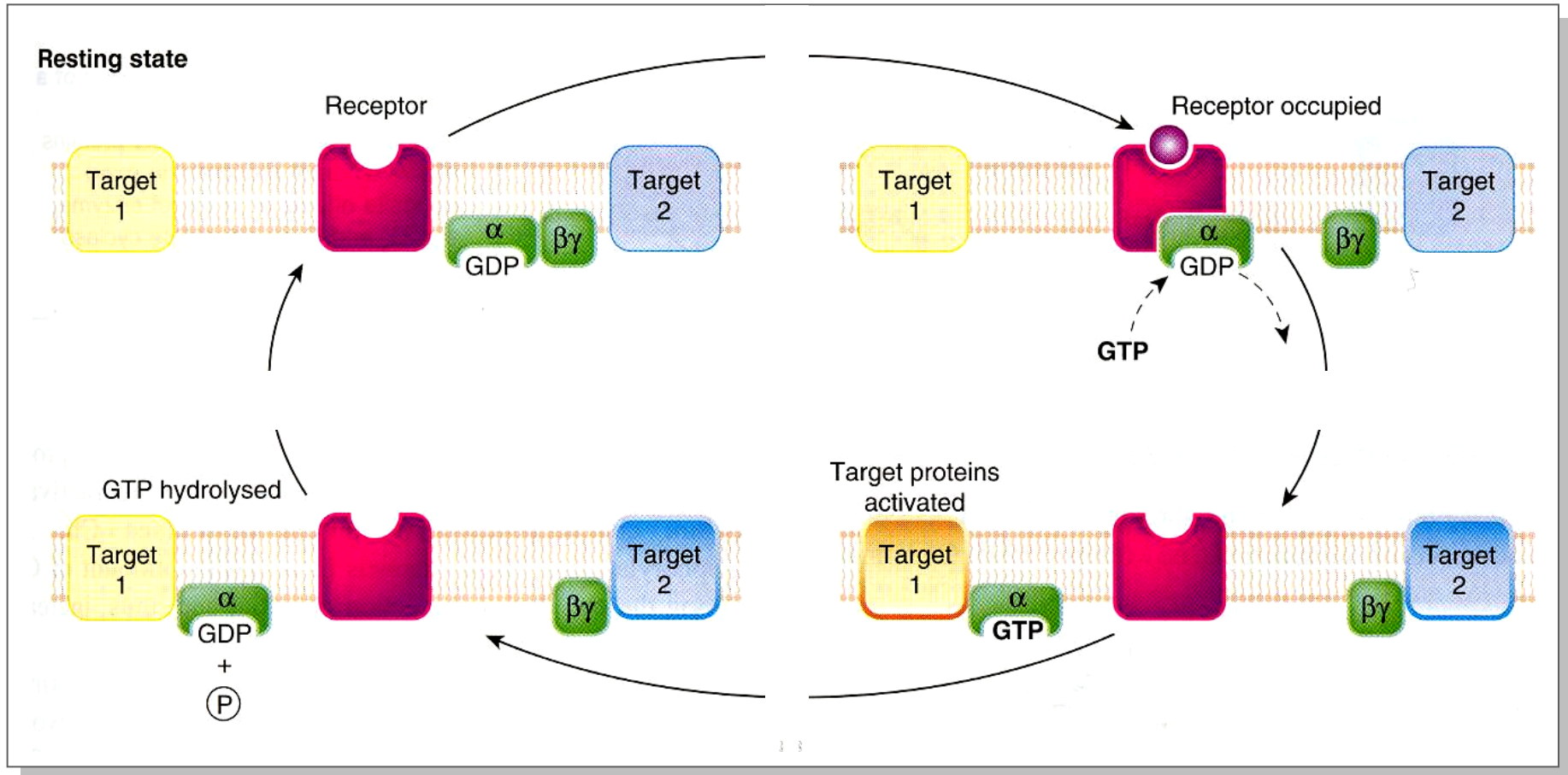
---

## Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)

*Mécanisme de transduction du signal :*

- Couplage avec une protéine G (trois sous-unités protéiques  $\alpha\beta\gamma$ )
- Sous-unités  $\alpha$  lie GDP ou GTP
- Le récepteur activé par l'agoniste favorise la dissociation du GDP et la fixation du GTP
- $\alpha$ -GTP se dissocie de  $\beta\gamma$
- $\alpha$ -GTP et  $\beta\gamma$  sont capables d'activer des effecteurs intracellulaires. La nature de la protéine G impliquée détermine la nature de l'effecteur activé (ou inactivé)
- $\alpha$  hydrolyse le GTP en GDP
- Ré-association du trimère  $\alpha\beta\gamma$

# Les récepteurs couplés aux protéines G (*récepteurs métabotropiques*)

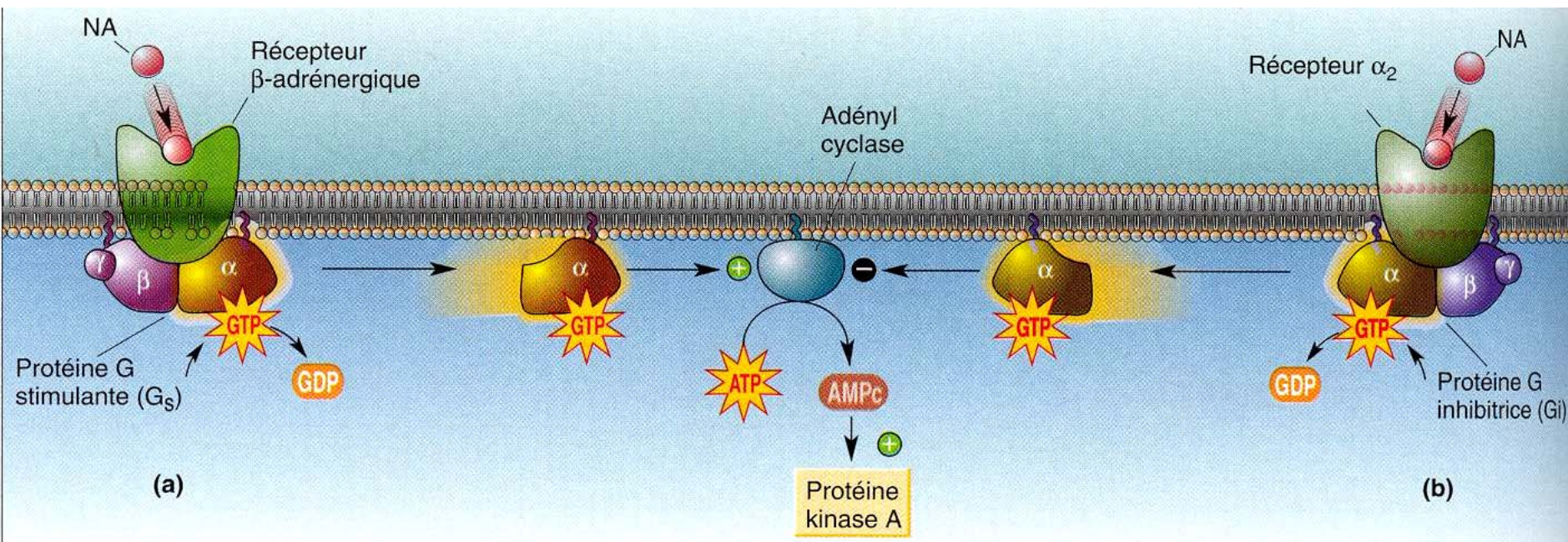




# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS

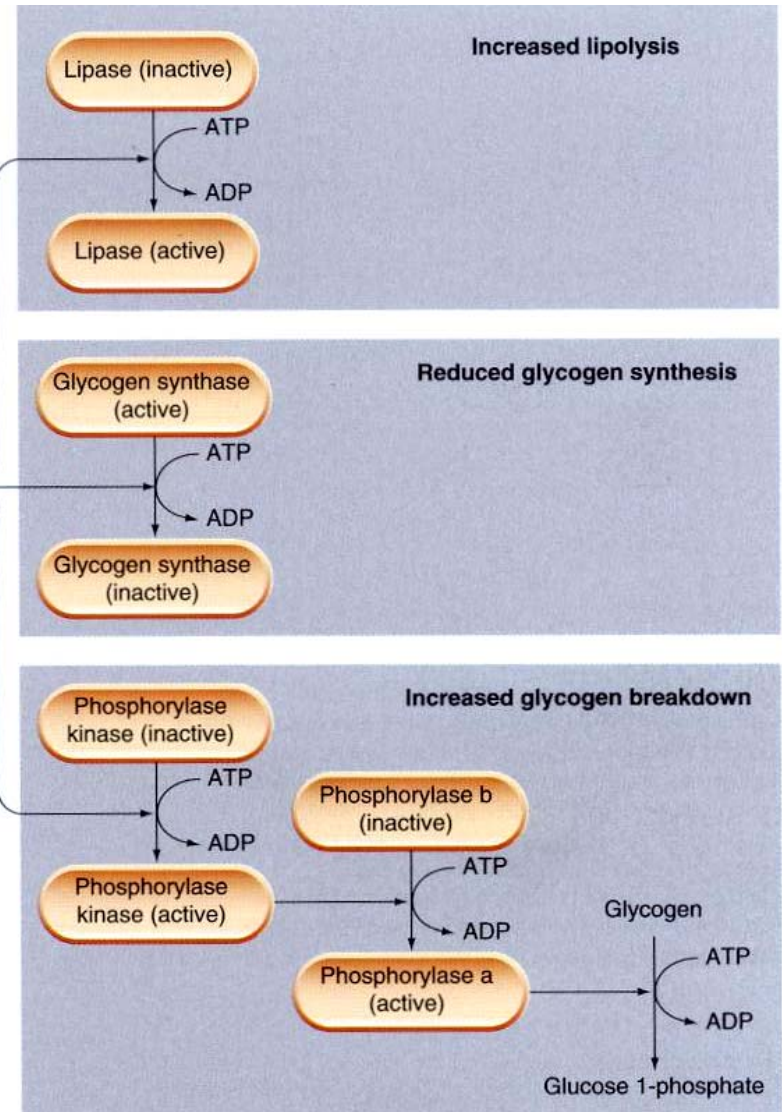
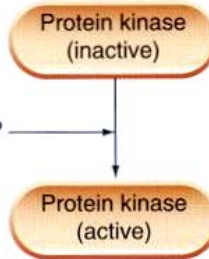
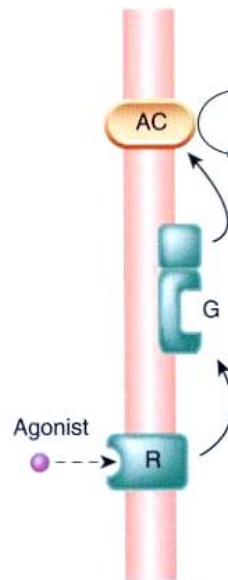
## Adénylate cyclase

- Inhibée par la protéine Gi, stimulée par la protéine Gs
- La résultante est une modulation de la production d'AMP cyclique (AMPC), responsable de l'activation de la protéine kinase A (PKA).
- La PKA phosphoryle diverses cibles intracellulaires, conduisant à des réponses.



# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS

## Adénylate cyclase :



T. Adipeux

Foie

Muscle

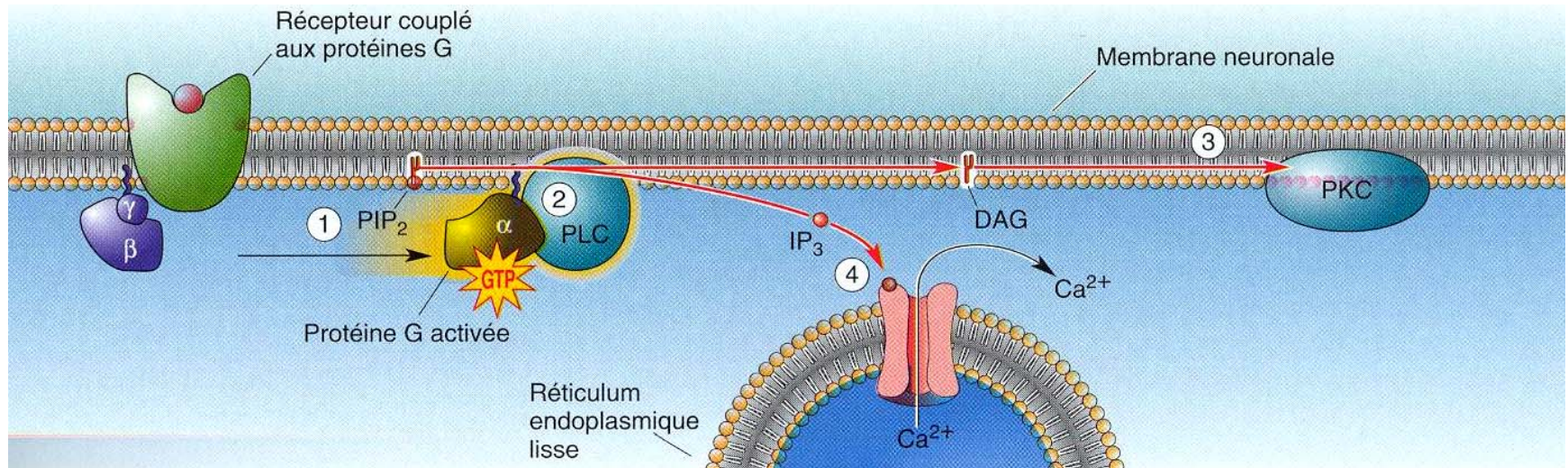
## exemple des réponses fonctionnelles

Effets de la stimulation des récepteurs adrénergiques sur le foie, le muscle et le tissu adipeux

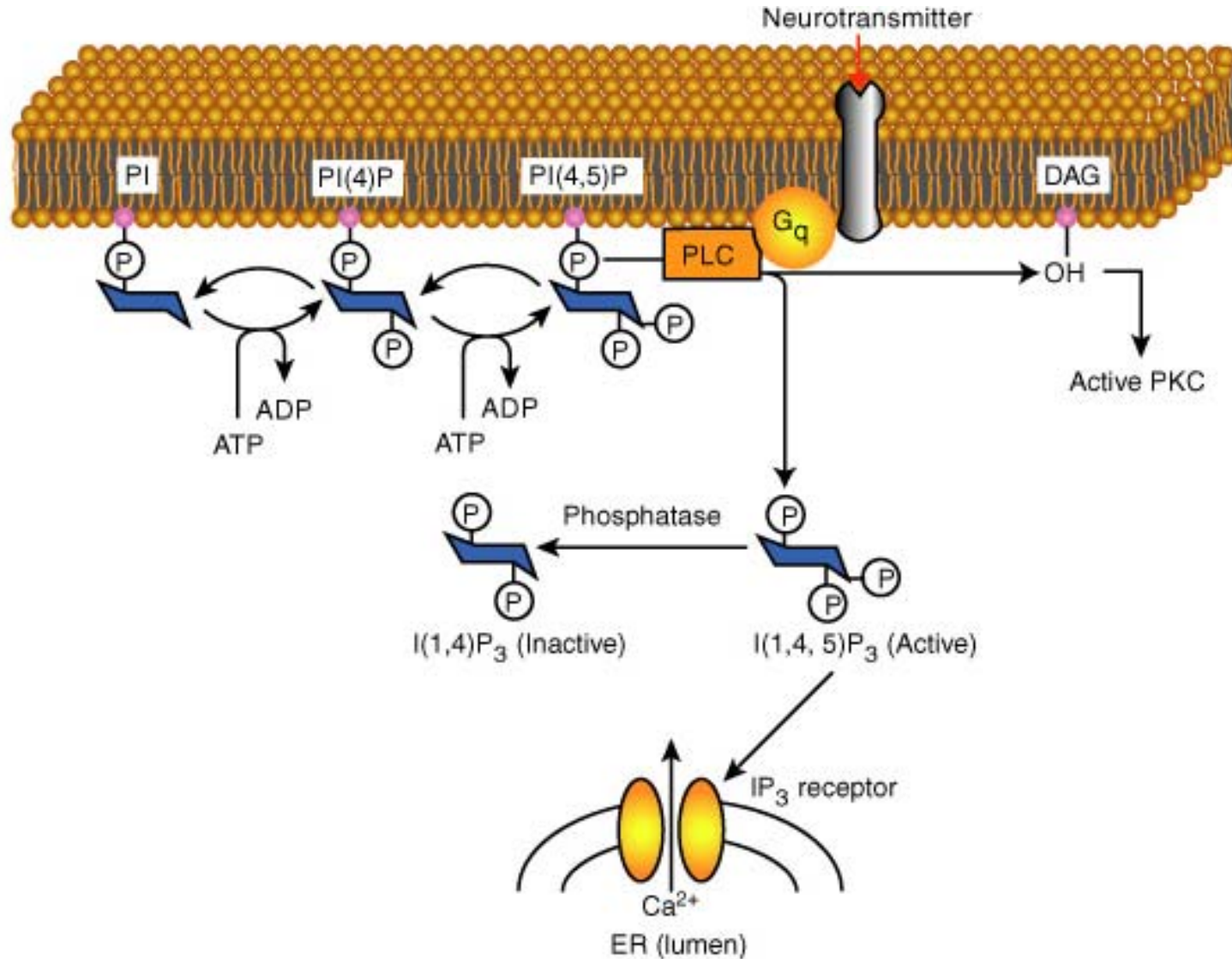
# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS

## Phospholipase C

- Stimulée par la protéine Gq
- hydrolyse le phosphatidylinositol diphosphate (PIP<sub>2</sub>) en inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>) et diacylglycérol (DAG)
- l'IP<sub>3</sub> induit la libération des stocks intracellulaires de calcium (rétic. endopl.)
- Le DAG active la protéine kinase C (PKC)
- Activation de la PKC et augmentation de la [Ca<sup>2+</sup>] intracellulaire, conduisent à des réponses.

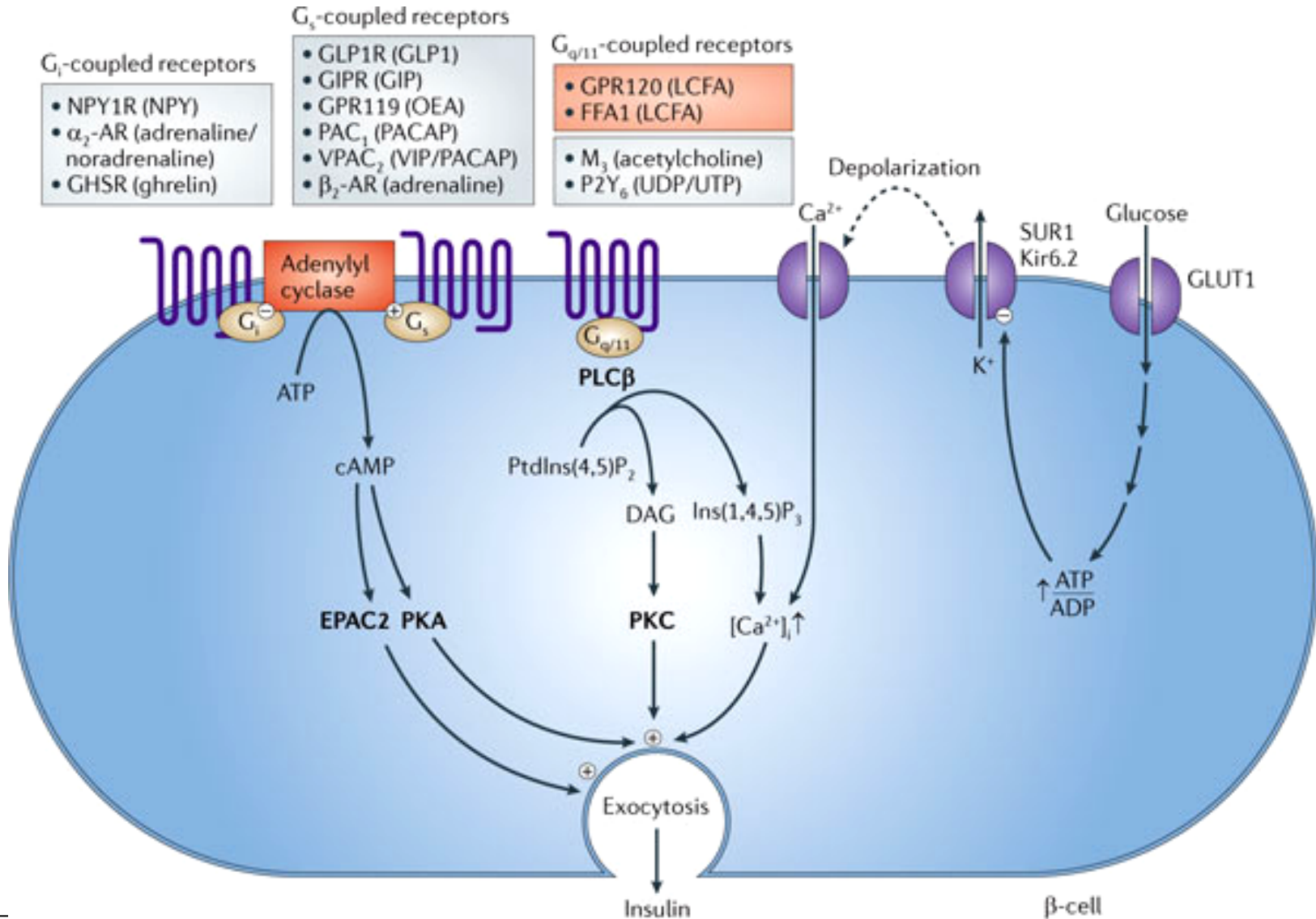


# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS



# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS

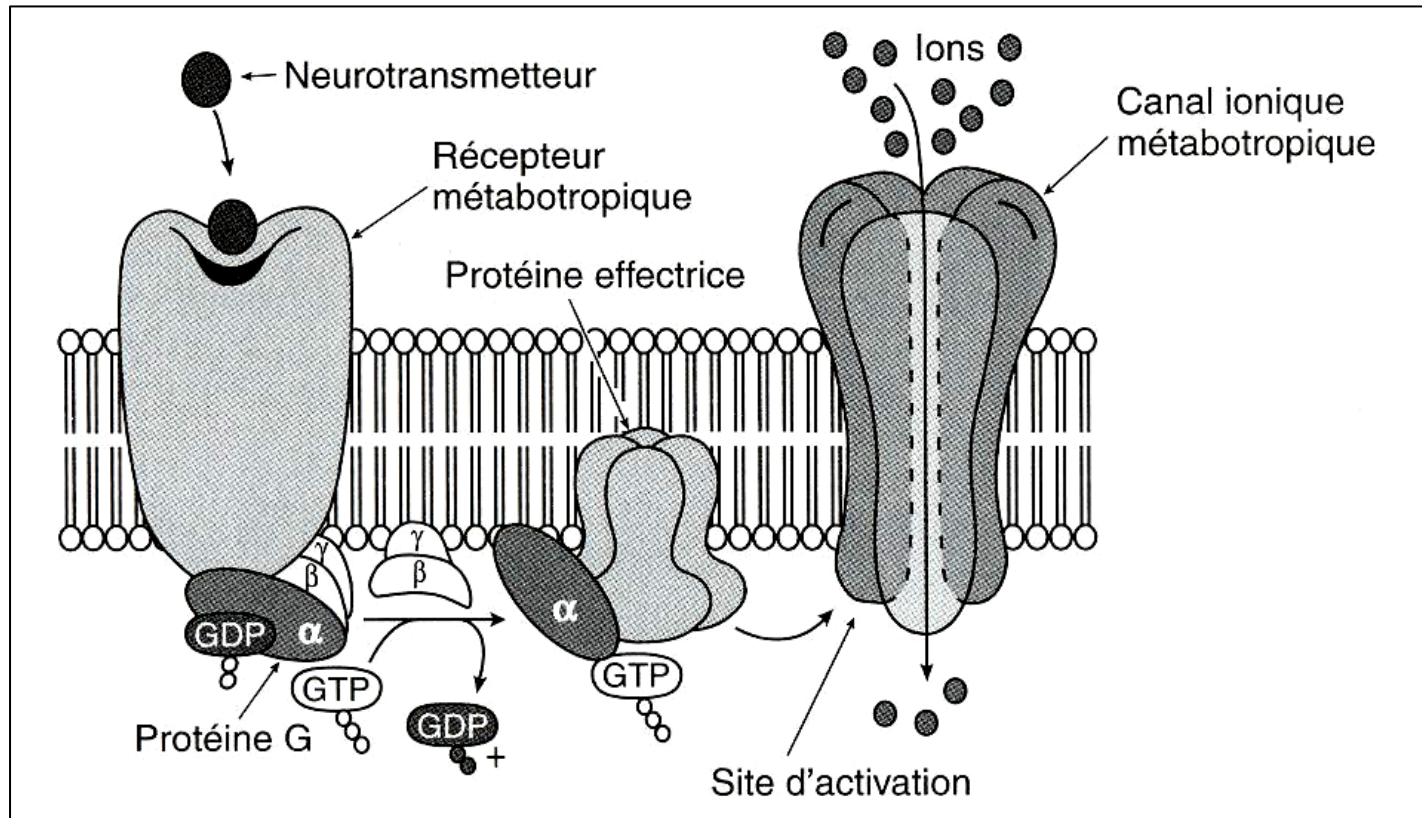
*Stimulation de la libération d'insuline (cellules  $\beta$  du pancréas)*



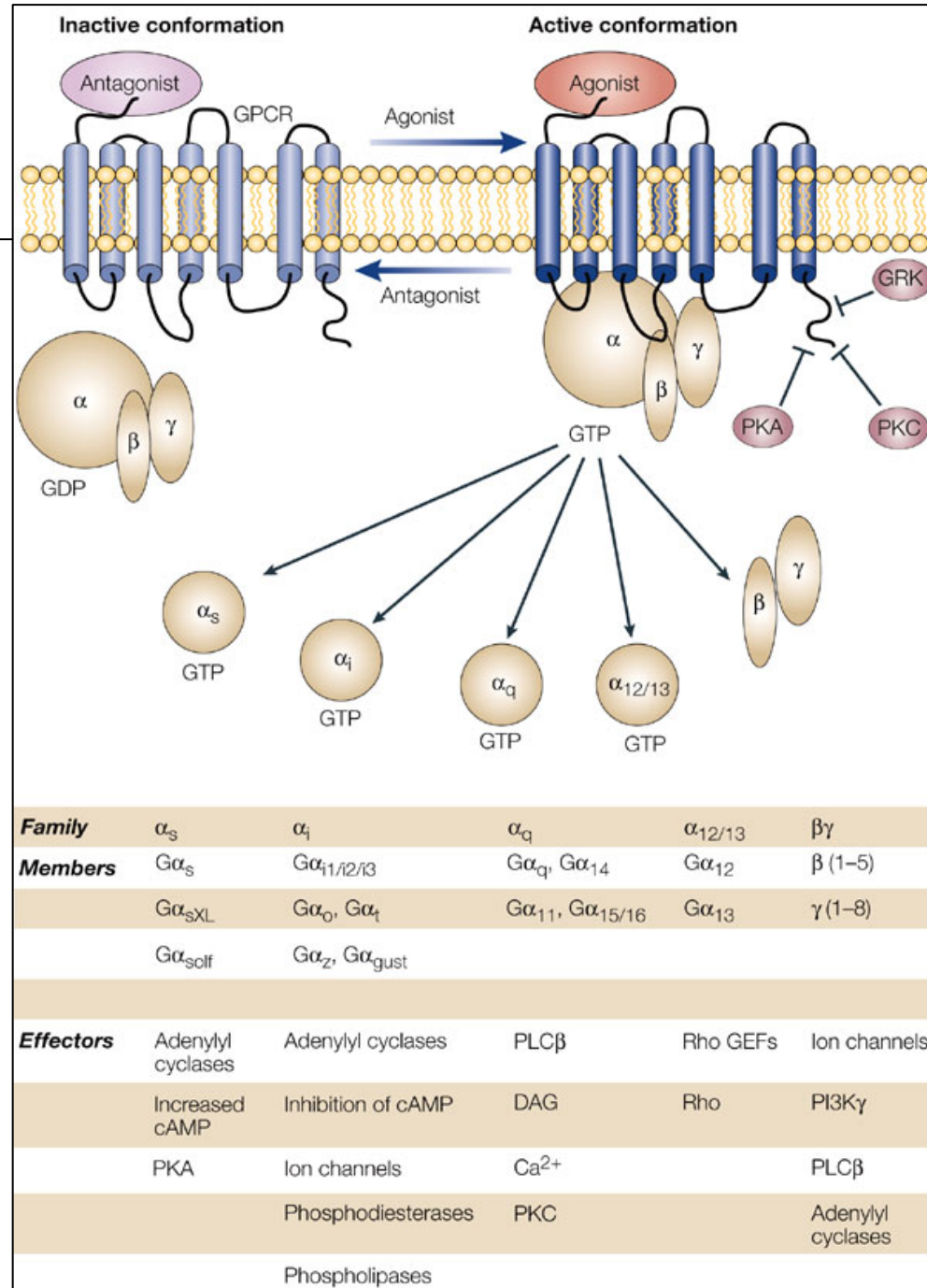
# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS

## Les canaux ioniques

- Perméables au  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{K}^+$
- Activés par de nombreuses protéines G, y compris les sous unités  $\beta\gamma$ .



# Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS



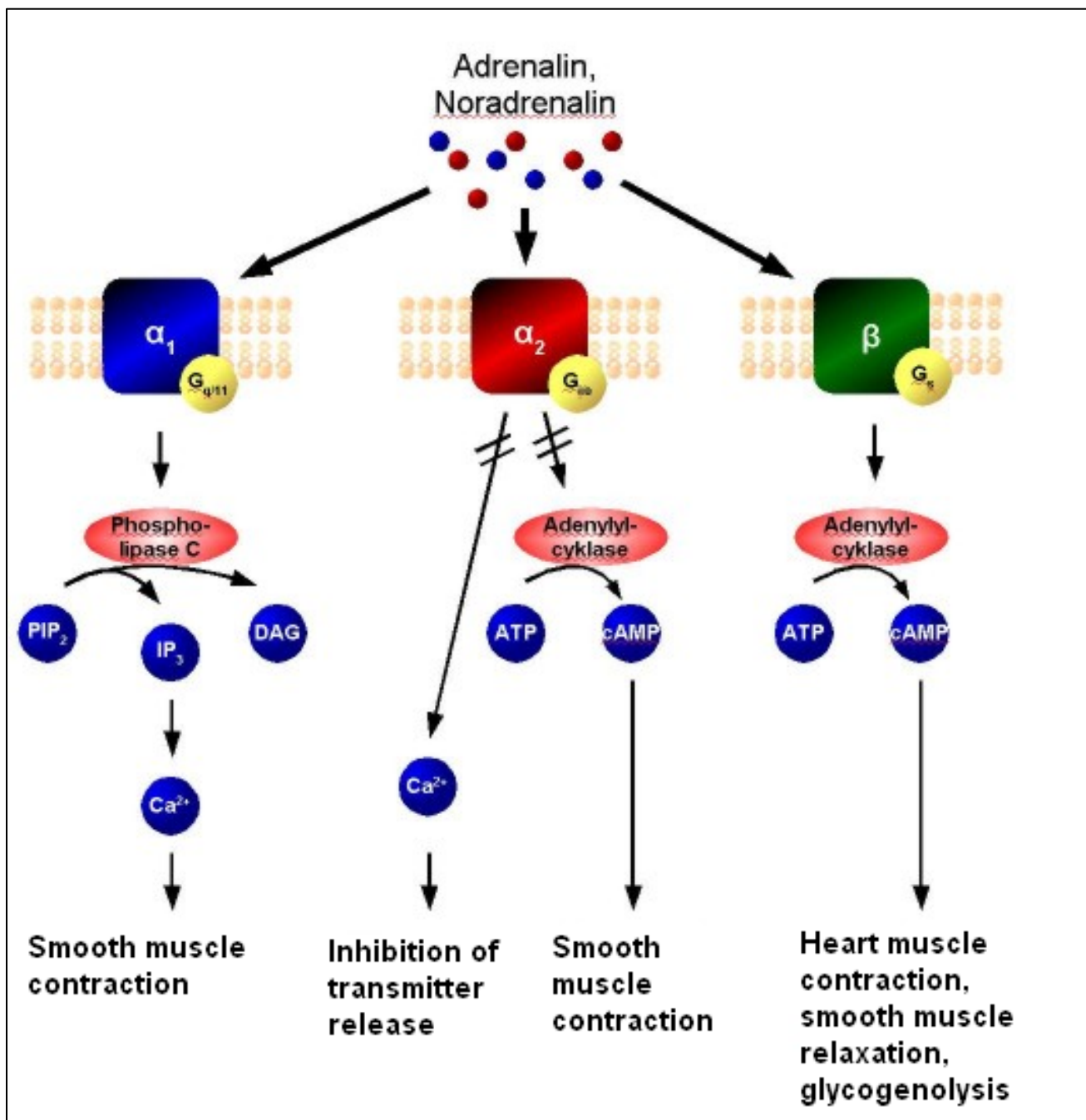
# Les récepteurs couplés aux protéines G : Multiplicité

La pharmacologie exploite la multiplicité des récepteurs couplés aux protéines G pour obtenir une spécificité d'effet : améliorer l'efficacité et éviter les effets secondaires (effets indésirables)

Exemple : les récepteurs adrénergiques

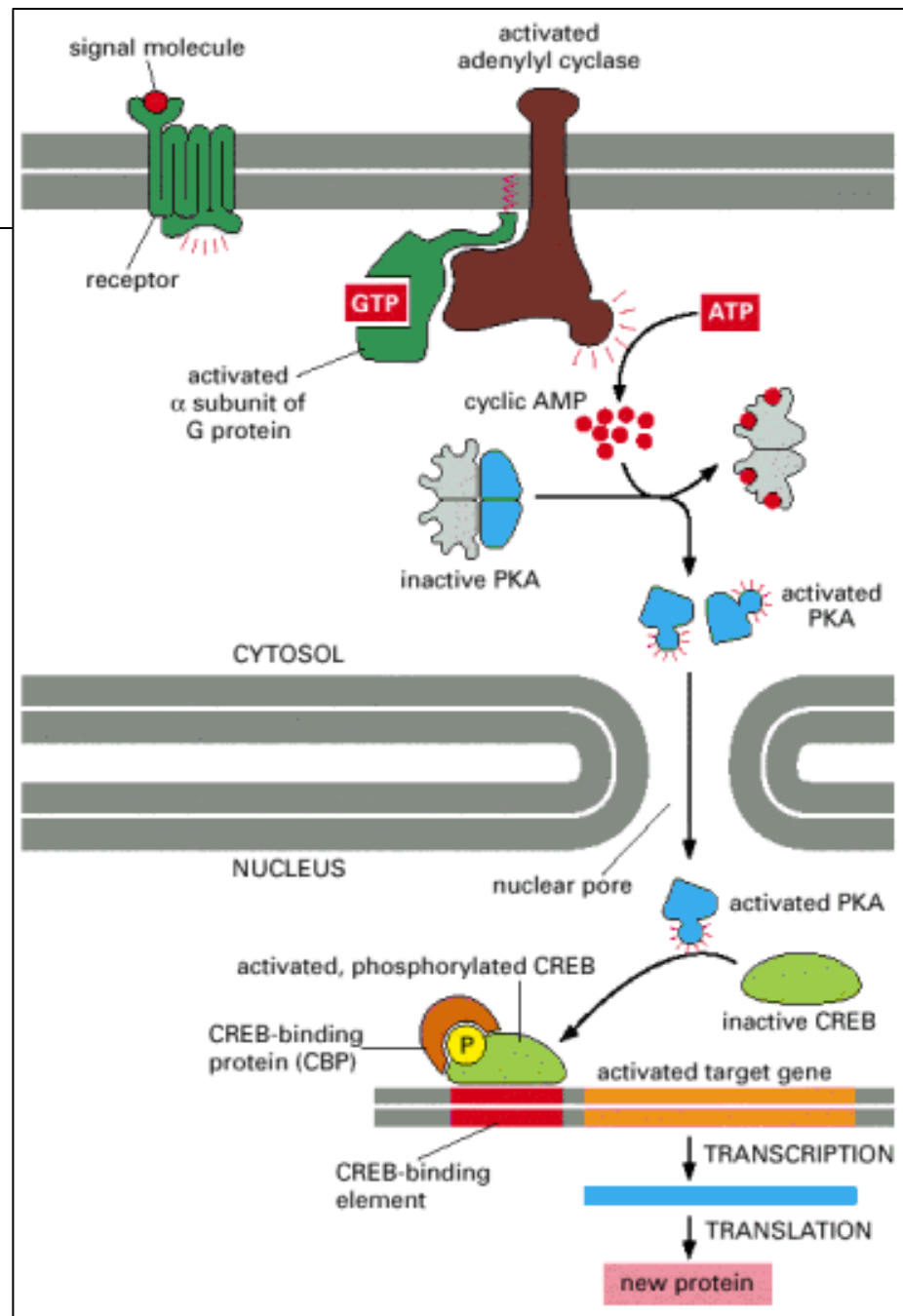
- Existence des récepteurs  $\alpha$  adrénergiques et  $\beta$  adrénergiques, subdivisés en multiples sous-types :  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$
- Tous sont stimulés par l'adrénaline (et la noradrénaline)
- Ils ont des localisations tissulaires différentes
- $\beta_1$  est présent au niveau cardiaque (effet inotrope et chronotrope positif)
- $\beta_2$  est présent au niveau bronchique (effet bronchodilatateur)
- Dans le traitement de l'asthme, un agoniste  $\beta_2$  sera précieux. Il est cependant indispensable qu'il soit sélectif  $\beta_2$  sans quoi il présenterait une toxicité cardiaque



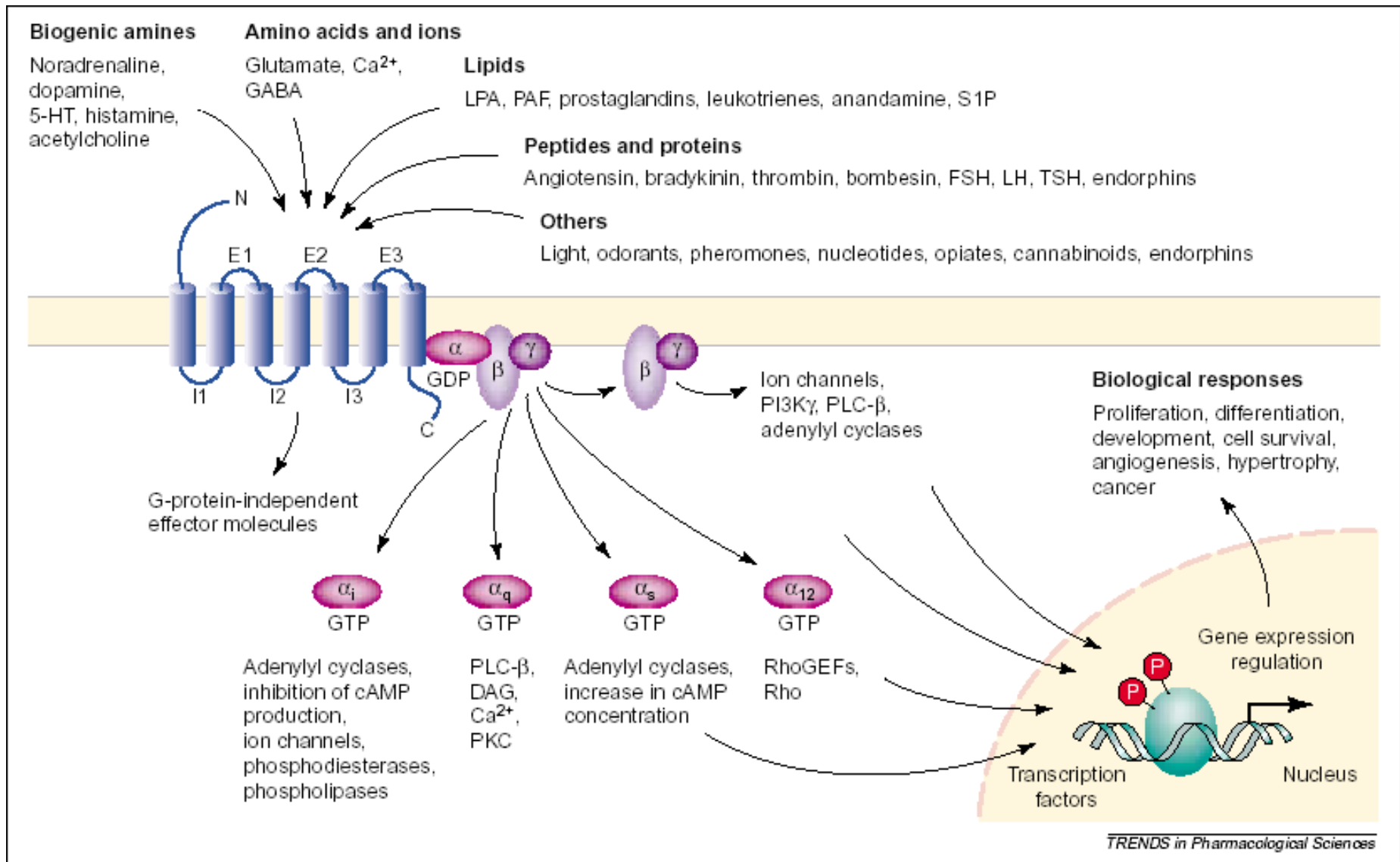


**Les récepteurs couplés  
aux protéines G :  
d'une réponse rapide  
vers une réponse lente  
et durable :**

**ou comment les  
récepteurs couplés aux  
protéines G modulent-  
ils l'expression des  
gènes...**



# Les récepteurs couplés aux protéines G : Multiplicité

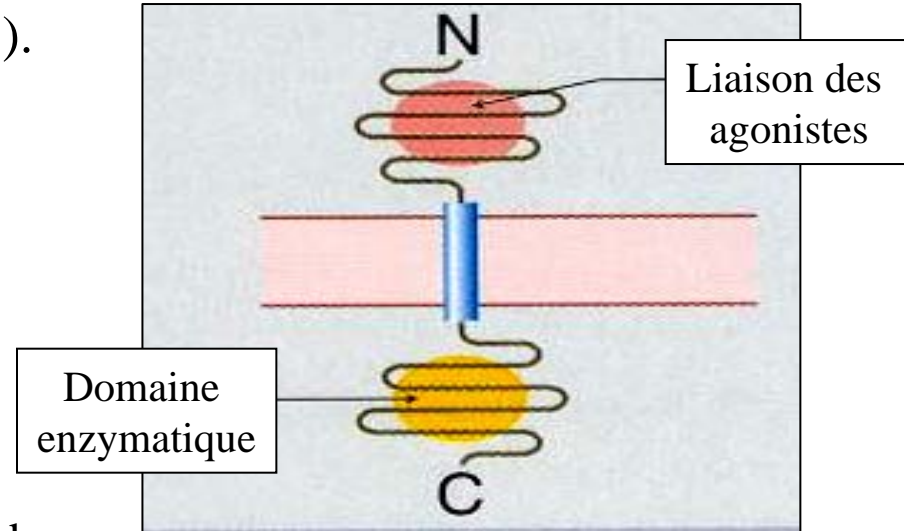


# Les récepteurs tyrosine kinase

Modèles-types : récepteurs des facteurs de croissance et récepteurs des cytokines

## *Structure :*

- Une chaîne peptidique unique\* traversant 1 seule fois membrane cellulaire (hélice  $\alpha$  ).
- L'agoniste se fixe du côté extracellulaire
- La fixation de l'agoniste induit la dimérisation qui déclenche l'activation
- L'extrémité intracellulaire assure la signalisation au travers de l'activation d'une tyrosine kinase
  - soit intrinsèque au récepteur (récepteurs des facteurs de croissance)
  - soit sur une protéine distincte (récepteurs des cytokines)



\* parfois petite chaîne peptidique extracellulaire supplémentaire (récepteur de l'insuline)

# Les récepteurs tyrosine kinase

---

*Mécanisme de transduction du signal :*

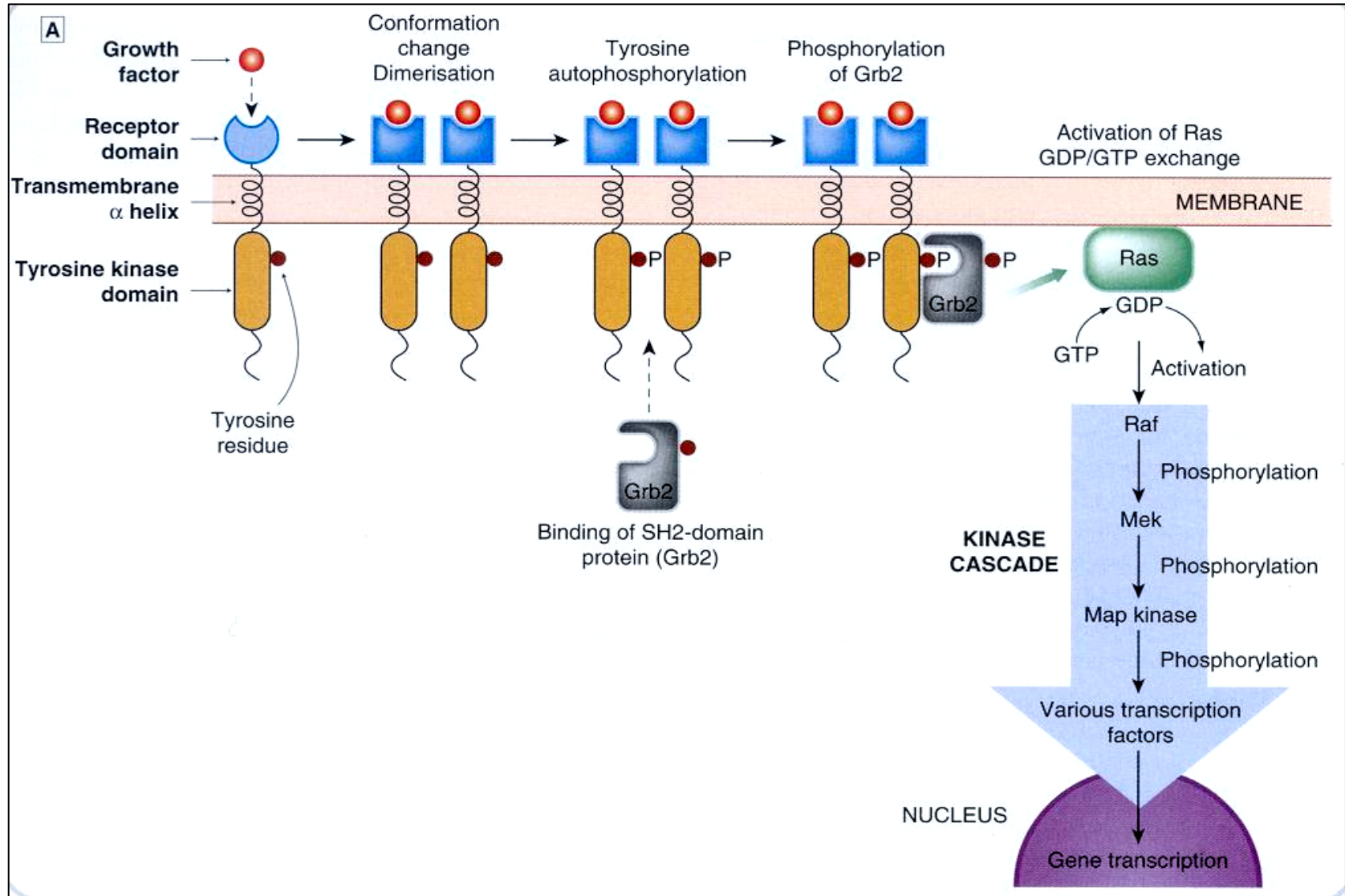
- Liaison agoniste - dimérisation
- Autophosphorylation des résidus tyrosine intracellulaires
- Interaction avec des protéines intracellulaires
  - ‘SH2 domain proteins’ dans le cas des récepteurs aux facteurs de croissance
  - Jak et Stat dans le cas des récepteurs des cytokines
- Déclenchement d’une cascade de phosphorylation
- activation de facteurs de transcription
- Modulation de l’expression de gènes

*Les effets sont lents et durables*

*Rôle et intérêt dans le contrôle de la croissance, la différenciation des cellules, les cancers, les maladies immunologiques*

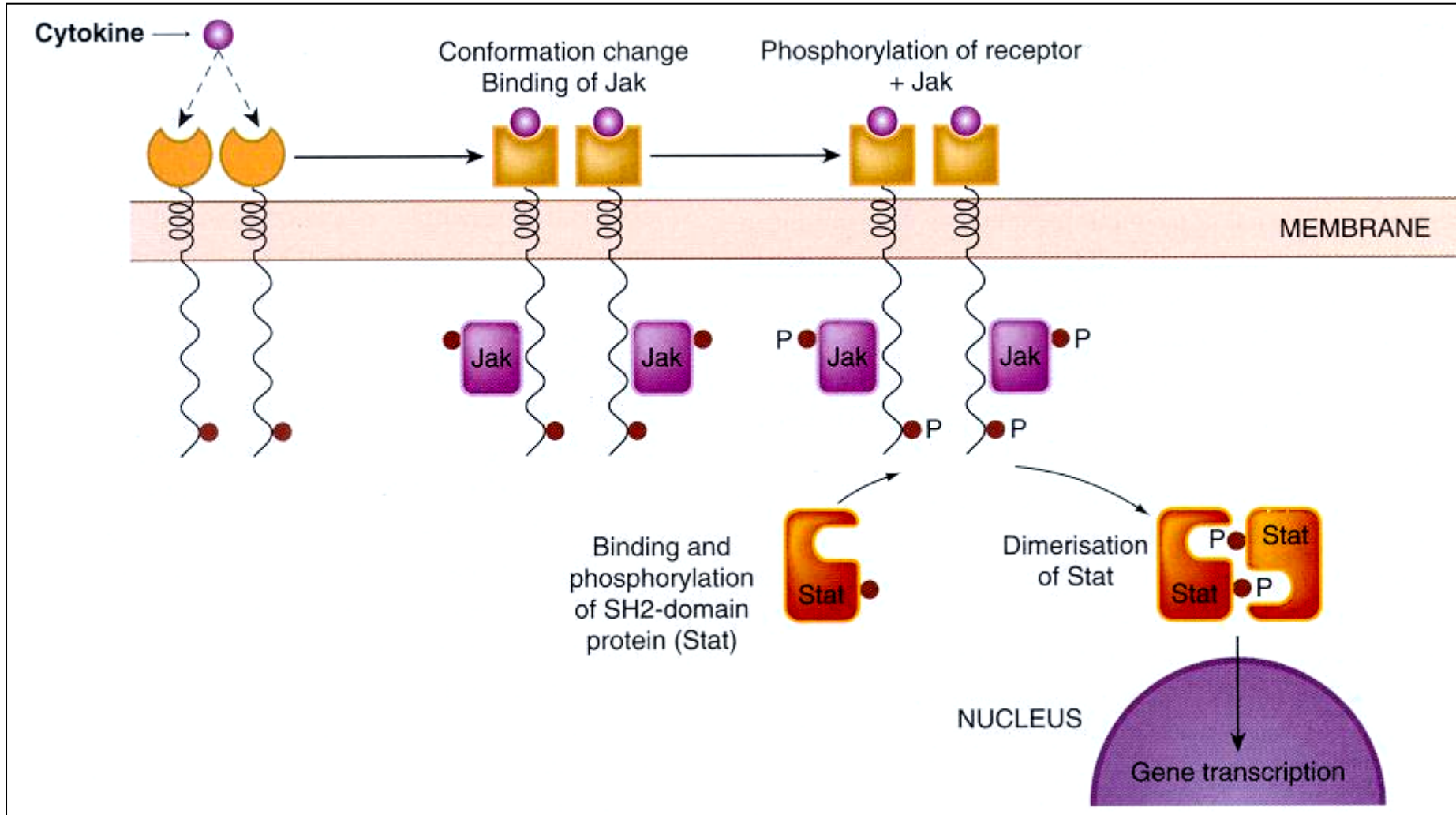
# Les récepteurs tyrosine kinase

*Mécanisme de transduction du signal : cas des récepteurs aux facteurs de croissance*

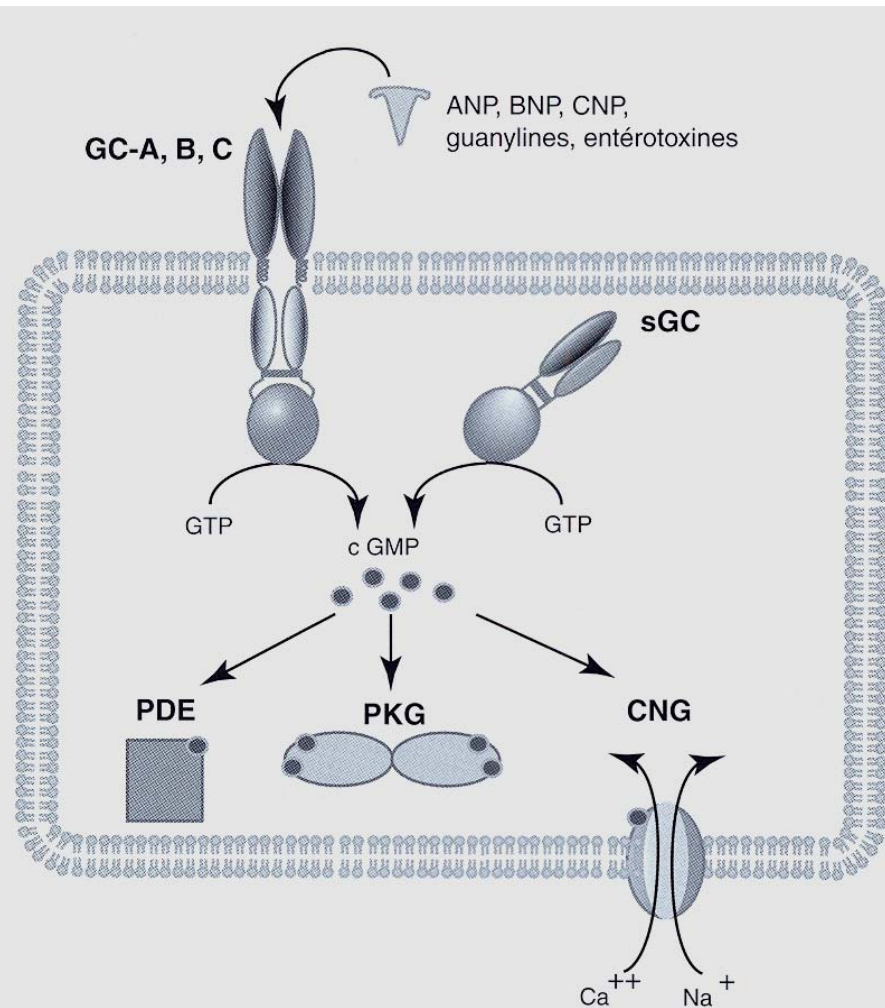
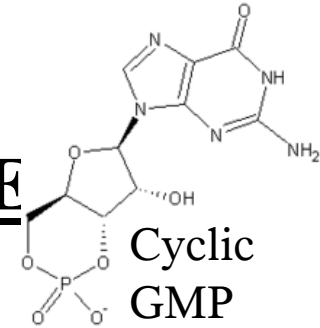


# Les récepteurs tyrosine kinase

*Mécanisme de transduction du signal : cas des récepteurs aux cytokines*



# Récepteurs à activité enzymatique intrinsèque : les récepteurs à activité **GUANYLATE CYCLASE**



ANP : Atrium natriuretic  
peptide (auriculaire)  
BNP : natriuretic peptide B  
(ventriculaire)

PDE : phosphodisestérase (métabolisent le GMP cyclique en GMP)

PKG : protéine kinase G (phosphoryle des résidus sérine et thréonine)  
Ex : cette phosphorylation active certaines phosphatases dans les muscles et favorise la relaxation musculaire lisse

CNG : Canaux ioniques (cations) activés par le cGMP (dans la rétine par exemple)



# Les récepteurs intracellulaires

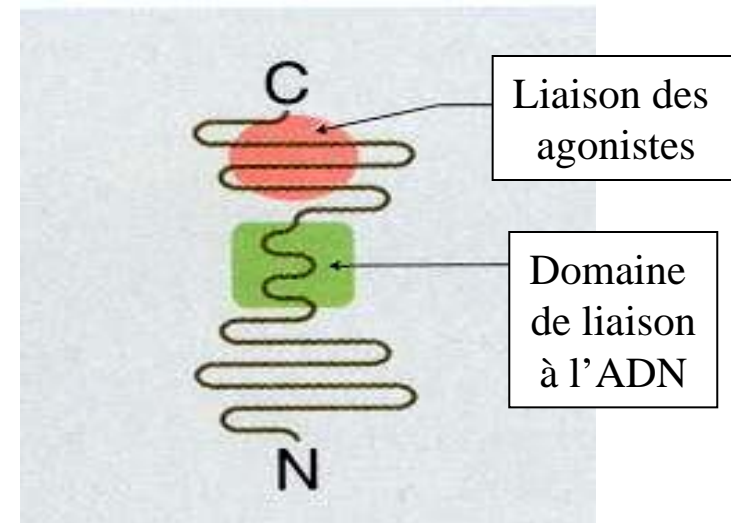
## Modèles-types : récepteurs des glucocorticoïdes

### *Structure :*

- Intracellulaires ! Les ligands doivent pénétrer dans la cellule.
- Certains cytosoliques, d'autres sont nucléaires.
- Caractéristique principale : présence d'un site de fixation à l'ADN (avec spécificité vis à vis de séquences déterminées).

### *Exemples :*

- Récepteur des stéroïdes
- Récepteurs de l'hormone thyroïdienne
- Récepteur de la vitamine D
- Récepteur de l'acide rétinoïque



# Les récepteurs intracellulaires

---

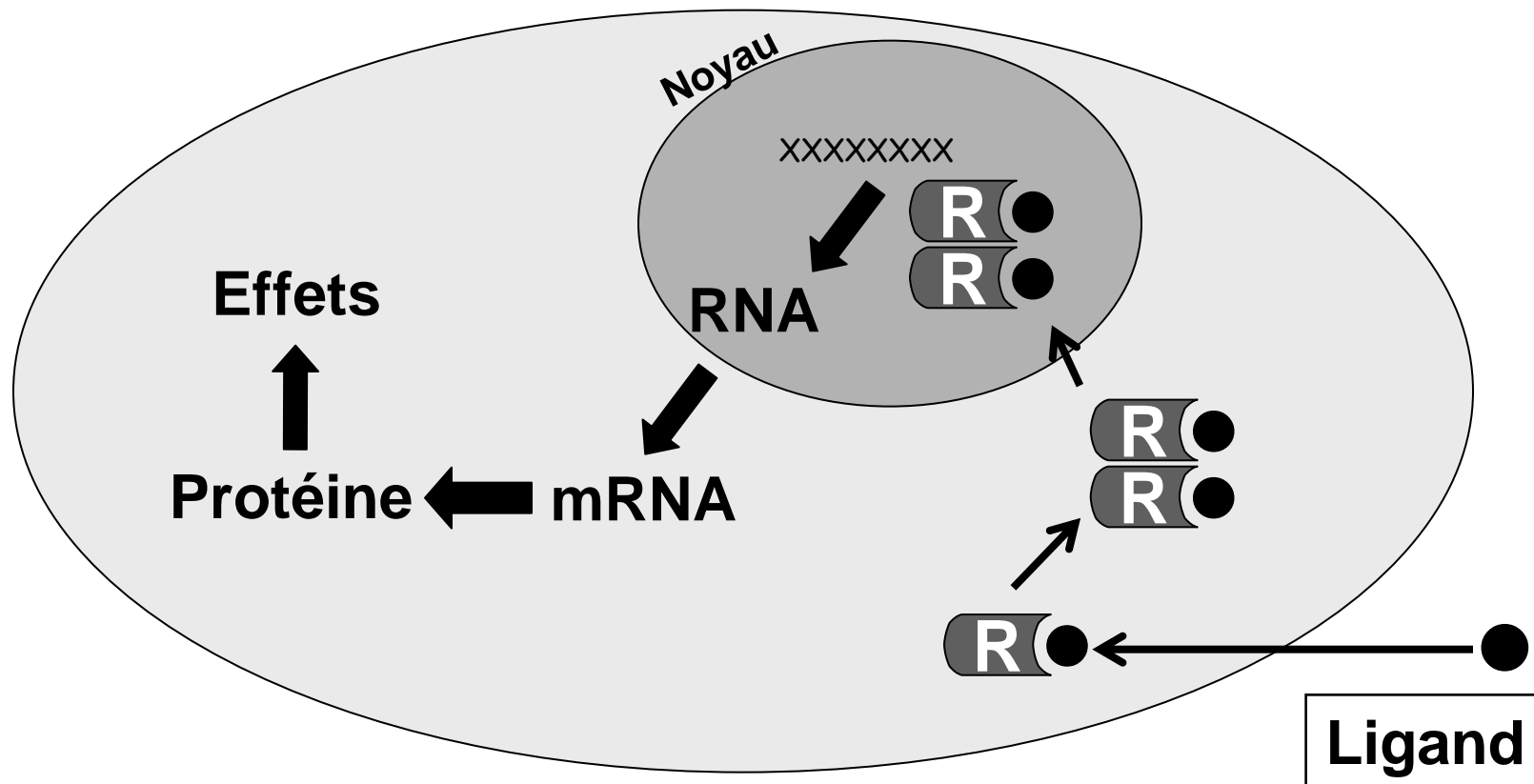
## Mécanisme d'action :

- Les récepteurs intracellulaires sont des facteurs de transcription modulés par des transmetteurs.
- Ils contrôlent l'efficacité de transcription de certains gènes.
- Les effets sont lents à apparaître, et sont durables

*Récepteurs cytosoliques* : les stéroïdes traversent la membrane plasmique de la cellule et se lient à des récepteurs dans le cytosol. Le complexe ligand-récepteur est acheminé dans le noyau, au niveau de la chromatine où s'opère la régulation de l'expression de gènes cible

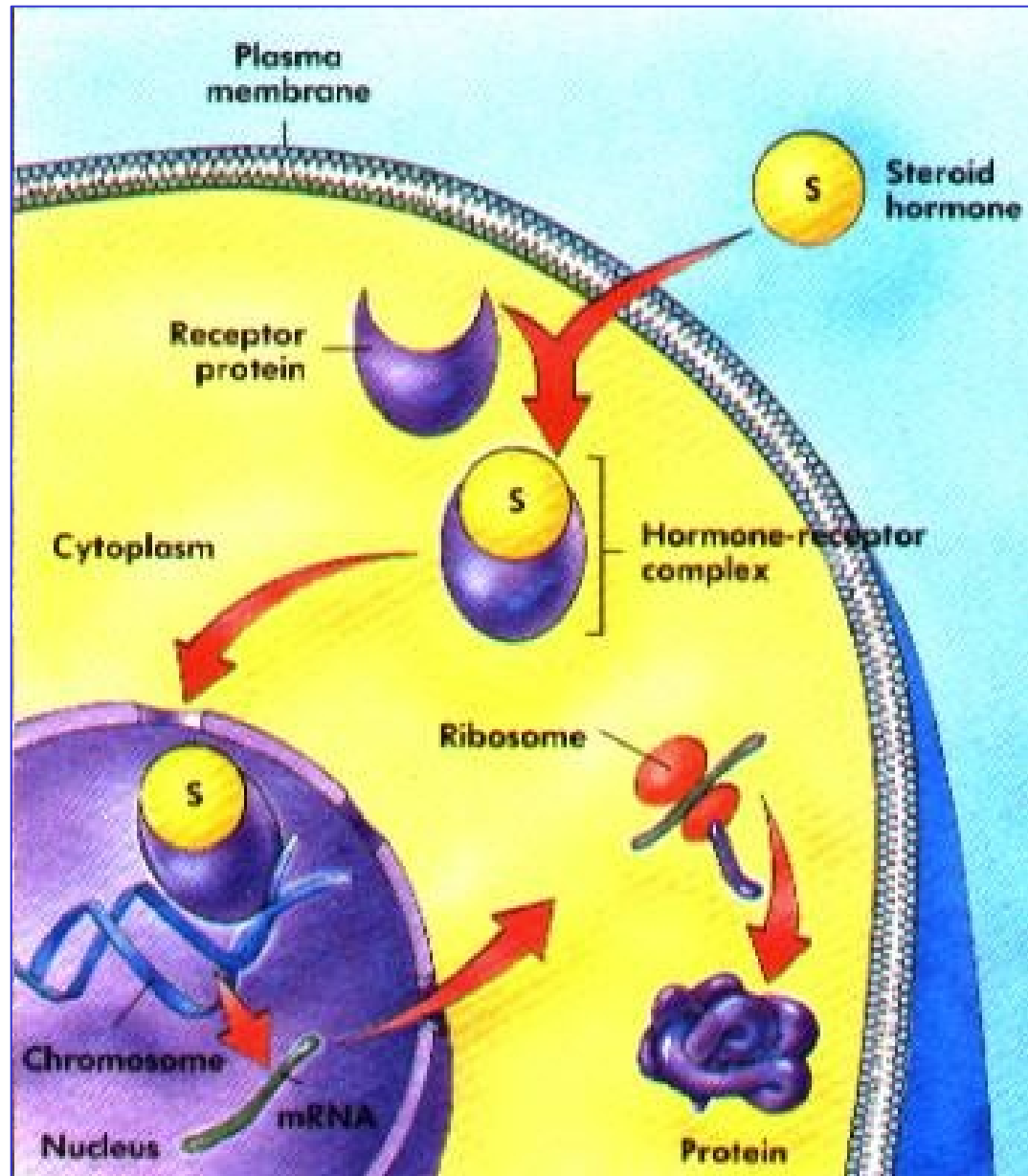
*Récepteurs nucléaires* : l'hormone thyroïdienne pénètre librement dans la cellule et dans le noyau où elle se fixe à son récepteur, lequel fait partie intégrante de la chromatine).

# Les récepteurs intracellulaires



*Exemple : mécanisme d'action des stéroïdes*

# Les récepteurs intracellulaires



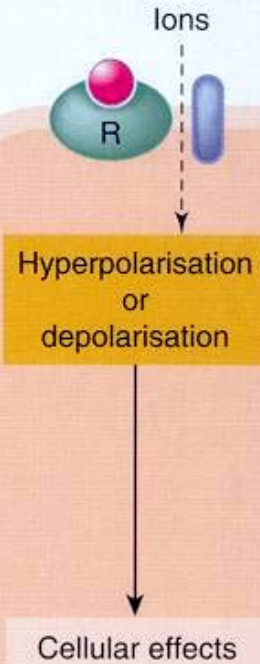
# Les récepteurs intracellulaires

---

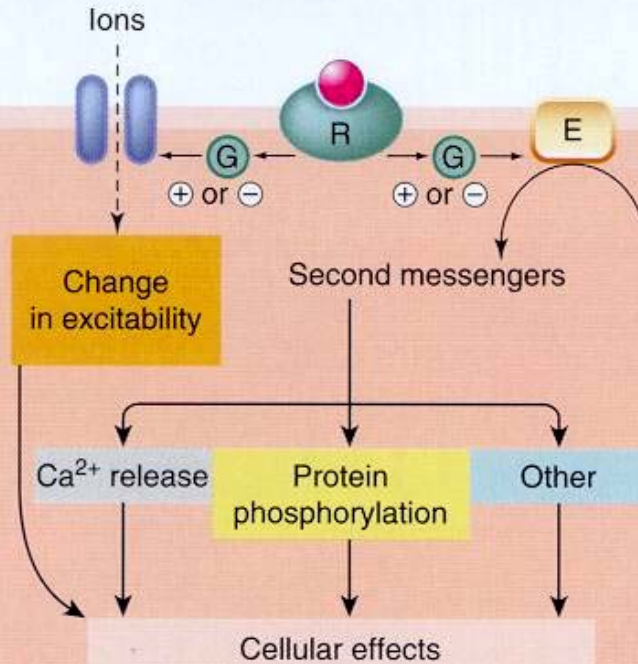
- Récepteurs des glucocorticoïdes : antiinflammatoires stéroïdiens (ag.) : cortisone, prednisolone
- Récepteurs des hormones sexuelles : contraceptifs oraux, traitement de substitution de la ménopause, modulateurs des récepteurs des estrogènes (tamoxifène), anti-androgènes, etc...
- Récepteurs des hormones thyroïdiennes (lévothyroxine)
- Récepteurs de l'aldostérone : diurétiques
- Récepteurs de la vitamine D

# Les récepteurs : récapitulatif

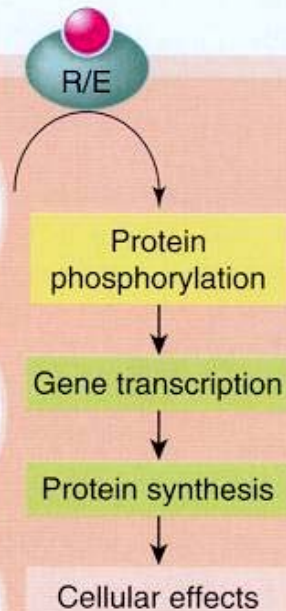
## 1. Ligand-gated ion channels (ionotropic receptors)



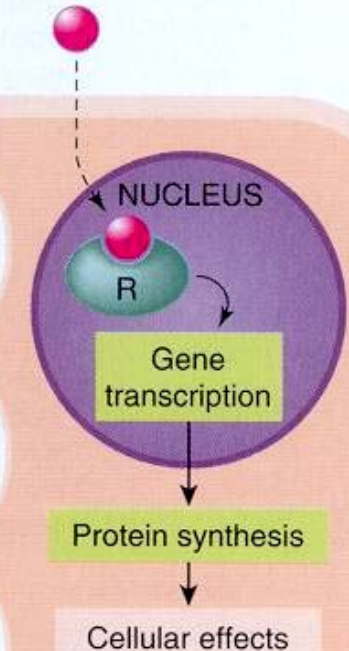
## 2. G-protein-coupled receptors (metabotropic)



## 3. Kinase-linked receptors



## 4. Nuclear receptors



### Time scale

Milliseconds

### Examples

Nicotinic ACh receptor

Seconds

Muscarinic ACh receptor

Hours

Cytokine receptors

Hours

Oestrogen receptor

# Les récepteurs : récapitulatif

<u>Type</u>	<u>Ionotropique</u>	<u>Métabotropique</u>	<u>Tyrosine kinase</u>	<u>Nucléaire</u>
<b>Localisation</b>	<i>Membrane</i>	<i>Membrane</i>	<i>Membrane</i>	<i>Intracellulaire</i>
<b>Effecteur</b>	<i>Canal ionique</i>	<i>Canal ionique ou enzyme</i>	<i>Tyrosine kinase</i>	<i>Transcription des gènes</i>
<b>Couplage</b>	<i>Direct</i>	<i>Protéine G</i>	<i>Direct</i>	<i>Liaison à l'ADN</i>
<b>Exemple</b>	<i>Nicotinique, GABA<sub>A</sub></i>	<i>Muscarinique, adrénergique</i>	<i>Insuline, cytokines, facteurs de croissance</i>	<i>Stéroïdes, hormone thyroïdienne</i>
<b>Structure</b>	<i>Assemblage oligomérique de sous-unités formant le pore</i>	<i>Monomère à sept domaines transmembranaires</i>	<i>Domaine transmembranaire unique</i>	<i>Protéine monomérique</i>

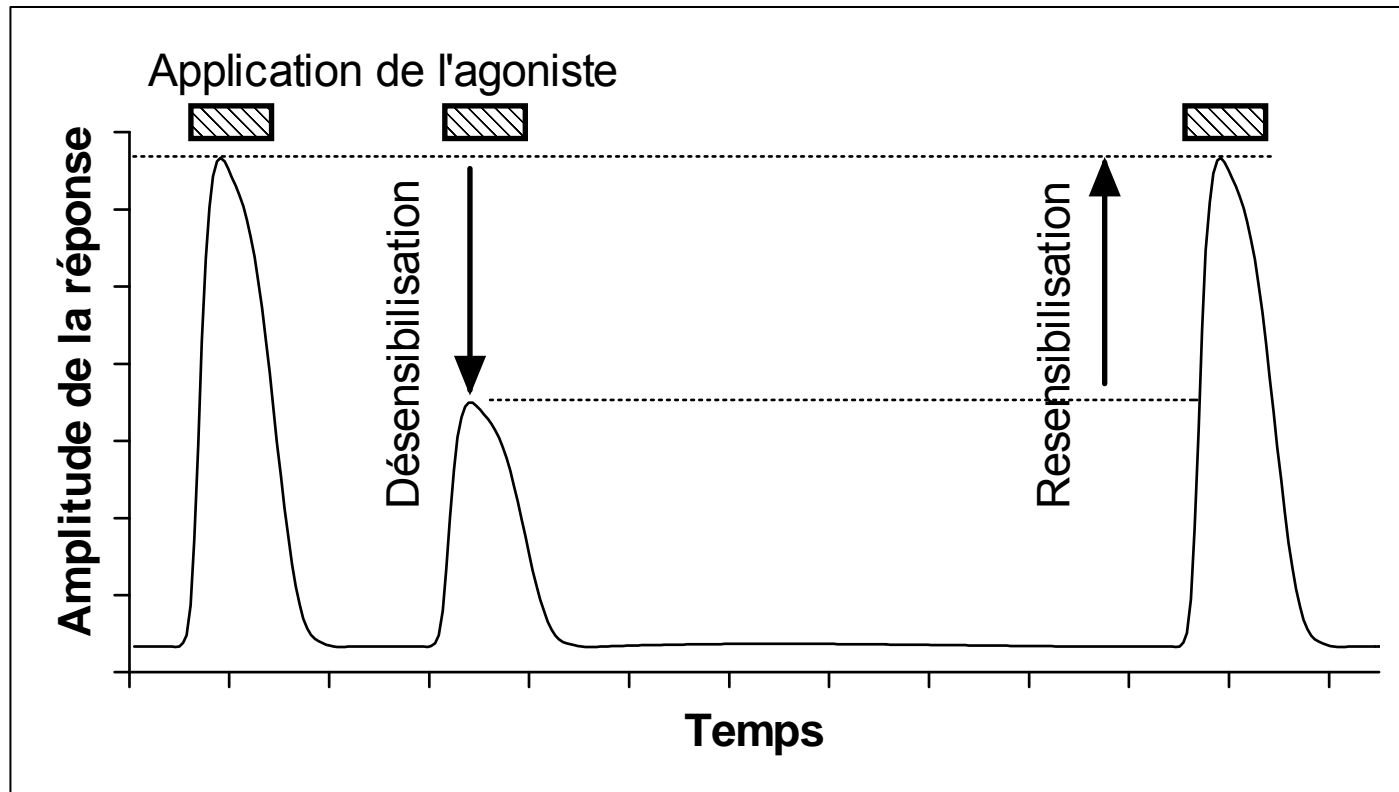
# **2. Récepteurs et cibles moléculaires**

## **2.3. Régulation**



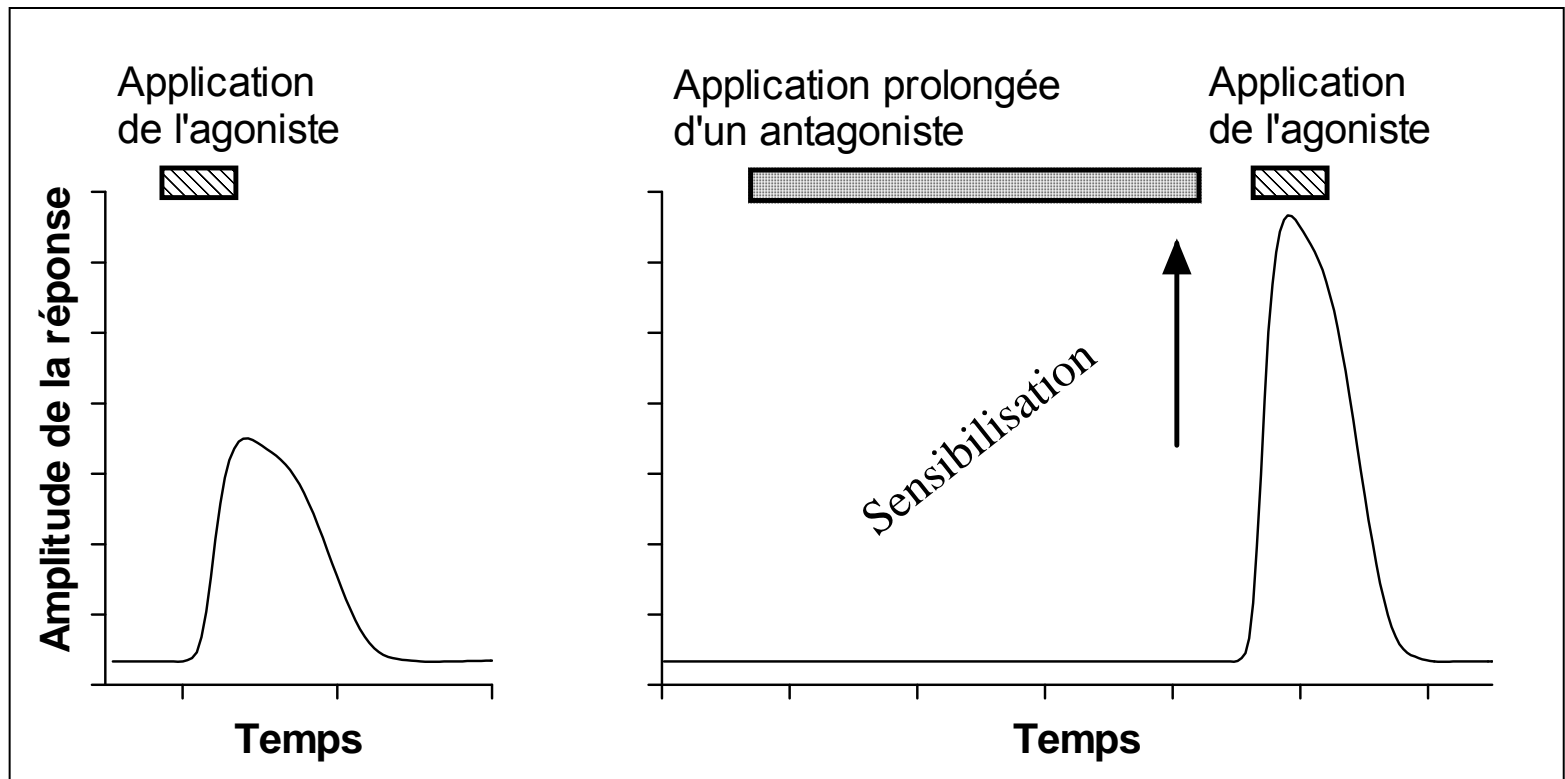
# Régulation des récepteurs

- L'application répétée de l'agoniste entraîne la désensibilisation (perte de l'efficacité de la réponse).
- L'arrêt de la stimulation entraîne la resensibilisation (récupération de la réponse maximale)



# Régulation des récepteurs

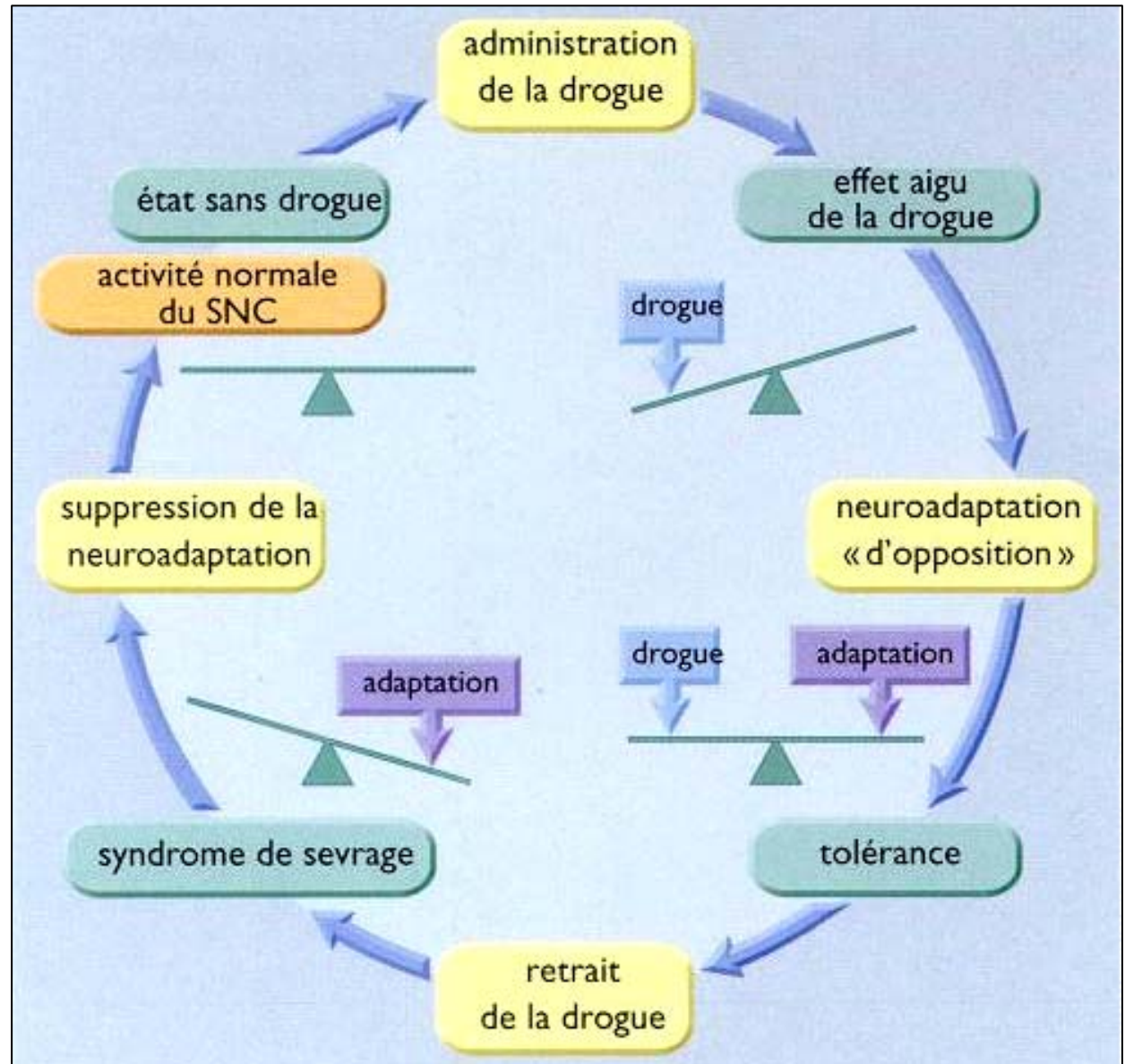
- L'application répétée d'un antagoniste peut entraîner une augmentation de la sensibilité du système (sensibilisation)
- Ceci traduit le fait que la transmission 'endogène' avait causé une certaine désensibilisation physiologique du système, laquelle est éliminée grâce à l'application prolongée de l'antagoniste



# Régulation des récepteurs

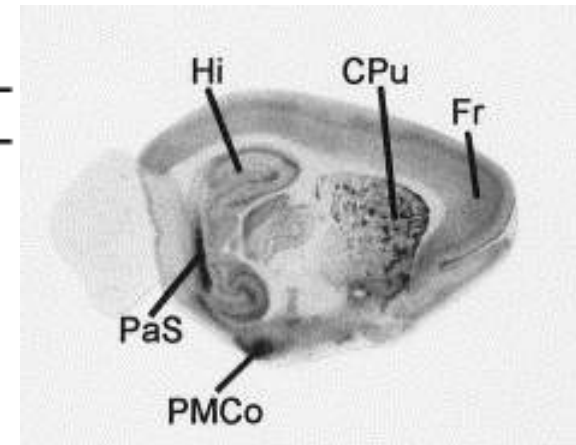
La régulation des récepteurs est un phénomène physiologique qui s'opère en permanence dans l'organisme. Un équilibre est ainsi établi.

L'application prolongée d'un agoniste ou d'un antagoniste entraîne une modification de cet équilibre



# Régulation des récepteurs

Brain region	Control	Naltrexone	% control
Frontal cortex	41.0±2.1	36.4±2.1	88%
Caudate-putamen	44.2±1.4	48.9±2.4	111%
Septum	24.7±0.9	32.8±4.7	132%
Thalamus	59.2±6.4	88.0±6.2*	149%
Hippocampus	26.4±1.0	35.8±1.2**	136%
Globus pallidus	20.8±1.7	33.0±3.3*	157%
Hypothalamus	17.5±0.7	50.3±4.1**	294%
Amygdala	21.9±1.1	44.6±5.7*	205%
Substantia nigra	20.8±1.5	30.1±2.0*	143%
Ventral tegmental area	11.4±1.0	22.5±1.2**	209%
Central gray	14.9±1.5	44.7±1.7**	300%
Interpeduncular nucleus	44.4±3.5	116.2±10.1**	264%



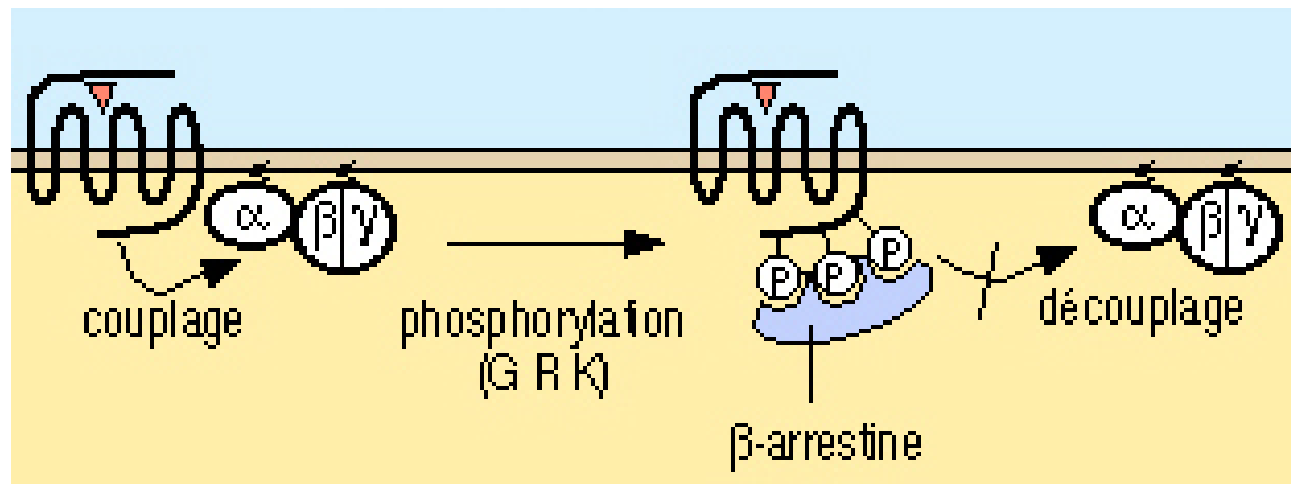
Specific [ $^3\text{H}$ ]DAMGO binding to mu receptors in brain regions from control and naltrexone-treated rats using quantitative receptor autoradiography on adjacent tissue sections to those used to measure immunoreactivity. Values given are mean±S.E.M. of specific fmol bound/mg of tissue from three control and four naltrexone-treated animals. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ , unpaired two-tailed  $t$ -test.

*Note : la naltrexone = antagoniste des récepteurs opiacés*

# Régulation des récepteurs : mécanismes

*après de brèves  
expositions à  
l'agoniste*

- Mécanismes très rapides (secondes)
  - = désensibilisation moléculaire
  - = diminution du couplage fonctionnel des récepteurs avec leur cascade signalétique
  - = souvent par phosphorylation des récepteurs (par des kinases)
  - = rapidement réversible (par déphosphorylation, cfr phosphatases)
  - = Les récepteurs restent présents et accessibles, mais non fonctionnels



Exemple dans le cas d'un récepteur couplé à une protéine G. La phosphorylation par des kinases spécifiques facilite l'interaction avec des protéines (arrestines) perturbant le couplage de la protéine G.

# Régulation des récepteurs : mécanismes

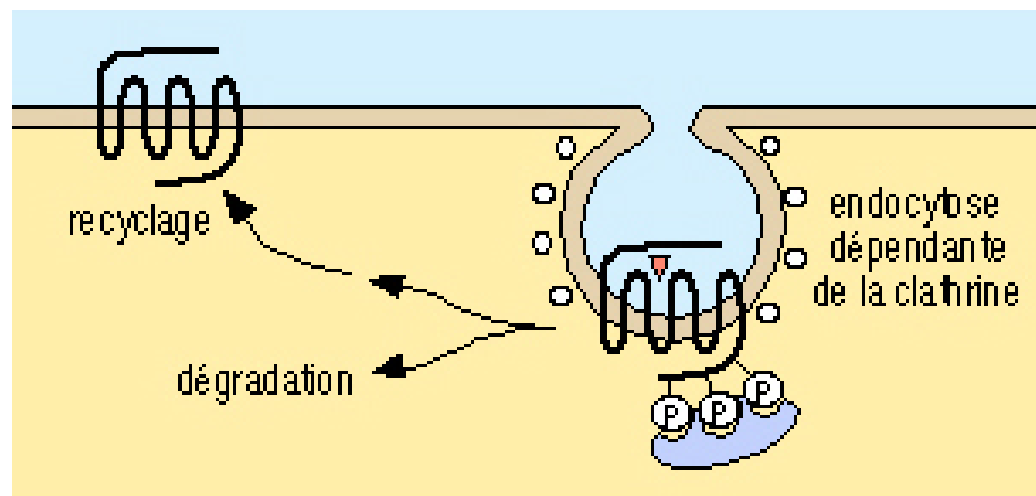
---

- Mécanismes très rapides (secondes) (*SUITE*)
  - = désensibilisation moléculaire est
    - = soit homologue : le récepteur de A se désensibilise suite précisément à une stimulation avec A
      - Implique souvent des kinases spécifiques des récepteurs (bien documenté dans le cas des récepteurs couplés aux protéines G : GRK, G-protein coupled receptor kinase).
    - = soit hétérologue : le récepteur de A se désensibilise suite à une stimulation avec B, lequel active un autre récepteur (désensibilisation ‘croisée’).
      - Implique souvent des kinases non spécifiques (PKA protéine kinase A ou PKC, protéine kinase C), lesquelles sont activées par les récepteurs

# Régulation des récepteurs : mécanismes

*après des expositions persistantes à l'agoniste*

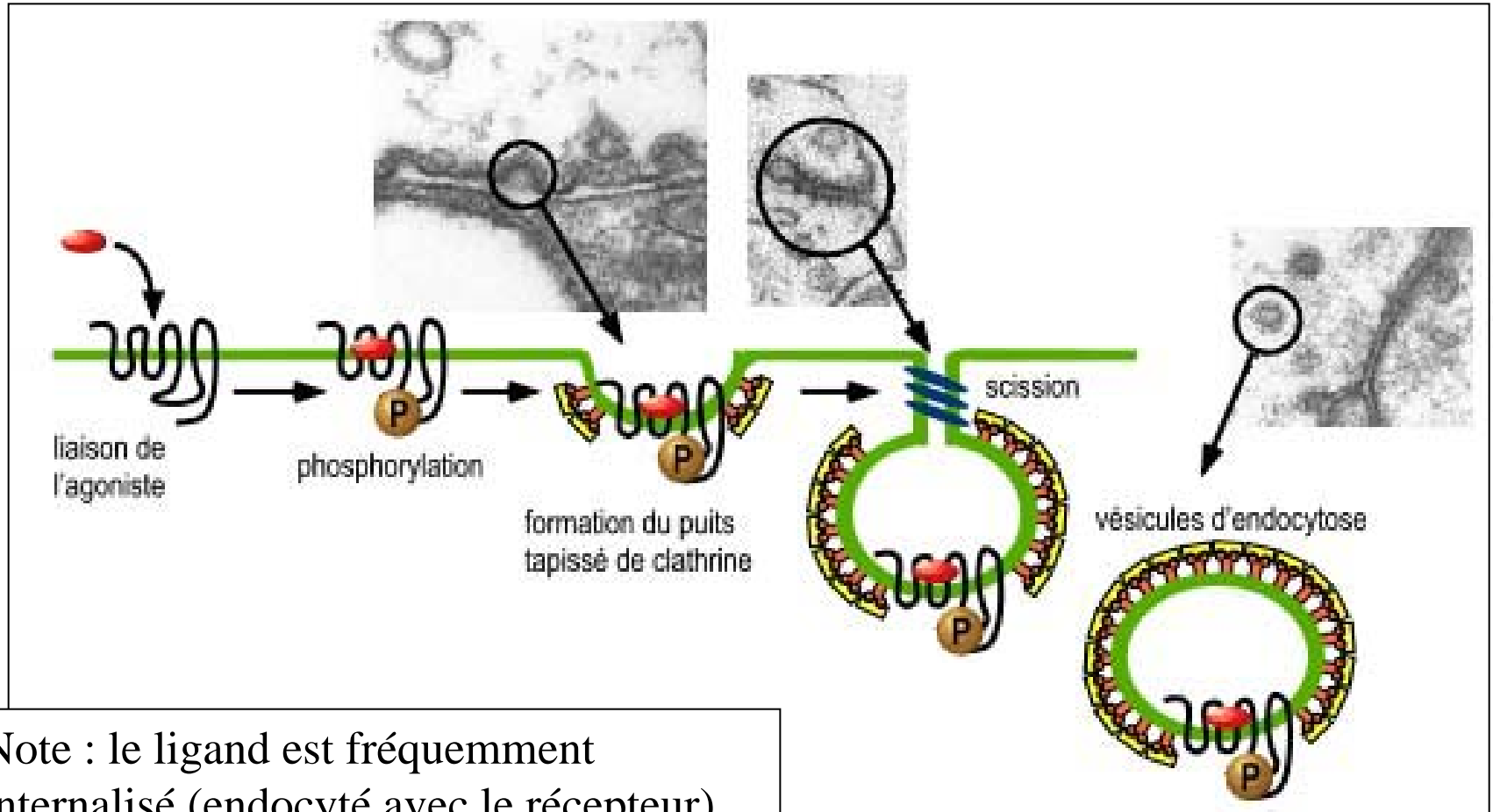
- Mécanismes moyennement rapides (minutes)
  - = internalisation (souvent des récepteurs désensibilisés au niveau moléculaire)
  - = endocytose par invagination de la membrane plasmique
  - = implique souvent la clathrine (protéines d'enrobage des vésicules d'endocytose)
  - = diminution du nombre de récepteurs accessibles à la membrane cellulaire
  - = réversibilité : selon le devenir des récepteurs internalisés : dégradation ou recyclage



La membrane s'invagine (avec l'aide de la protéine clathrine) et les vésicules d'endocytose sont destinées soit à la fusion avec des lysosomes (dégradation), soit au recyclage membranaire des récepteurs

# Régulation des récepteurs : mécanismes

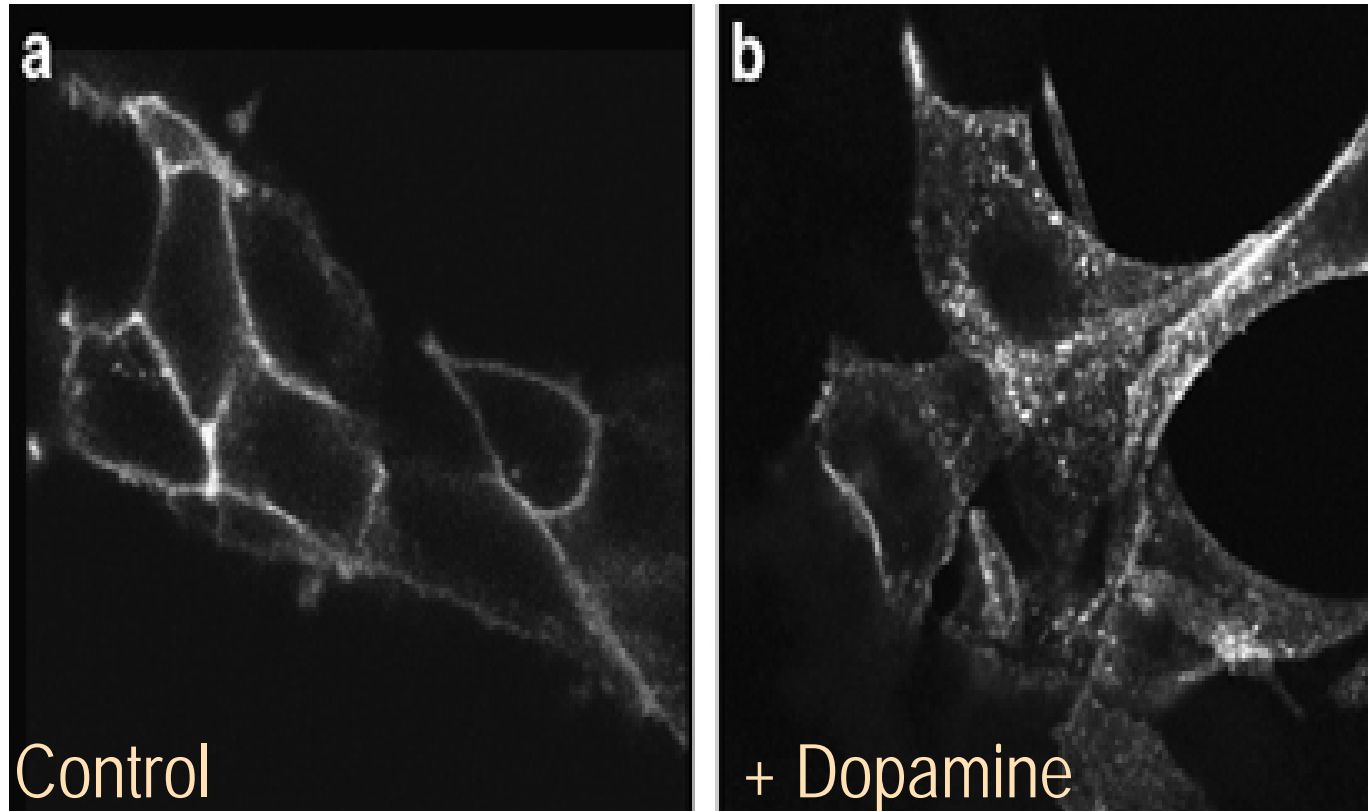
## *Mécanismes de l'internalisation des récepteurs*



Note : le ligand est fréquemment internalisé (endocyté avec le récepteur)



## *Mécanismes de l'internalisation des récepteurs*



**On constate que l'application d'un agoniste induit l'internalisation des récepteurs (ici mis en évidence avec un anticorps révélé en fluorescence). Le signal à la surface des cellules diminue et des petits agglomérats de signal apparaissent DANS la cellule.**

Neuropsychopharmacology (2006), 1-11

© 2006 Nature Publishing Group All rights reserved 0893-133X/06 \$30.00

[www.neuropsychopharmacology.org](http://www.neuropsychopharmacology.org)



# Régulation des récepteurs : mécanismes

- Mécanismes lents (heures - jours)

- = « down-regulation »

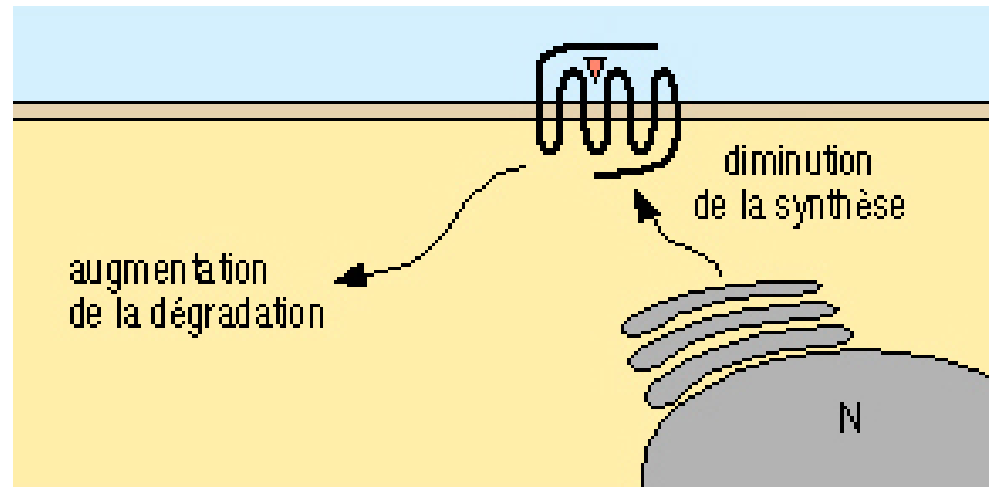
- = diminution de la synthèse des récepteurs (ou augmentation de leur dégradation)

- = implique une modulation de l'expression du récepteur

- = réversibilité requiert plusieurs heures/jours (resynthèse de nouveaux récepteurs)

- = diminution du nombre total de récepteurs de la cellule

*après des expositions  
prolongées à l'agoniste*

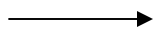


La stimulation prolongée peut entraîner la diminution du nombre total de récepteur suite à la diminution de synthèse, ou suite à une augmentation de la dégradation

# Régulation des récepteurs : mécanismes

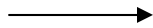
- Mécanismes lents (heures - jours) (*SUITE*)

= « Down-regulation »



*après des expositions  
prolongées à l'agoniste*

= « Up-regulation »



*après des expositions  
prolongées à un antagoniste*



Le blocage prolongé (heures - jours) d'un récepteur peut entraîner l'augmentation du nombre total de récepteurs suite à l'augmentation de sa synthèse, ou suite à une diminution de sa dégradation

# Régulation des récepteurs : *Conséquences*

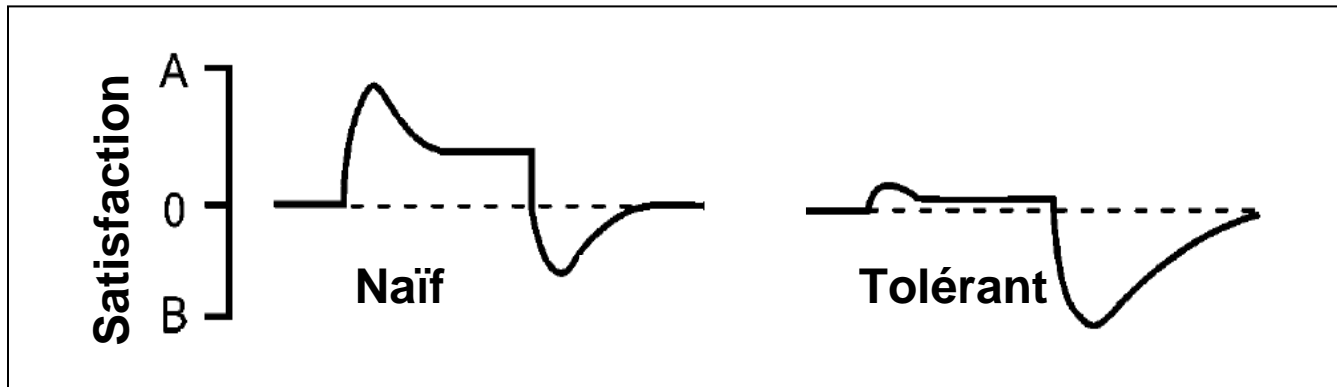
## Tolérance

=

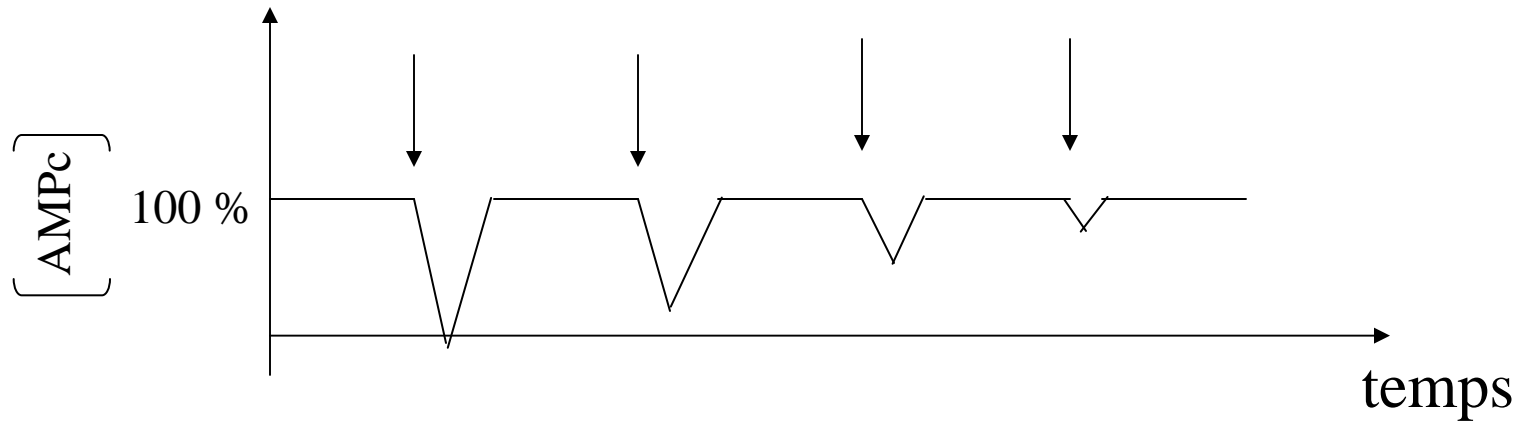
diminution progressive de la réponse à une substance après son usage répété suite à *l'adaptation* de la cible pharmacologique (de l'organisme)  
(= accoutumance)

L'individu doit augmenter les doses consommées (ou les fréquences d'administration) pour retrouver l'effet recherché

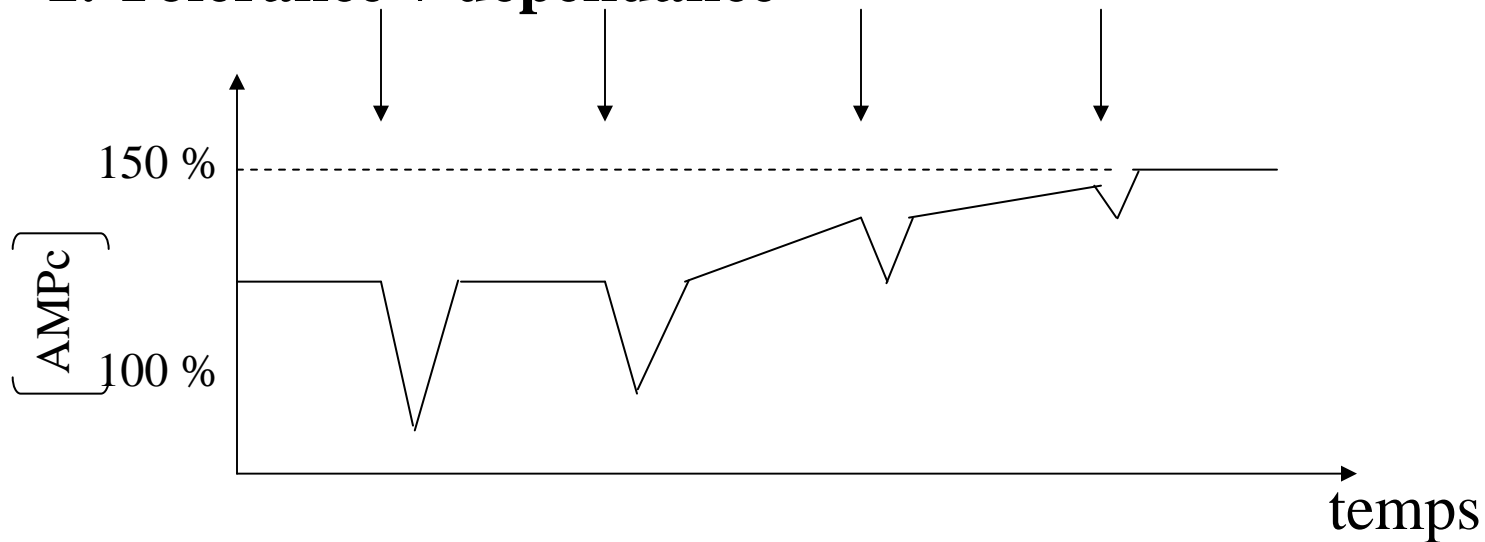
*exemples : sédatifs, vasoconstricteur nasal, ...*



# 1. Tolérance seule



# 2. Tolérance + dépendance



NB : administration d'un morphinique (dose fixe) aux moments indiqués par les flèches

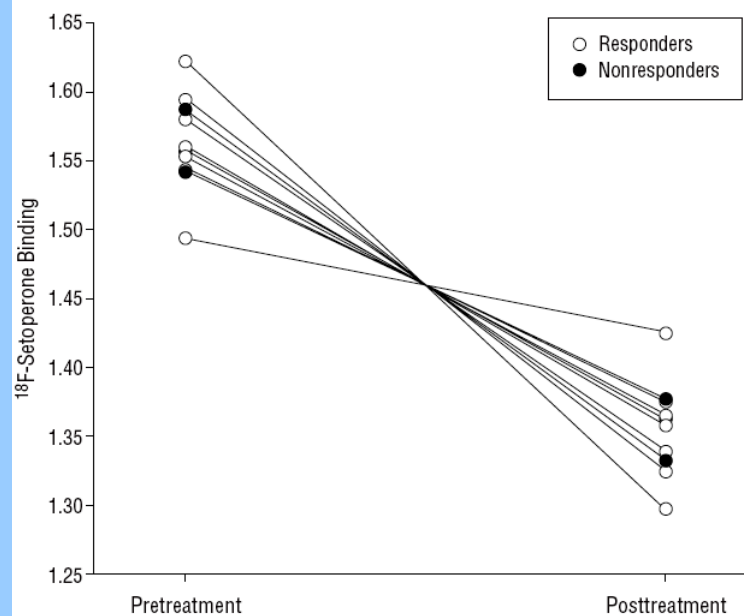
# Conséquences cliniques de la désensibilisation

- De manière générale, phénomène gênant (nécessité d'augmenter les doses pour conserver l'effet)
- Nécessité de poursuivre le traitement pour éviter le sevrage
- Parfois, la régulation est l'objectif recherché :
  - Exemple 1: les antidépresseurs (effet indirect)
  - Exemple 2 : analogues puissants et d'action prolongée du LHRH (ou gonadoréline) : **buséréline**, utilisée dans certains cancer hormono-dépendants.

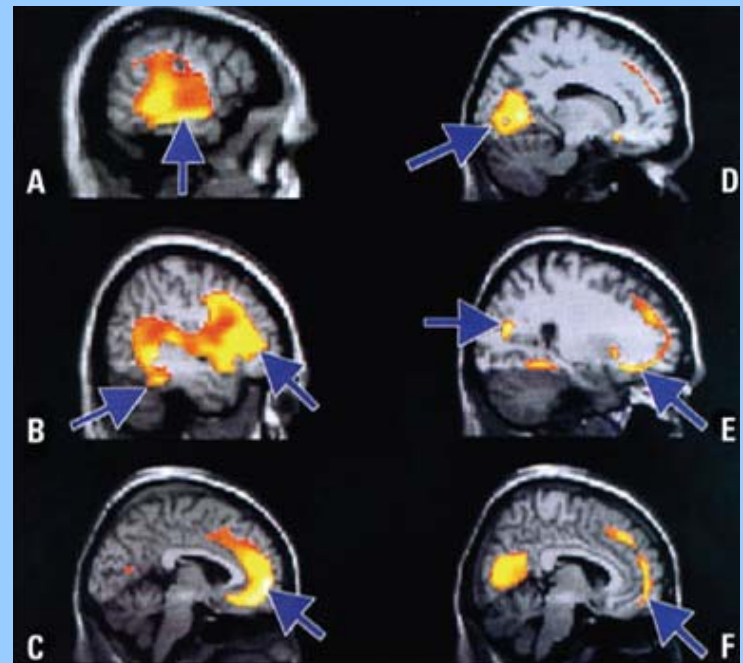
Régulation massive conduisant à une neutralisation du système (inhibition paradoxale de la production de gonadotrophines et donc de la fonction gonadique)

# Decrease in Brain Serotonin 2 Receptor Binding in Patients With Major Depression Following Desipramine Treatment

*A Positron Emission Tomography Study With Fluorine-18-Labeled Setoperone*



**Binding of fluorine 18-labeled setoperone ( $^{18}\text{F}$ -setoperone) in left medial frontal gyrus for 10 depressed patients (8 responders and 2 nonresponders) before and after treatment with desipramine hydrochloride.**



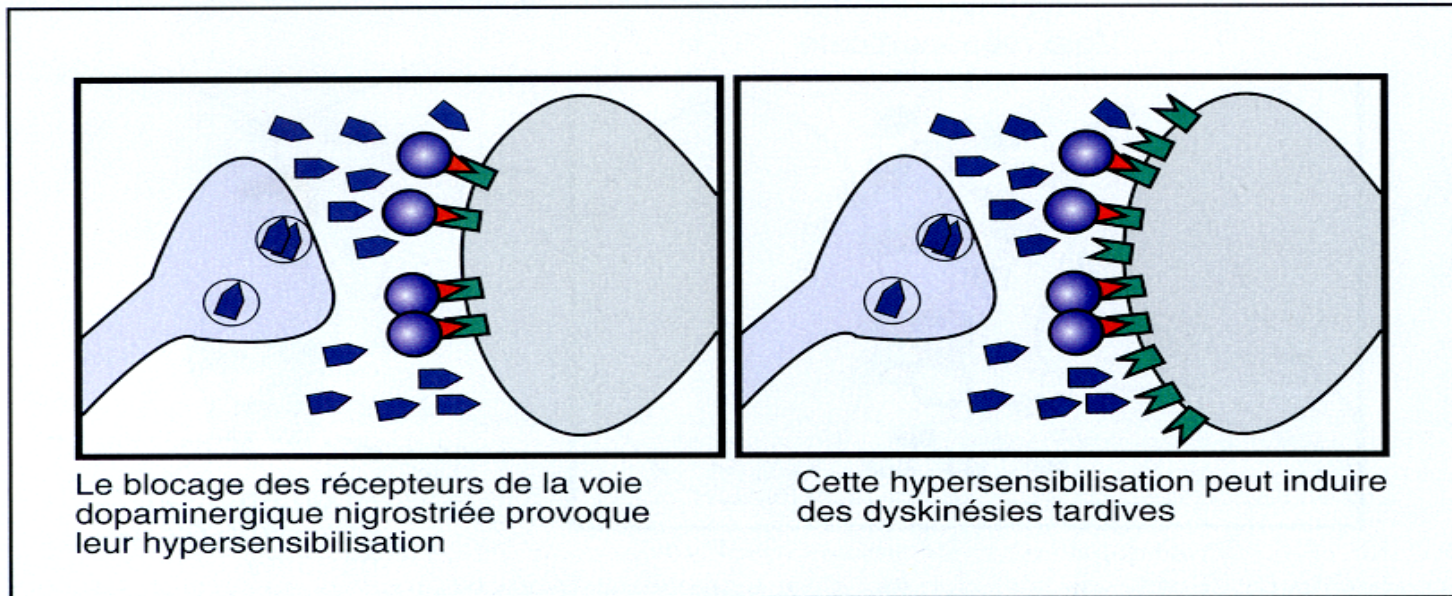
**Areas of significant decreases in fluorine 18-labeled setoperone binding on the sagittal renderings of the brain indicated by arrows in depressed patients following desipramine hydrochloride treatment**

# L'hypersensibilisation

:

La perte d'innervation pathologique en un site donné (*e.g.* striatum, plaque motrice) peut induire divers mécanismes compensatoires:

**Exemple:** La dyskinésie tardive peut se manifester pendant un traitement à long terme ou après la suspension d'un traitement à la chlorpromazine ou à l'halopéridol (neuroleptiques, càd antagonistes des récepteurs dopaminergiques). Cet effet indésirable pourrait être causé par une régulation à la hausse du nombre de récepteurs dopaminergiques et ainsi, d'une augmentation de la fonction dopaminergique dans les noyaux gris centraux responsables du contrôle moteur.





## La désensibilisation :

À l'inverse, l'augmentation du tonus nerveux ou l'exposition soutenue à un agoniste peut induire un phénomène de désensibilisation des récepteurs, dans lequel leur couplage aux voies de signalisation est réduit ou leur nombre est diminué (*down-regulation*, régulation à la baisse).

**Exemple:** Les stimulants  $\beta$ -adrénergiques sont très efficaces dans le traitement symptomatique de crises d'asthme aiguës, mais ils sont utilisés avec précaution dans le traitement au long cours de l'asthme parce qu'un usage fréquent comporte un risque d'aggravation de l'asthme dû à la désensibilisation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques. C'est pourquoi leur fréquence d'administration doit être limitée.

