

Introduction générale

La Pharmacologie est la science des drogues, ayant pour objet l'étude des **interactions** entre le médicament et les organismes vivants. La pharmacologie couvre un champ extrêmement large ;

La pharmacocinétique, la pharmacodynamie, la pharmacovigilance, la pharmacologie expérimentale, la pharmacologie clinique et la pharmacologie moléculaire.

❖ **La pharmacologie moléculaire** donne l'opportunité d'approfondir l'exploration des mécanismes qui sont mis en jeu dans la réponse à certains médicaments. Elle apporte les bases nécessaires à l'étude des mécanismes d'action des médicaments et des mécanismes de régulation des fonctions de l'organisme, elle s'intéresse de manière approfondie :

- Les cibles moléculaires des principaux médicaments (enzymes, récepteurs des médiateurs et leur fonctionnement, protéines membranaires intervenant dans l'équilibre ionique)
- Les voies de transduction et enzymes mises en jeu, messagers intracellulaires, conséquences au niveau cellulaire de la liaison des médicaments.

I. Généralités

L'effet d'un médicament est lié à l'interaction du médicament avec son site d'action, qui est généralement un récepteur qui peut être ; une enzyme, une protéine de transport, un canal ionique ou un élément non encore identifié. L'interaction entre le médicament et son site d'action implique une reconnaissance mutuelle des 2 protagonistes, le médicament doit avoir une certaine affinité pour son site d'action.

Les principes actifs agissent par des actions non spécifiques ou des actions spécifiques.

L'action non spécifique

Les médicaments d'action non spécifique agissent grâce à des propriétés physico-chimiques et non pas d'affinité pour les récepteurs de l'organisme.

Exemple : action chimique ; les antiacides locaux (estomac) hydroxyde d'aluminium ou de magnésium (MAALOX®) neutralisent l'excès d'acide chlorhydrique stomacal.

L'action spécifique

Les médicaments à action spécifique agissent à faible dose, leur action résulte d'une interaction avec une macromolécule protéique à laquelle le PA est fixé. Cette fixation est spécifique du médicament et de son effet. Elle dépend étroitement de sa structure et de ses propriétés chimiques.

Les différentes cibles des médicaments sont :

- Récepteurs à activité de canal ionique
- Récepteurs couplés aux protéines G
- Récepteurs_Enzymes
- Récepteurs nucléaires
- Cibles spécifiques des agents pathogènes (bactéries, champignons, virus...)

❖ **Les récepteurs et ligands**

Les récepteurs : sont des protéines membranaires ou intracellulaires capables de reconnaître et de fixer de façon spécifique des médiateurs (ou ligands) endogènes ou exogènes. La fixation du médiateur déclenche une réponse biologique obtenue par l'intermédiaire d'un amplificateur et d'un effecteur.

Les ligands : Tout composé (agoniste ou antagoniste) capable de se fixer sur un récepteur.

Agoniste : Un agoniste (Analogue d'un médiateur naturel ou chimique) est toute substance capable de se lier à un R et générer un effet biologique. L'agoniste peut être un neuromédiateur, une hormone ou une substance exogène. Un agoniste possède

donc en plus de son affinité pour le récepteur, une propriété appelée efficacité intrinsèque qui est responsable de la réponse biologique consécutive à sa liaison au récepteur.

Certains agonistes appelés **agonistes partiels**, ne peuvent pas, comme les agonistes, induire une réponse maximale même s'ils possèdent la même affinité pour le récepteur.

$A + R \leftrightarrow A-R \rightarrow$ Action pharmaco. \rightarrow Effet pharmaco.

La liaison entre l'agoniste et le récepteur est due à des forces de faible intensité. Elle est labile et réversible. Elle a lieu au niveau d'une partie particulière de récepteur, le « site actif ». Les configurations (structures, fonctions chimiques, charges électriques) de l'agoniste et du site actif se correspondent, ce qui assure la spécificité de la fixation, Selon l'image classique : site actif + principe actif = clé dans la serrure

Exemples :

- 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.
- L'acétylcholine est l'agoniste physiologique des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine. C'est l'agoniste endogène.
- La nicotine agit comme un agoniste au niveau des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine. C'est une agoniste 'exogène'.

Antagoniste

Un antagoniste est toute substance qui se lie à un récepteur mais cette liaison ne déclenche pas de réponse biologique, l'antagoniste est incapable de provoquer une activité intrinsèque après interaction avec son récepteur spécifique. Il ne possède donc pas une action propre, son effet pharmacologique est le résultat d'une opposition à l'action d'un médiateur chimique endogène ou d'un agoniste.

$A' + R \leftrightarrow A'-R$

Il existe plusieurs types des antagonistes comme :

Les antagonistes compétitifs se lient de manière réversible au récepteur et la réponse tissulaire peut revenir à la normale en augmentant la dose d'agoniste.

Un antagoniste non compétitif ou irréversible.

Exemples :

- Les antihistaminiques sont des antagonistes des récepteurs de l'histamine et bloquent les effets de l'histamine libérée lors des réactions allergiques.
- Le curare se comporte comme un antagoniste : se fixant au récepteur nicotinique, il bloque l'action de la nicotine et de l'acétylcholine.

❖ L'effet pharmacologique et l'effet thérapeutique

L'interaction du médicament avec son site d'action va entraîner, *via* des mécanismes de signalisation intracellulaire, un effet pharmacologique quantifiable au niveau de la cellule, d'un organe isolé ou de l'organisme entier.

Cet effet pharmacologique est suivi généralement d'un effet thérapeutique. Il est important de bien dissocier l'effet pharmacologique de l'effet thérapeutique. Par exemple, par définition, les antiagrégants plaquettaires ont, *in vitro*, un effet pharmacologique 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 artérielle.



En se fixant sur le récepteur, le ligand provoque une modification de celui-ci appelée « Stimulus ». Entre le stimulus, dû à la fixation du médicament sur son récepteur et l'effet pharmacodynamique que l'on constate, la liaison est faite par un processus appelé « couplage » ou transduction.

I. Les Différents types de récepteurs

Les récepteurs sont des macromolécules dont la fonction est de lier une molécule signal et de convertir cette interaction en un effet c'est-à-dire en une modification du fonctionnement cellulaire.

Il existe des récepteurs de structures différentes, et la façon dont leur occupation sera transformée en un effet (**transduction du signal**) peut également être très diverse.

Les principaux types de récepteurs 4 grandes classes distinctes :

- ✓ Les récepteurs-canaux.
- ✓ Les récepteurs couplés aux protéines G.
- ✓ Les récepteurs - tyrosine kinase ou Récepteurs_Enzymes
- ✓ .Les récepteurs intracellulaires ou Récepteurs nucléaires

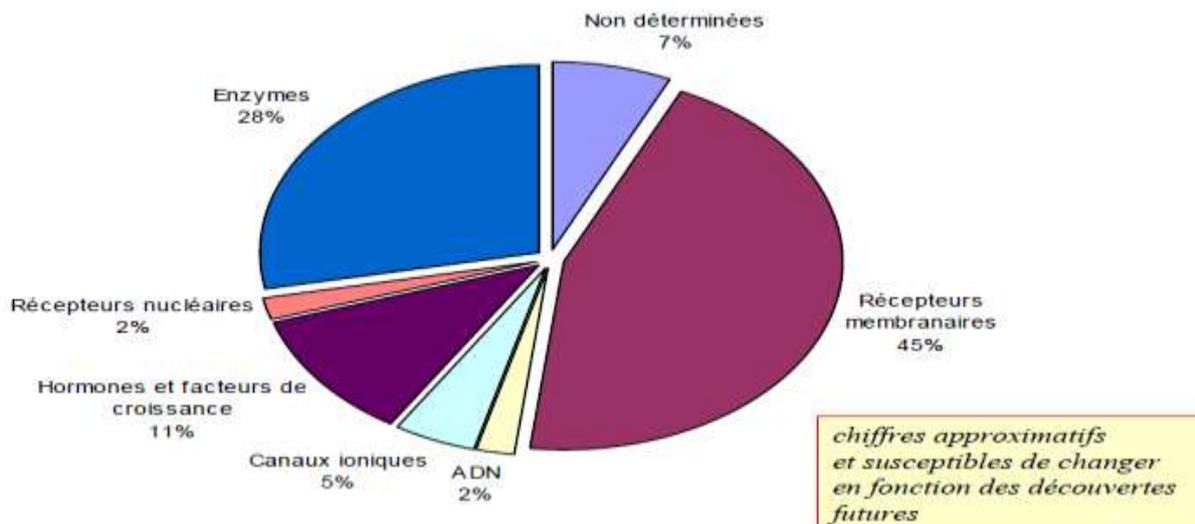


Figure 1. Les différentes cibles des médicaments

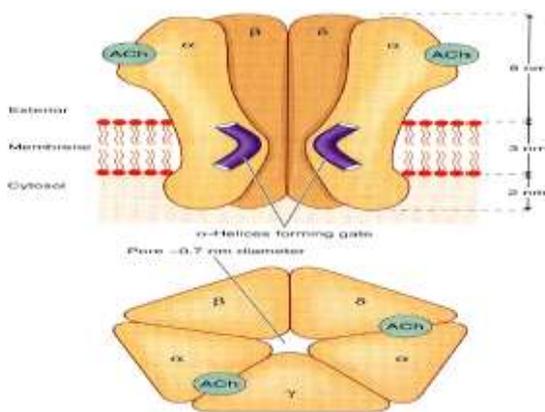
I.1. Les récepteurs-canaux ioniques (ionotropiques)

I.1.1. Canaux ioniques ligands dépendants

Protéines membranaires impliquées dans le passage d'ions selon leur gradient de concentration :

- ions entrants : Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- .
- ion sortant : K^+

Leur ouverture se fait en réponse à un neurotransmetteur (GABA, glutamate) (se distinguent des canaux voltage dépendants qui s'ouvrent en réponse à une modification du potentiel de membrane)



Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine au niveau de la plaque motrice fournit un exemple d'un **canal ionique activé par un ligand**.

Le complexe récepteur se compose de 5 sous-unités protéiques (α - α - β - γ - δ) qui contiennent chacune quatre domaines transmembranaires.

La fixation simultanée de deux molécules d'acétylcholine (ACh) sur les deux sous-unités α provoque l'ouverture d'un canal ionique avec une entrée de Na^+ (et une sortie de K^+), une dépolarisation membranaire et le déclenchement d'un potentiel d'action.

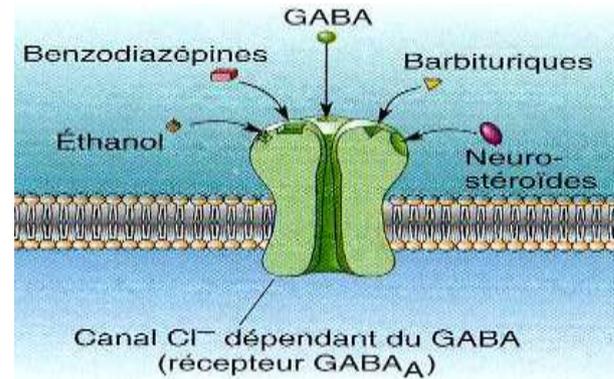
Exemples :

- ✓ Récepteur nicotinique de l'acétylcholine (Na^+).

Récepteur GABA_A de l'acide γ -aminobutyrique (Cl^-) le récepteur GABA^A contient un canal chlore (et un site de liaison des benzodiazépines situé au-dessus du canal).

- ✓ Récepteur 5HT₃ de la sérotonine (Na^+)
- ✓ Récepteurs NMDA du glutamate (Na^+ , Ca^{2+})

La présence de nombreux sites modulateurs, agonistes, agonistes inverses, antagonistes compétitifs et antagonistes non-compétitifs sur le même récepteur, exploités en pharmacologie voir la figure



I.1.2. Les canaux ioniques voltage dépendants

Les canaux ioniques voltages dépendants (Na⁺, Ca²⁺) sont également la cible de certains médicaments. **Pas de modulation spécifique directe par un ligand endogène, mais bien par le voltage (rôle dans la conduction des potentiels d'action)**

- 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 Na⁺ voltage dépendants (lidocaïne, xylocaïne).

I.2. Les Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG ou GPCR)

Les RCPGs sont des protéines membranaires ayant une structure à sept domaines transmembranaires (TM). Les 7 TM sont des hélices α reliées par trois boucles intracellulaires (i1 à i3) et trois boucles extracellulaires (e1 à e3) (Figure 2). Deux cystéines sont souvent présentes après cette hélice.

Les sept segments transmembranaires sont vraisemblablement organisés en un cercle qui contient en son centre une cavité et un site de liaison pour la molécule signal. L'association du ligand, ou d'un analogue pharmacologique possédant une activité agoniste, induit un changement de conformation du récepteur, et lui permet d'entrer en contact avec une protéine G (protéine liant les nucléotides guanyliques).

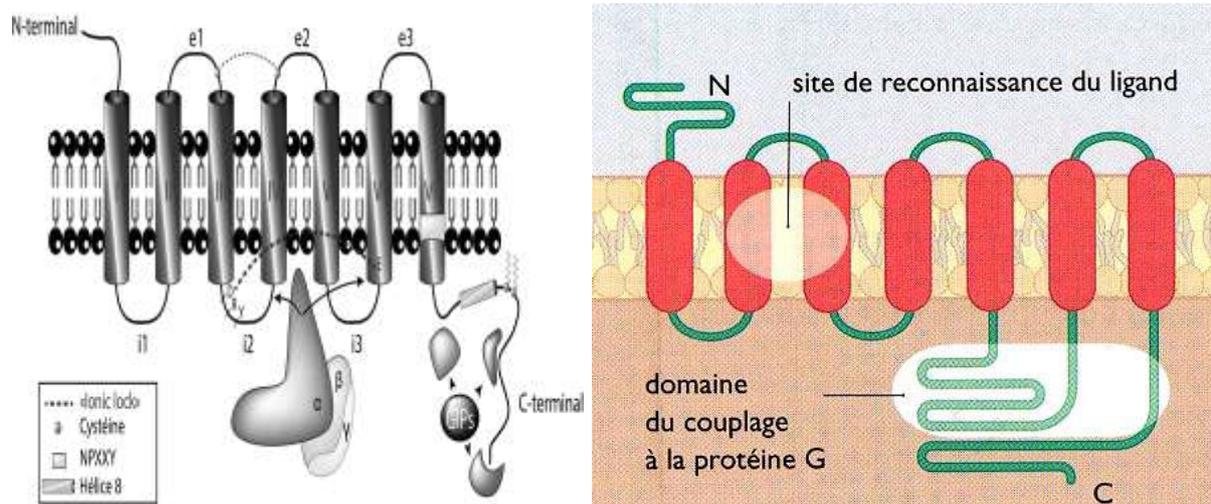


Fig. 2. – Structure générale des RCPGs.

Nous présenterons d'abord les acteurs essentiels de la transduction membranaire proprement dite, les R7TM et les protéines G, puis nous décrirons plus précisément les principales voies de signalisation en aval de l'activation des protéines G suite à l'occupation des R7TM.

❖ Les protéines Gs

Les protéines Gs sont situées sur la face interne de la membrane plasmique et sont des hétérotrimériques constituées de 3 sous-unités α , β et γ . Les protéines G se caractérisent par leur capacité à échanger du GDP (état inactif de la molécule) avec GTP (état actif).

Il existe différentes protéines G qui se différencient essentiellement par la structure de la sous-unité α . L'interaction avec le récepteur active la protéine G qui va à son tour moduler l'activité d'une protéine (enzyme, canal ionique).

Une proportion importante des signaux cellulaires agit par l'intermédiaire de récepteurs couplés à une protéine G.

Les RCPGs sont la cible de 30-40 % des médicaments efficaces pour traiter les pathologies humaines.

Quelques exemples de pathologies et de médicaments illustrent aisément ce point : douleurs (morphine), maladies mentales (anti-psychotiques), hypertension (anti-angiotensine, β -bloquants), ulcères gastriques (anti-histaminiques H₂), migraines (inhibiteurs des récepteurs de la sérotonine 5-HT_{1D} /1B, etc.

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

❖ Modes de fonctionnement des récepteurs couplés à une protéine G

Dans le cas des récepteurs couplés à une protéine G, le mécanisme de transduction du signal est en principe identique.

A la suite de la liaison d'un agoniste sur le récepteur, la conformation de la protéine se modifie. Ce changement se propage jusqu'à la protéine G :

- ✓ La sous-unité α libère le GDP et fixe le GTP, elle se dissocie des deux autres sous-unités (α -GTP se dissocie de $\beta\gamma$).
- ✓ α -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).
- ✓ Les sous-unités α des différentes protéines G se distinguent les unes des autres par leur affinité pour différentes protéines effectrices et par l'effet exercé sur ces effecteurs.
- ✓ La sous-unité α est capable d'hydrolyser lentement le GTP en GDP, le complexe α -GDP s'associe de nouveau avec les sous-unités β - γ (Ré-association du trimère $\alpha\beta\gamma$).

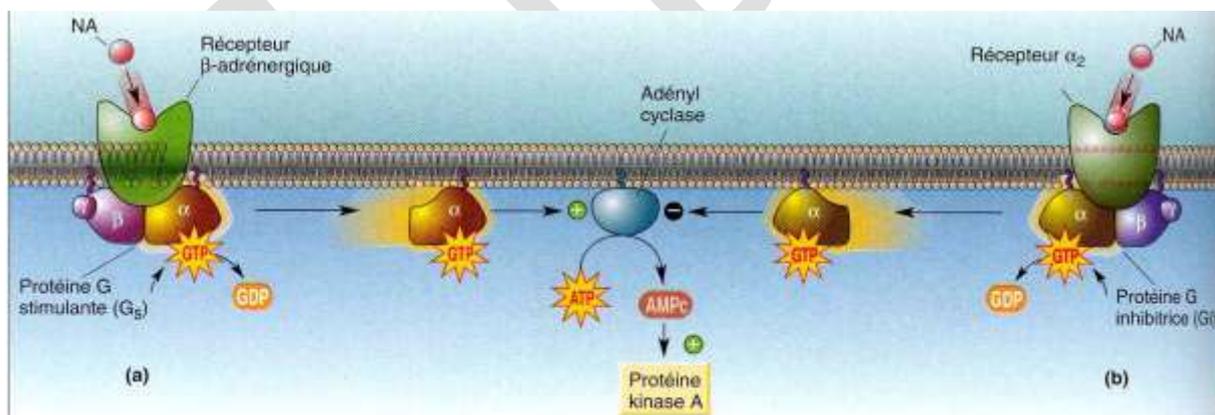
❖ Les EFFECTEURS

En ce qui concerne **les protéines effectrices** des récepteurs couplés aux protéines G, il faut citer principalement **l'adénylate cyclase (AMPc), la phospholipase C (inositol triphosphate et diacylglycérol, DAG), et les protéines canal.**

I.2.1. Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS Adénylate cyclase

De nombreuses fonctions cellulaires peuvent être gouvernées par la concentration intracellulaire **d'AMPc**, car l'AMPc augmente l'activité de la protéine-kinase A (PKA), qui à son tour catalyse le transfert d'un groupement phosphate sur une protéine effectrice. L'élévation de la concentration d'AMPc stimule par exemple le tonus des muscles lisses, la force de contraction du muscle cardiaque et augmente la glycogénolyse et la lipolyse.

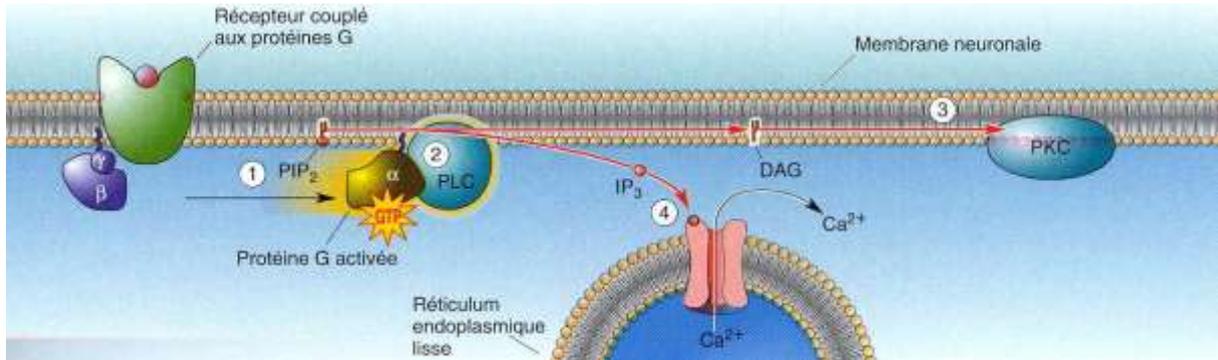
La phosphorylation d'un canal calcique favorise son ouverture lors d'une dépolarisation membranaire. Il faut noter que l'AMPc est inactivé par les phosphodiesterases. Les inhibiteurs de ces enzymes maintiennent élevée la concentration d'AMPc et peuvent déclencher des effets comparables à ceux de l'adrénaline.



I.2.2. Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS La Phospholipase C

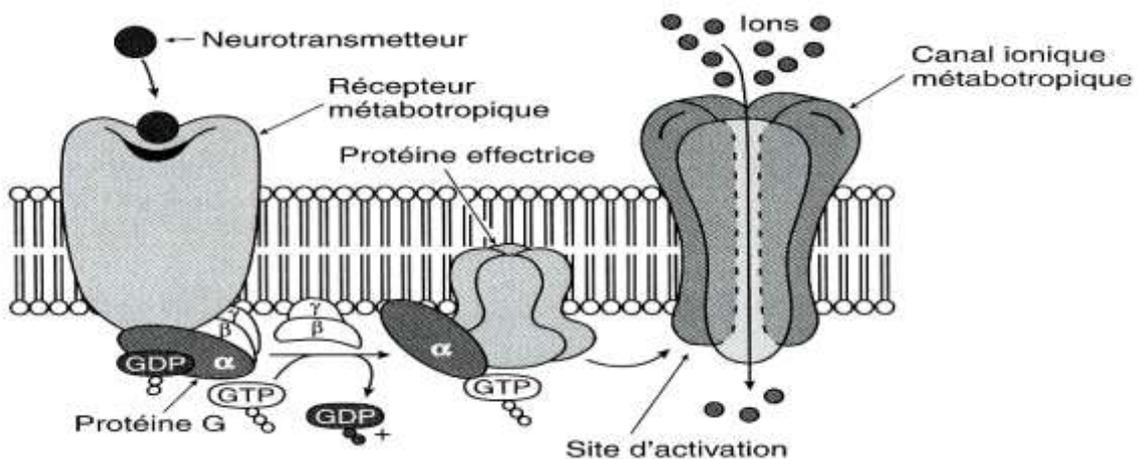
L'activation de la phospholipase C conduit à la coupure d'un phospholipide membranaire, le phosphatidyl inositol 4,5 biphosphate en **inositol triphosphate (IP3)** et en **diacylglycérol (DAG)**.

- ✓ L'**IP3** déclenche la libération d'ions Ca^{2+} à partir de stocks intracellulaires, ce qui déclenche par exemple la contraction des cellules musculaires lisses, la dégradation du glycogène ou une exocytose.
- ✓ Le **diacylglycérol** active la protéine kinase C, qui phosphorylé certaines enzymes contenant des résidus serine ou thréonine.



I.2.3. Les récepteurs couplés aux protéines G : EFFECTEURS Les canaux ioniques

La sous-unité α de certaines protéines G, est capable de déclencher l'ouverture d'une **protéine canal**. C'est de cette façon que seront par exemple activés des canaux potassiques (action de l'acétylcholine sur les ganglions, action des opioïdes sur la transmission de l'excitation nerveuse).



I.3. Récepteur-enzymes

Famille de protéines qui associent une fonction réceptrice (liaison du médiateur) et une fonction enzymatique effectrice. La fixation du médiateur sur le récepteur module l'activité enzymatique (activation ou inhibition).

Comme :

- ✓ les Récepteur à activité tyrosine kinase, ex : récepteur de l'insuline et les récepteurs aux facteurs de croissance (FC).
- ✓ Les Récepteur-enzymes à activité guanylyl cyclase produisant du GMPc.

I.3.1.les Récepteur à activité tyrosine kinase RTKs

Les RTKs sont des glycoprotéines membranaires composées d'un site de fixation du ligand appartenant au domaine extracellulaire relié au domaine cytoplasmique par une simple hélice transmembranaire. L'activité enzymatique est localisée dans le cytoplasme et permet le transfert du phosphate γ de l'ATP vers l'hydroxyle des tyrosines des protéines cibles et/ou du récepteur lui-même. C'est ce qu'on appelle l'**autophosphorylation**.

Les RTKs permettent la transmission d'un signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule et jouent ainsi un rôle important dans le contrôle de nombreux processus biologiques,

Il existe différentes voies d'activation des récepteurs à activité tyrosine kinase : l'élément déclencheur de l'activation est la fixation de ligand, qui conduit à la **dimérisation** non covalente des récepteurs (un changement de conformation du domaine extracellulaire, dans d'autres cas l'effecteur intracellulaire qui regroupe deux récepteurs. La dimérisation est nécessaire pour faire passer le signal vers l'intérieur).

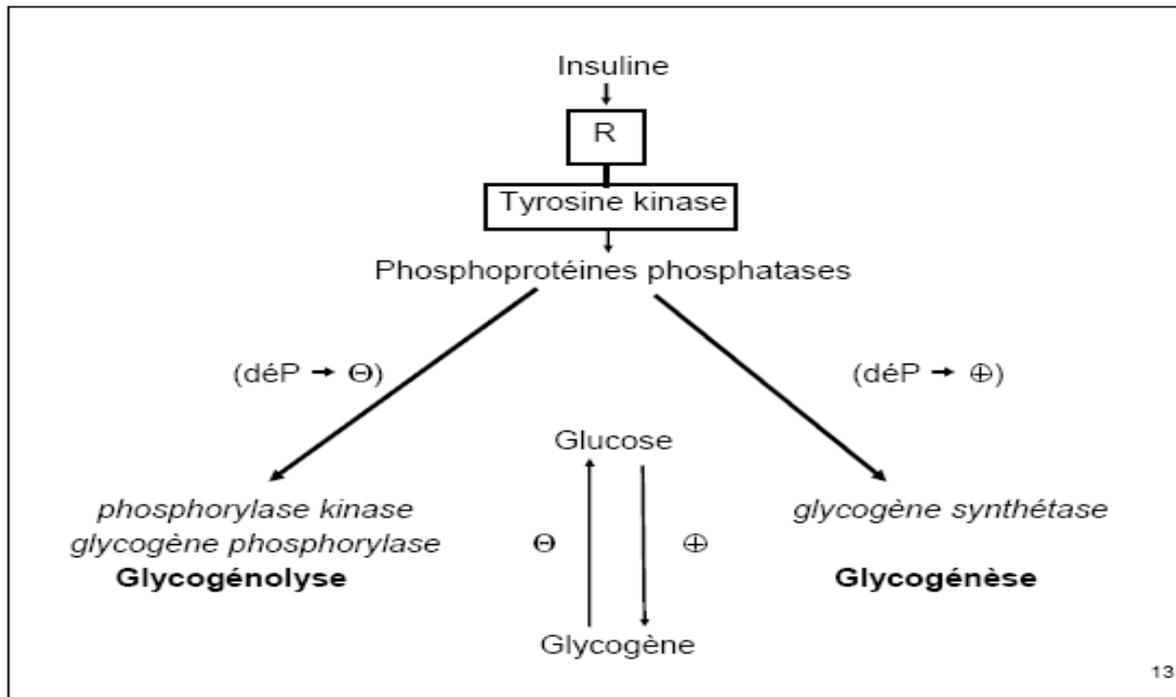
Ces récepteurs ont un rôle et intérêt dans le contrôle de la croissance, la différenciation des cellules, les cancers, les maladies immunologiques

❖ Exemple : le récepteur à l'insuline

Lorsque l'insuline se lie au site de fixation extracellulaire, une activité tyrosine kinase dans la partie intracellulaire du récepteur se déclenche. La déphosphorylation

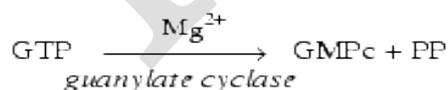
qui conduit à la stimulation de la glycogène synthétase (pour la glycogénèse = stockage du glucose), car sa forme active est la forme déphosphorylée).

Donc l'augmentation de l'insulinémie déclenche l'augmentation de la glycogénèse hépatique : le glucose stocké disparaît du sang, la glycémie baisse voir le schéma ci-dessous



I.3.2. Les Récepteur-enzymes à activité guanylyl cyclase

L'activation de ce récepteur-enzyme provoque la formation, à partir de la guanosine triphosphate (GTP), de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) qui active des protéines kinases.



On peut distinguer deux sortes de guanylate cyclase, l'une membranaire qui est activée par des messagers comme le facteur natriurétique auriculaire ou FNA, l'autre soluble, présente dans le cytoplasme et qui est activée par le monoxyde d'azote qui diffuse à travers les membranes.

Le GMPc a de nombreux effets encore mal précisés et différents selon les cellules : il agit directement en activant les phosphodiesterases et certains canaux de la membrane plasmique et surtout indirectement par l'intermédiaire de la protéine kinase PKG qui par phosphorylation de plusieurs protéines entraîne divers effets : inactivation de la phospholipase C, ouverture de canaux potassiques.

I.4. Récepteurs nucléaires ou intracellulaires

Ce sont des facteurs de transcription modulés par des transmetteurs. Ils contrôlent l'efficacité de transcription de certains gènes, leurs effets sont lents à apparaître, et sont durables.

La caractéristique principale de ces récepteurs est la 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.

Ce sont des récepteurs localisés dans le noyau cellulaire ou migrent du cytosol vers le noyau de la cellule.

I.4.1 Récepteurs cytosoliques

Il existe dans le cytosol des récepteurs qui régulent la synthèse des protéines, ces récepteurs migrent vers le noyau cellulaire après la fixation du ligand).

Modèles-types : récepteurs des glucocorticoïdes ou les anti-inflammatoires stéroïdiens (ex : cortisone).

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

Les glucocorticoïdes induisent la synthèse de Lipocortine qui inhibe la phospholipase A₂ membranaire. Cette inhibition empêche la libération de l'acide arachidonique,

précurseur des prostaglandines, qui sont des molécules de l'inflammation, ce qui explique leurs propriétés anti-inflammatoires (voir la figure).

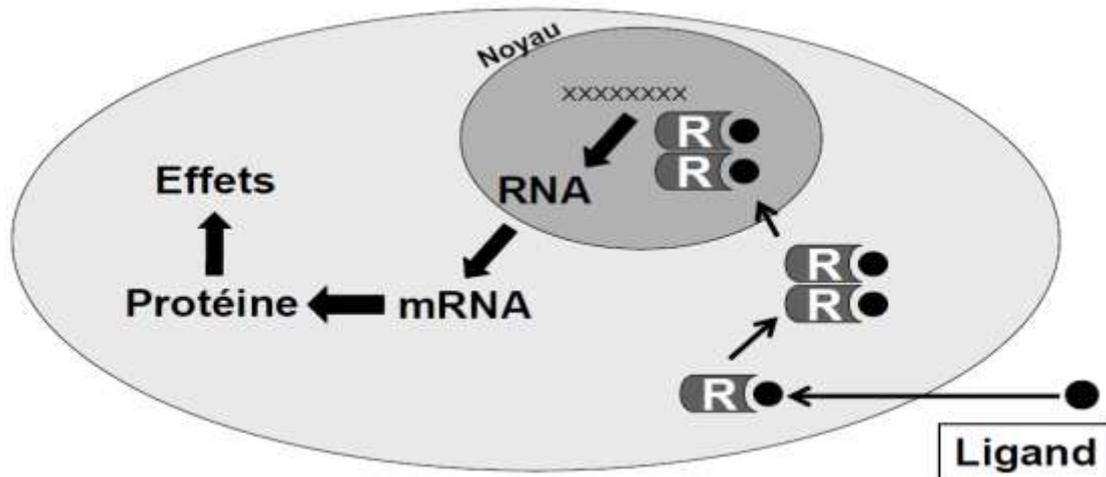


Figure : Mécanisme d'action des stéroïdes

I.4.2. Récepteurs nucléaires

Dans ce type, le récepteur est présent dans le noyau.

❖ **Exemple : Récepteurs des hormones thyroïdiennes (lévothyroxine).**

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).

La fixation de l'hormone dévoile un domaine masqué en temps normal, permettant la liaison du complexe sur une séquence nucléotidique donnée de l'ADN et régulant ainsi la transcription du gène en aval (en général la transcription est initiée ou augmentée et plus rarement bloquée).

Tableau récapitulatif des différents récepteurs

<u>Type</u>	<u>Ionotropique</u>	<u>Métabotropique</u>	<u>Tyrosine kinase</u>	<u>Nucléaire</u>
Localisation	<i>Membrane</i>	<i>Membrane</i>	<i>Membrane</i>	<i>Intracellulaire</i>
Effecteur	<i>Canal ionique</i>	<i>Canal ionique ou enzyme</i>	<i>Tyrosine kinase</i>	<i>Transcription des gènes</i>
Couplage	<i>Direct</i>	<i>Protéine G</i>	<i>Direct</i>	<i>Liaison à l'ADN</i>
Exemple	<i>Nicotinique, GABA_A</i>	<i>Muscarinique, adrénergique</i>	<i>Insuline, cytokines, facteurs de croissance</i>	<i>Stéroïdes, hormone thyroïdienne</i>
Structure	<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>

La fixation d'un agoniste sur un récepteur induit un effet spécifique de cette fixation. L'étude de cette action comporte deux aspects : **la fixation sur le récepteur** d'une part et **l'induction de l'effet** d'autre part.

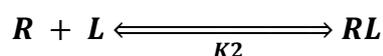
L'interaction d'un ligand (médicament) avec son récepteur peut donc s'analyser d'une part en terme de caractéristiques de fixation sur le récepteur (relation ligand - récepteur) et d'autre part en terme de relation dose-effet (ou concentration - effet).

II.1. Etude des relations ligand - récepteur (Méthodes de liaison : Binding)

L'objectif principal en pratique de ces études de relations ligand-récepteur est la détermination de la capacité de fixation, appelée affinité, du ligand pour son récepteur. Elle est caractérisée par la concentration du ligand occupant 50 % des récepteurs (constante de dissociation : Kd) sur une préparation de membranes. La détermination du Kd va permettre de savoir avec quelle affinité un ligand va se fixer sur un type de récepteur. La comparaison des différentes affinités d'un ligand pour différents récepteurs va ainsi permettre de prédire le profil pharmacologique d'un nouveau ligand et de choisir en fonction de l'objectif fixé le ligand dont le profil d'affinité correspond à l'objectif fixé. C'est la base de la sélection des substances nouvellement synthétisées et du screening pharmacologique.

La constante de dissociation Kd peut être déterminée par deux types de méthodes d'étude de la liaison (binding) du ligand à son récepteur : les méthodes dites de **saturation** et les méthodes dites de déplacement.

Elles sont toutes les deux basées sur le fait que la fixation du ligand à son récepteur suit la loi d'action de masse :



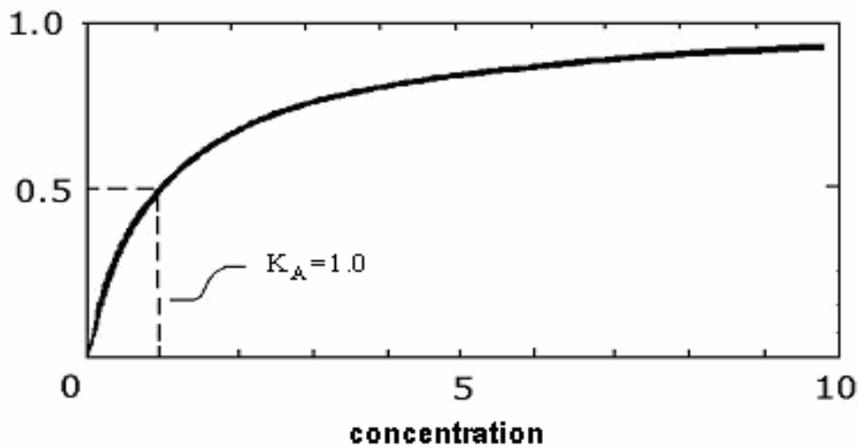
L = ligand, R = récepteur libre, RL = complexe ligand- récepteur

$K1$ = constance de vitesse d'association, $K2$ = constance de vitesse de dissociation

A l'équilibre : selon la loi d'action de masse, les vitesses d'association et de dissociation sont égales :

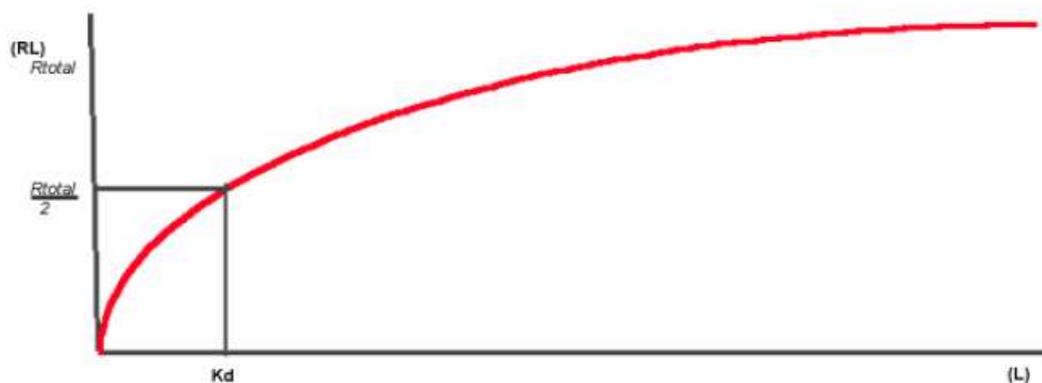
$$K_1 (L) (R) = (RL) K_2. \quad (L)(R)/(RL) = K_2/K_1 = K_d = \text{constance de dissociation.}$$

K_D caractérise la liaison du ligand avec son récepteur, c'est la concentration du ligand donnant une occupation de la moitié des récepteurs :



II.1.1. Méthode de saturation

A partir d'un homogénat tissulaire ou d'une préparation cellulaire ou membranaire contenant le récepteur à étudier et une concentration connue d'un ligand radiomarqué (3 H, 14 C, 125 I), il est possible de déterminer le K_d .



K_d : concentration d'agoniste nécessaire pour occuper 50% des récepteurs = constante caractérisant l'**affinité** du médicament pour son récepteur, plus K_d est faible, plus l'affinité est élevée

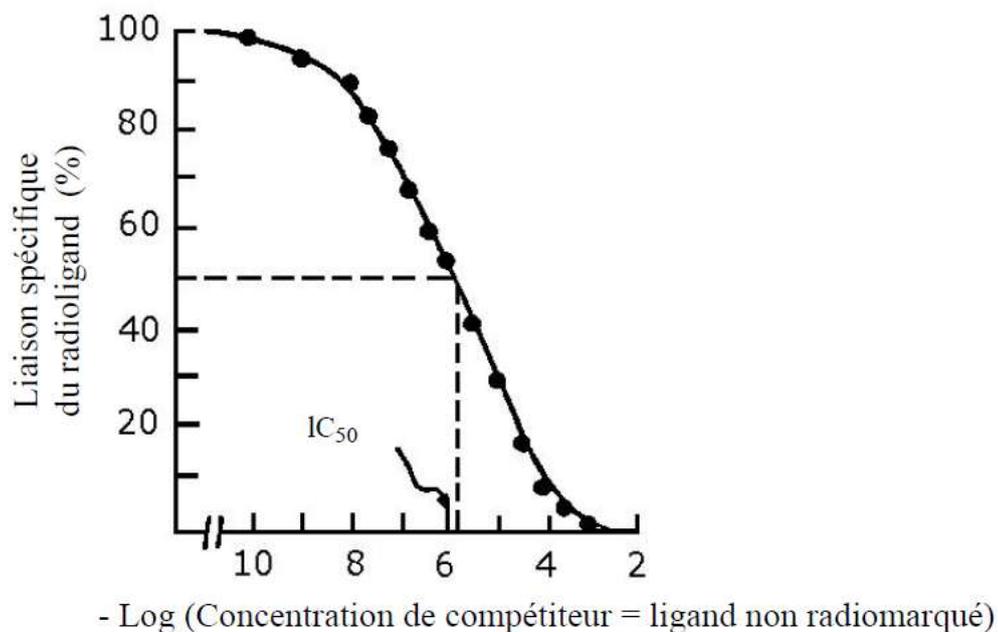
II.1.2. Méthode de déplacement

Les expériences de déplacement (ou de compétition) permettent de déterminer l'affinité d'un ligand non radioactif. Ceci permet d'étudier de nombreuses molécules non radiomarquées et de les comparer entre elles dans des conditions expérimentales strictement identiques. Les expériences de compétition sont réalisées en présence d'une concentration fixe de ligand radioactif et de concentrations croissantes du ligand non radioactif à étudier. Ce type d'expérience permet de déterminer l' IC_{50} et la constante d'inhibition K_i .

IC_{50} = concentration de ligand non radioactif nécessaire pour déplacer 50% de la fixation totale du ligand radioactif. Plus l' IC_{50} est faible plus l'affinité du ligand non radioactif est élevée.

Plus K_i est faible plus l'affinité du ligand non radioactif pour le récepteur est élevée.

Pour toute comparaison de molécules, il est préférable d'utiliser K_i qui permet de s'abstraire des conditions expérimentales. $K_i = IC_{50} / (\frac{L^*}{K_d})$



❖ **Intérêt des méthodes de liaison et de détermination du K_d (ou K_i) :**

Un ligand (agoniste ou antagoniste) aura le même K_d (ou K_i) pour un type de récepteur quelle que soit sa localisation.

On pourra comparer les affinités de ligands différents pour un même récepteur et réciproquement, on pourra comparer les affinités de récepteurs différents pour un même ligand. Ceci a permis la classification des ligands et des récepteurs.

Un même ordre d'affinité (CI_{50} , K_d ou K_i) observé avec des agonistes différents est retrouvé pour un même type de récepteur sur des organes ou tissus différents.

Intérêt pour le développement des médicaments → détection de nouveaux ligands (récepteurs connus ou nouveaux récepteurs) → sélectivité d'action

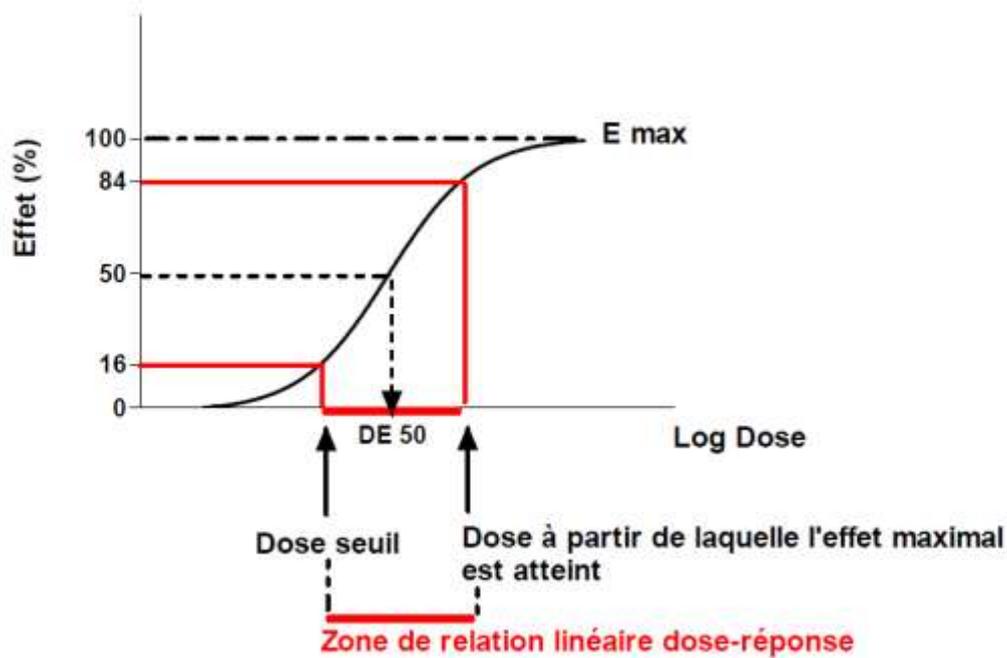
Etude de la fixation d'un nouveau ligand → prédiction du profil pharmacologique → sélection des substances en fonction d'un objectif donné.

II.2. Etude de la relation dose (ou concentration) - effet

La courbe dose-réponse (ou dose-action, dose-effet) est une donnée de base en pharmacologie : l'effet pharmacologique est mesuré pour des doses croissantes de la substance à étudier.

La recherche de la relation dose-réponse d'une molécule est indispensable pour obtenir une information quantitative sur l'importance de l'effet pharmacologique et pour comparer entre elles différentes molécules.

L'effet pharmacologique est mesuré pour des doses croissantes de la substance à étudier, cet effet pharmacologique peut être mesuré sur des modèles in vivo (chez l'Homme ou chez l'animal) ou bien sur des organes isolés. L'effet mesuré peut être exprimé en valeur absolue ou en pourcentage de l'effet maximum.



La courbe dose-réponse permet de déterminer deux paramètres importants :

- la dose seuil : dose à partir de laquelle un effet apparaît.
- la dose à partir de laquelle l'effet maximal est atteint.

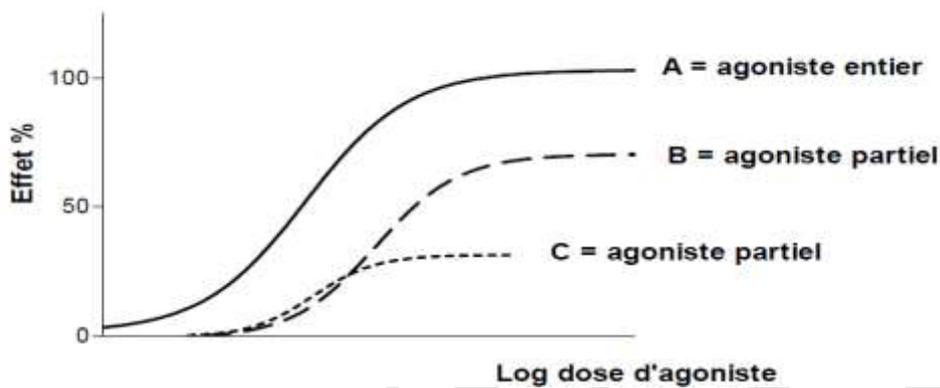
Ces deux doses-limite encadrent les doses efficaces :

A partir de la dose seuil et jusqu'à la dose donnant l'effet maximal, pour toute augmentation de dose, il y a une augmentation proportionnelle de l'effet pharmacologique. La relation est linéaire, la pente de la droite est une caractéristique de l'activité de la molécule : plus la pente est forte (raide), plus une faible augmentation de dose entraîne une forte augmentation de l'effet ce qui confère une plus ou moins bonne maniabilité du médicament.

Pour des doses supérieures à la dose qui provoque l'effet maximal : le plateau de l'effet est atteint : l'augmentation de la dose n'entraîne pas d'augmentation de l'effet pharmacologique. Au-delà de la dose qui donne l'effet maximal, toute augmentation de dose est inutile car l'effet pharmacologique ne sera pas augmenté, cette augmentation de dose expose à la survenue ou à l'aggravation d'effets indésirables

La réponse maximale obtenue pour un effet pharmacologique varie d'un agoniste à un autre, la réponse maximale tient compte d'un facteur α propre à chaque agoniste : **c'est l'activité intrinsèque** de l'agoniste.

Un agoniste entier ou pur ($\alpha=1$) peut produire l'effet maximal alors qu'un agoniste partiel ($0<\alpha<1$) ne peut pas produire l'effet maximal enregistré par les agonistes entiers de ce même récepteur.



La courbe dose-action (dose réponse) d'un agoniste permet de définir :

- L'efficacité : l'effet maximal = E_{max} : c'est la hauteur du plateau. L'effet maximal dépend de l'activité intrinsèque de l'agoniste.

- La DE_{50} (dose efficace 50) : dose d'agoniste qui permet d'obtenir 50% de son effet maximum.

C'est le paramètre qui permet de quantifier l'effet d'un agoniste. La DE_{50} caractérise la puissance de l'agoniste. Plus la DE_{50} d'un agoniste est faible, plus l'agoniste est puissant.

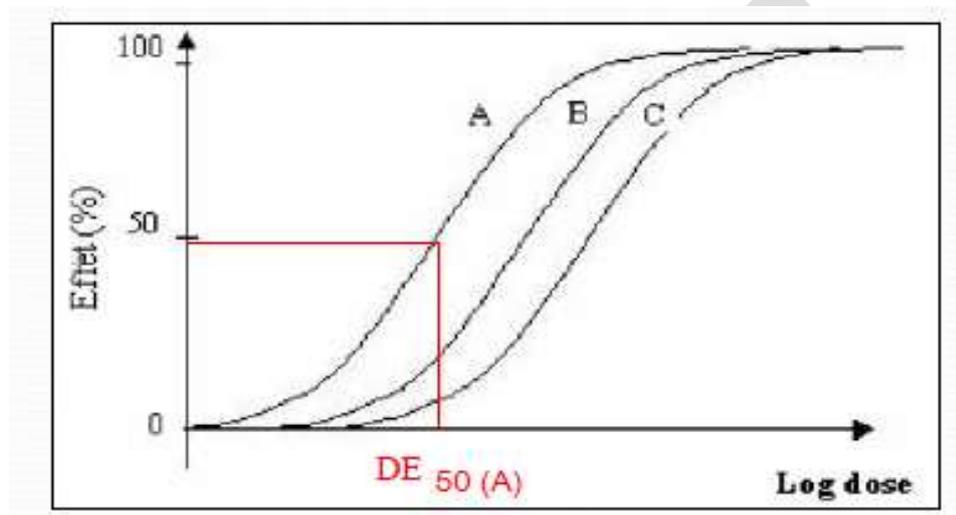
❖ Distinction des notions de puissance et d'efficacité

La comparaison des courbes dose-effet obtenues pour plusieurs agonistes d'un même récepteur permet de les classer en comparant leur puissance et leur efficacité.

Sur la figure ci-dessous, A est plus puissant que B et C. La notion de puissance s'appuie sur celle de l'affinité : plus l'affinité d'un agoniste pour un récepteur est grande plus sa puissance est Elevée.

A, B et C sont capables de produire l'effet maximal, ils ont la même efficacité et ce sont des agonistes entiers.

(Plus la concentration pour obtenir l'effet pharmacologique est faible, plus le ligand a d'affinité pour le récepteur. (Affinité $\uparrow \Rightarrow KD\downarrow$, Puissance $\uparrow \Rightarrow DE50\downarrow$)



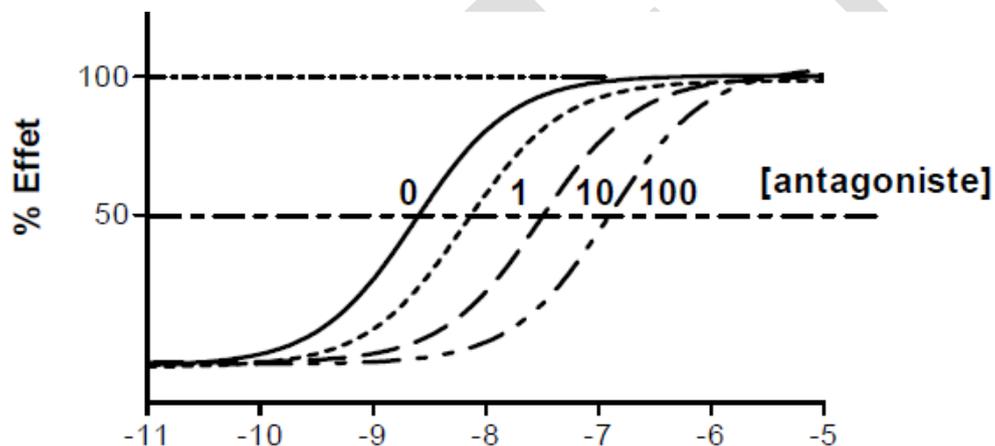
❖ Antagonistes compétitifs

Lorsque l'antagoniste se lie au niveau du récepteur sur le même site que l'agoniste, il y a compétition entre l'agoniste et l'antagoniste vis à vis du même site d'action. L'effet maximal est toujours obtenu mais avec une concentration d'agoniste plus élevée : l'antagonisme est dit surmontable ou réversible.

En augmentant la concentration de l'agoniste, on peut surmonter le blocage existant avec antagonisme compétitif.

Ce sont donc, l'affinité et les concentrations respectives des deux compétiteurs qui décident si l'un ou l'autre se lie et si l'effet sera ou non déclenché.

En d'autres termes, la courbe dose-effet d'un agoniste est déplacée vers des concentrations plus élevées (vers la droite) en présence d'un antagoniste.



Le paramètre qui permet de quantifier l'effet d'un antagoniste compétitif est le **pA2** dont la détermination repose sur l'étude de l'effet de plusieurs concentrations d'antagoniste sur une gamme de concentration d'agoniste.

La courbe dose-réponse de l'agoniste est déplacée vers la droite par l'antagoniste. Ce déplacement est en fonction de l'affinité de l'antagoniste pour le récepteur et de la concentration d'antagoniste.

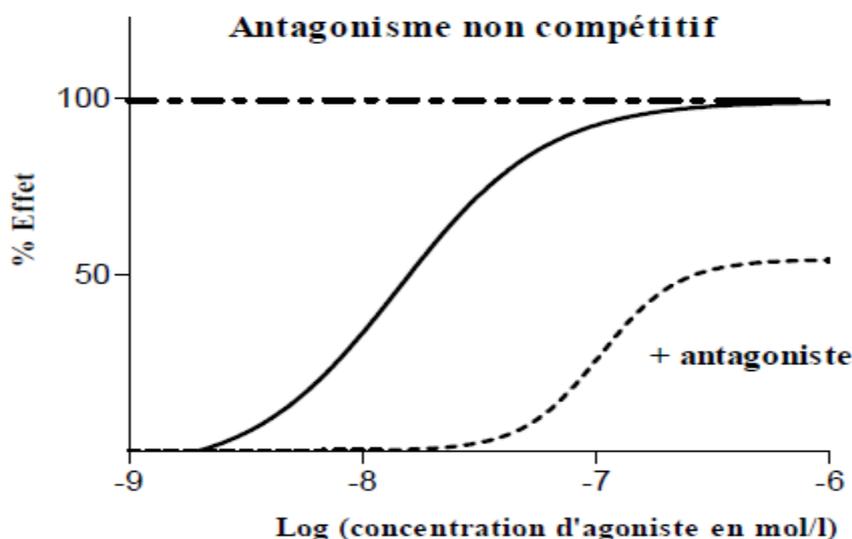
pA2 = *colog de la concentration molaire d'antagoniste pour laquelle il faut **doubler** la concentration d'agoniste pour avoir le même effet

*colog = - log = log changé de signe

Plus le pA2 est élevé plus l'affinité de l'antagoniste pour le récepteur est grande

❖ Antagonistes non compétitifs (l'antagoniste allostérique)

L'antagoniste se lie au niveau du récepteur sur un site distinct du site de liaison de l'agoniste (site allostérique) et entraîne des modifications conformationnelles du récepteur avec diminution de l'affinité du récepteur pour son agoniste ; l'association de l'antagoniste au récepteur est pratiquement irréversible. Dans ce cas on observe une diminution de l'efficacité de l'agoniste : l'antagonisme est insurmontable.



❖ Agoniste inverse (ou dit antagoniste négatif)

Un agoniste inverse se lie au récepteur : il s'oppose aux effets de l'agoniste et en plus provoque une réponse cellulaire propre du récepteur. (Dans la nomenclature classique, on doit attribuer aux agonistes inverses une activité intrinsèque négative).

Ce concept est un concept récent vérifié pour certains ligands des récepteurs GABA-A et pour certains récepteurs couplés aux protéines G. L'agoniste inverse stabilise le récepteur dans une conformation différente de sa conformation constitutive.

L'agoniste inverse ou antagoniste négatif s'oppose aux effets de l'agoniste et induit une réponse propre du récepteur alors que l'antagoniste s'oppose aux effets de l'agoniste sans provoquer d'effet propre.

Par exemple, les β -carbolines sont des agonistes inverses du site de liaison des benzodiazépines (BZD) des récepteurs GABA-A : elles se lient au site de liaison des benzodiazépines et diminuent l'ouverture du canal chlore induite par le GABA. Les β -carbolines sont anxiogènes, convulsivantes, augmentent le tonus musculaire.

KLIBET