

UE3 Pharmacologie

Professeur S. Mourah

Le Jeudi 23 Février 2017

Ronéotypeur : Melany Thimon

Ronéoficheur : Mirella Merlette

## Cours 2 :

# Les cibles des médicaments

*La prof ne va pas relire la ronéo par manque de temps. Le cours n'a pas changé par rapport à l'année dernière et les diapos seront normalement mises en ligne. La prof n'a pas d'idée de questions tombables puisqu'on ne lui a pas demandé d'en préparer. Ce cours a donc peu de chance de tomber aux partiels.*

# SOMMAIRE

## I. Généralités

### A. Médicaments

- a. Définition
- b. Répartition

### B. Types de ligands

- a. Les agonistes
- b. Les antagonistes

## II. Récepteurs cibles des médicaments

### A. Récepteurs canaux ioniques

### B. Récepteurs couplés à une protéine G

### C. Récepteurs enzymatiques

### D. Récepteurs nucléaires

## III. Enzymes : Cibles des médicaments

## IV. Contrôle artificiel de l'expression des gènes

### A. ARN antisens

### B. ARN interférence

## V. Conclusion

# I. Généralités

## A. Médicaments

### a) Définition

Un médicament est **une substance synthétique ou naturelle, administrée** dans le but de corriger, modifier ou restaurer une fonction affectée de l'organisme.

C'est une **molécule**, parfois un élément (ions...) qui **interagit avec une cible moléculaire**, c'est-à-dire avec un récepteur biologique. Ces interactions supposent une **reconnaissance** mutuelle des deux partenaires.

La liaison **du médicament modifie les propriétés de la cible**, ce qui conduit à une réponse de la cellule. Ceci est à l'origine des **effets bénéfiques et indésirables** d'un médicament.

Actuellement tous les développements thérapeutiques sont basés sur la parfaite connaissance du génome. En effet on retrouve plus de 25 000 gènes identifiés à ce jour. On note également une grande diversité au sein de la traduction de notre génome. Tout cela se traduit finalement par 200 à 400 000 protéines qui sont synthétisées. Ces **protéines** sont le plus souvent les **cibles de nos médicaments**.

### b) Protéines : cibles de nombreux médicaments

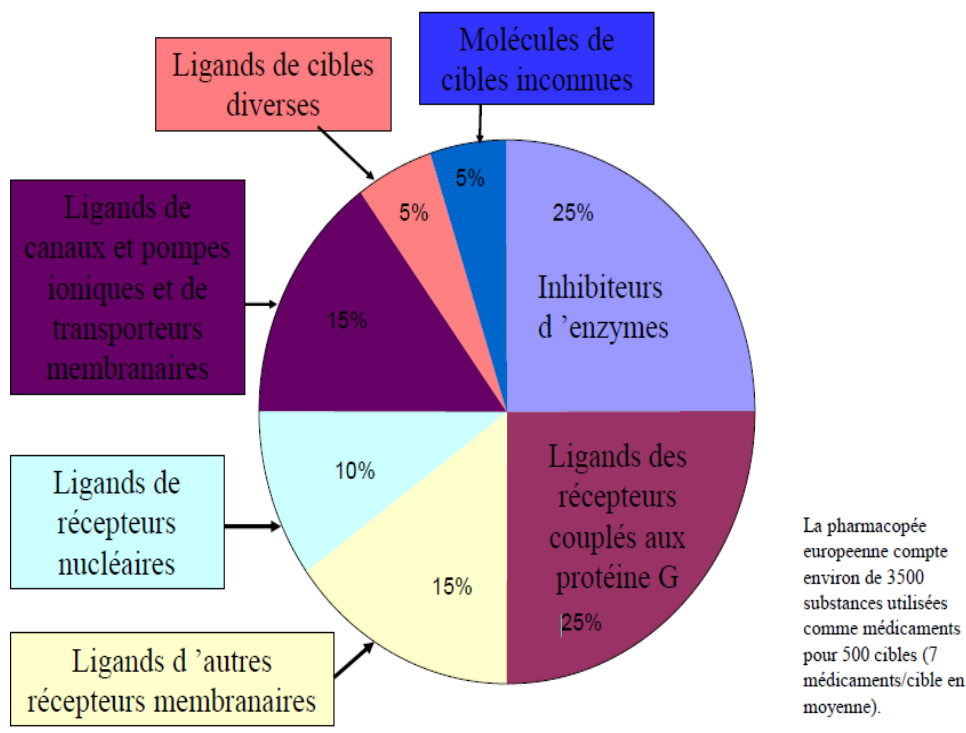
Les médicaments d'une façon générale vont agir sur **4 types de protéines régulatrices** des processus cellulaires. On retrouve notamment :

- Les **enzymes** (ex. l'Aspirine inhibe une enzyme, la cyclooxygénase).
- Les **protéines de transport** (ex. le Prozac inhibe le transporteur de la sérotonine).
- Les **protéines des canaux ioniques** (ex. les anesthésiques locaux inhibent les canaux Na).
- Les **protéines récepteurs** (ex. le Zirtec, un antiallergique, bloque le récepteur membranaire H1 de l'histamine)

### c) Répartition des médicaments en fonction de leurs cibles moléculaires

Selon la répartition des cibles des médicaments, les **ligands des récepteurs couplés aux protéines G** représentent **25%** des cibles moléculaires. Une grande part des médicaments sont donc développés contre ces protéines. **L'autre quart** est attribué aux **cibles enzymatiques**. On retrouve par la suite des déclinaisons moins importantes en nombre mais essentielles en terme de ciblage. En effet, 15% du ciblage porte sur des ligands des récepteurs membranaires, 10% sur ceux des récepteurs nucléaires, 15% concernent les ligands de canaux et pompes ioniques.

Répartition des médicaments en fonction de leurs cibles moléculaires



On a également des ligands de cibles diverses qui viseront par exemple les microtubules comme les anticancéreux. A cela s'ajoute des molécules possédant des cibles inconnues. Le paracétamol illustre très bien cette catégorie. Ainsi ce médicament antipyrétique est une molécule qui se métabolise au niveau du foie. Son métabolite va diffuser et se lier à l'acide arachidonique à la surface des neurones. L'effet antalgique du paracétamol est donc expliqué dans ce mécanisme récemment découvert.

## B. Les types de ligands

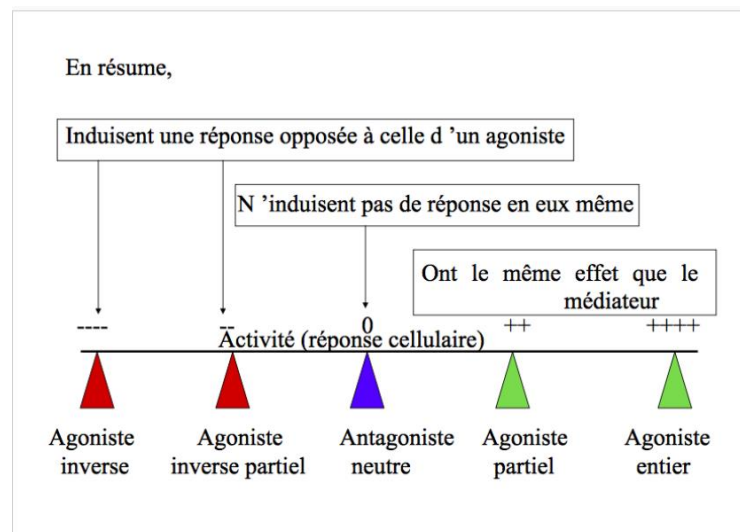
Il y a deux grands types de ligands notamment les agonistes et les antagonistes.

### a) Les agonistes

Un **agoniste** est une molécule capable d'engendrer par sa liaison à un récepteur spécifique, **une réponse biologique comparable à celle du médiateur naturel**. Parmi les agonistes on a différentes catégories :

- Les **agonistes endogènes**, produits à l'intérieur de l'organisme, induisent une réponse biologique en se fixant au récepteur. Ce sont des médiateurs, neuromédiateurs, hormones, hormones locales.
- Les **agonistes de synthèse** possèdent le même effet qualitatif que les médiateurs normaux. Quantitativement, l'effet généré par la liaison au récepteur peut être :

- **semblable à celui du médiateur** : on parle alors d'**agoniste entier**. Il est utilisé comme médicament pour pallier un déficit de médiateur.
- **inférieur à celui du médiateur** : on parle alors d'**agoniste partiel**. Utilisé également comme médicament, il ne prend pas parfaitement la place du médiateur donc stimule le récepteur plus faiblement.
- **Les agonistes inverses ou antagonistes négatifs** entraînent une réponse opposée à celle d'un agoniste. Ils se lient au récepteur sur le même site de liaison qu'un médiateur mais induit une réponse complètement inverse.



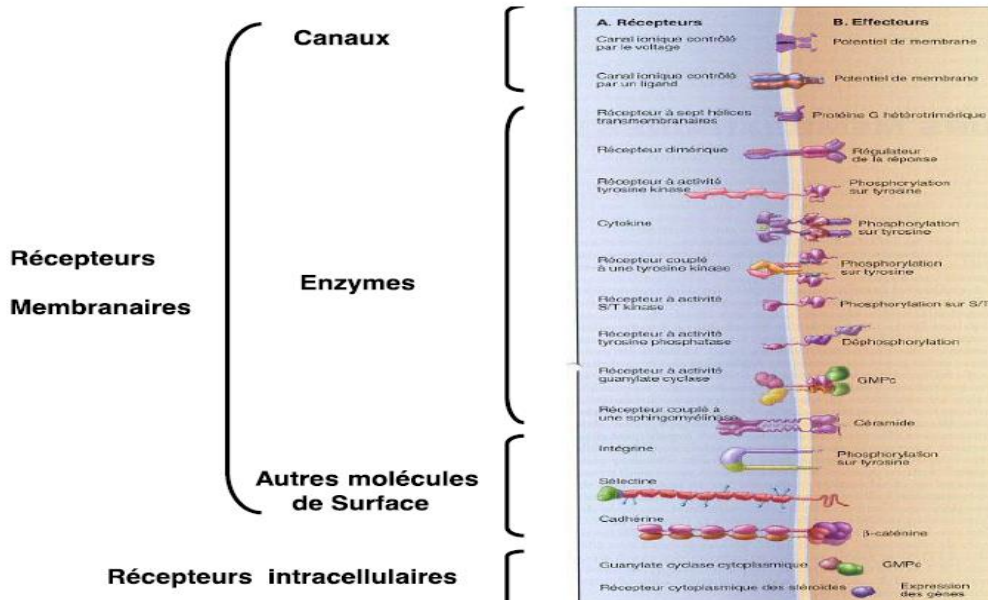
## b) Les antagonistes

Un **antagoniste** est une molécule qui **en se fixant sur le récepteur ne déclenche pas de réponse biologique mais s'oppose à l'effet du médiateur endogène**. Les antagonistes se scindent en deux catégories

- **L'antagoniste compétitif** : C'est une molécule qui **entre en compétition avec le ligand naturel** en prenant sa place. Si le médicament se lie au même site que le médiateur on parle de **site orthostérique**
- **L'antagoniste non compétitif** : C'est une molécule qui **se fixe sur un site différent de celui du ligand naturel** entraînant une diminution de l'affinité du récepteur pour son médiateur. Si le médicament se lie à un autre site que le médiateur on parle de **site allostérique**.

## II. Les récepteurs cibles des médicaments

Les récepteurs cibles des médicaments se divisent en distinctes catégories (connaître l'ensemble des récepteurs décrits sur cette diapo)



### A. Les récepteurs canaux ioniques

#### a) Description

Les récepteurs canaux ioniques sont **des récepteurs de membrane associés à un canal ionique** (cationique ou anionique). C'est une famille avec peu de membres mais possédant un rôle physiologique majeur. Ils sont activés par la liaison d'un médiateur. **Quel que soit le ligand la réponse est de quelques millisecondes +++**. Leur particularité est donc leur **durée d'action très brève**.

#### b) Fonctionnement

On retrouve le schéma général suivant : **liaison** → **ouverture du canal** → **influx de Na, ou K ou Ca** → **événements secondaires**

Le récepteur à l'acétylcholine est utilisé pour illustrer le mécanisme des récepteurs canaux ioniques.

A l'état basal le récepteur, formé de plusieurs sous unités est fermé. L'acétylcholine produite par la cellule vient se **fixer sur son site de liaison** ce qui entraîne une **ouverture du canal** et permet **l'entrée du calcium et du sodium**. L'**activation** du récepteur génère une excitation qui **persiste** même après que l'acétylcholine se soit désolidarisée de son site de liaison.

(mentionné à l'oral) Le neurotransmetteur sera recyclé par la suite. Les barbituriques et antidépresseurs fonctionnent avec ce type de récepteur à canal ionique.

Il existe des ligands de ces récepteurs agonistes ou antagonistes se liant au même site que le médiateur ou sur des sites distincts (allostériques) pour augmenter ou bloquer l'ouverture du canal ionique.

Parmi les récepteurs canaux ioniques on distingue :

- Les récepteurs-canaux à perméabilité cationique
- Les récepteurs-canaux à perméabilité anionique (non détaillé en cours)

### c) Les récepteurs canaux à perméabilité cationique

Ils sont perméables aux cations monovalents et divalents ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ ). Les principaux récepteurs-canaux excitateurs sont:

Les **récepteurs nicotiques** de l'acétylcholine. Ils sont présents au niveau des muscles squelettiques, dans les ganglions des voies sympathiques et parasymphatiques et dans le SNC. Ils utilisent le même schéma de fonctionnement évoqué précédemment. On a la libération de l'acétylcholine contenue dans les vésicules de sécrétions arrivées à maturation, fixation du ligand sur le récepteur, ouverture du canal ionique, entrée du sodium et du calcium, et mise en place du potentiel électrique ici excitateur.

Le **récepteur 5HT3 de la sérotonine** qui possède une localisation neuronale fonctionne de la même manière.

## B. Les récepteurs couplés aux protéines G

### a) Description

Ce sont des **récepteurs membranaires**. 25% des cibles des médicaments actuels sont des protéines G. Ce sont des protéines monomériques à 7 hélices transmembranaires constituant **la plus grande classe** de récepteurs des médiateurs. Leur activation induit de nombreux signaux de transduction. Des hormones peptidiques et plusieurs neurotransmetteurs utilisent cette signalisation.

Ils sont activés sélectivement par des **médiateurs classiques** (adrénaline, dopamine), des **médiateurs peptidiques ou lipidiques**, des protéases et du **calcium extracellulaire**.

L'agoniste se fixe sur le récepteur qui active la protéine G et entraîne l'activation soit d'un canal ionique soit d'une enzyme.

### b) Fonctionnement

En général on retrouve ce schéma : **Liaison médiateur-RCPG => activation d'une protéine G => activation d'un canal ionique ou d'une enzyme => messagers intracellulaires => réponse de la cellule**

Pour décrire ce fonctionnement on utilise la dopamine. Sa fixation sur son récepteur entraîne une modification conformationnelle du récepteur avec une activation de la protéine G. Celle-ci va transformer le GDP en GTP et venir activer l'adénylate cyclase. Cette dernière permet une modification de la voie de l'AMP cyclique activant par la suite la PKA. Il s'ensuit une cascade d'évènement amenant à la phosphorylation des effecteurs secondaires jusqu'à l'effet escompté.

### c) Les récepteurs opioïdes

Les opioïdes et leurs récepteurs sont des cas particuliers s'appuyant sur le même fonctionnement que les médiateurs classiques des récepteurs à protéines G. Au niveau des ligands on retrouve :

**La morphine**: agoniste des récepteurs opioïdes (localisés dans le système nerveux central). Elle mime l'effet des médiateurs opioïdes endogènes et possède un **effet antalgique puissant**.

**Le salbutamol** (Ventoline ®) agoniste sélectif des récepteurs bêta-2 adrénergique (localisés au niveau bronches, vaisseaux et utérus). Il est utilisé pour dilater les bronches en cas de crise d'asthme.

Quant aux récepteurs opioïdes ce sont des récepteurs à 7 segments hydrophobes et couplés à des protéines G. Ils détiennent plusieurs caractéristiques notamment :

- **Inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase**
- Modulation de la conductance de certains canaux ioniques (Ca<sup>++</sup> et K<sup>+</sup>)
- Régulation de la libération de divers neuromédiateurs D
- Hyperpolarisation membranaire
- **Inhibition** des fonctions cellulaires et notamment de **la transmission des messages nociceptifs**

## C. Les récepteurs enzymatiques

### a) Description

Les récepteurs à enzymes contiennent une activité enzymatique intrinsèque dans leur domaine intracellulaire ou sont couplés à une enzyme. Ce sont souvent des récepteurs à kinase. L'activité enzymatique correspond à la phosphorylation sur un hydroxyle d'un acide aminé tyrosine (tyrosine kinase), lysine ou thréonine (sérine/thréonine kinase). On distingue donc

- récepteurs à activité **tyrosine kinase**



- récepteurs **couplés à des tyrosines kinases cytosoliques**
- récepteurs à activité **sérine/thréonine kinase**
- récepteurs **couplés à des sérine/thréonine kinases cytosoliques**

Les récepteurs sont activés par des médiateurs protéiques à rôle de facteurs de croissance. La liaison médiateur-récepteur entraîne une

- phosphorylation de protéines intracellulaires
- activation de la transcription
- synthèse d'ARN messenger
- synthèse de protéines
- croissance cellulaire

### **b) Fonctionnement**

En général on retrouve ce type de mécanisme : **Liaison du ligand au RTK → activation de l'activité TK → autophosphorylation → liaison à une protéine à activité GTP ase ou à la PI3K ou à la PLC → activation de la PKC, et/ou de ras → cascade de phosphorylation via MapK → activation de la transcription**

Pour illustrer ce schéma de fonctionnement on étudie les récepteurs à activité tyrosine kinase dont les médiateurs sont l'**insuline**, le **VEGF** et l'**EGF**.

Le **VEGF** a fait l'objet de développement thérapeutique particulièrement en oncologie avec les anticorps anti VEGF comme le bevacizumab. L'**EGF** quant à lui joue un rôle très important dans les propriétés malignes des cellules tumorales. Les évolutions thérapeutiques au travers des anticorps monoclonaux ont permis de bloquer l'EGF, en particulier le cetuximab utilisé dans le cancer colorectal.

Leurs récepteurs sont formés de monomère composés d'une chaîne alpha et d'une chaîne beta. La fixation du ligand sur le récepteur entraîne sa **dimérisation**. Cette dernière permet l'activation de la toute première tyrosine par **autophosphorylation**. Il s'ensuit une cascade d'évènements activant différentes voies de signalisation.

### **c) Les anticorps monoclonaux ciblant des tyrosines kinases**

Des stratégies thérapeutiques notamment en oncologie ont été développées pour empêcher l'activation du récepteur. On peut utiliser des anticorps qui vont bloquer soit le ligand soit le récepteur ou condamner la poche de tyrosine kinase avec des petits inhibiteurs appelés « ib ». Ils vont interrompre la phosphorylation de la toute première kinase.

On a donc pu développer de nouveaux traitements utilisant

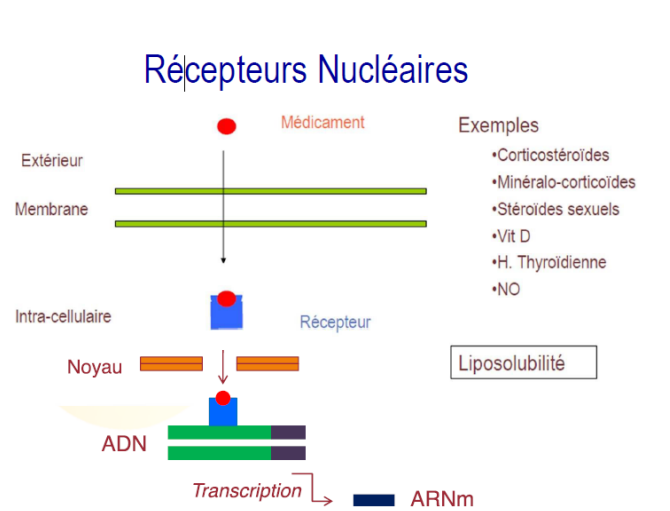
- Des **anticorps anti HER2** dans les **cancers du sein** (efficacité dépendant de la surexpression de HER2)

- Des **anticorps anti EGFR** dans les **cancers coliques** (efficacité dépendant de la conservation de la signalisation – absence de mutation de ras)
- Des **anticorps anti VEGFR** dans les **cancers du rein**

## D. Les récepteurs nucléaires

### a) Description

Ce sont des protéines localisées dans le noyau de la cellule ou des protéines du cytosol qui migrent dans le noyau. Ces **récepteurs** sont des **facteurs de transcription**. Ils se lient au promoteur du gène avec quelques co-facteurs pour augmenter ou diminuer la synthèse d'ARN et donc la synthèse de protéines. Ils régulent ainsi la transcription génique. Ces **ligands** doivent être **lipophiles** pour pouvoir traverser la membrane plasmique et la membrane nucléaire afin de se lier aux récepteurs.



Les récepteurs nucléaires constituent une superfamille dans laquelle on retrouve 4 grandes classes de récepteurs.

- Les **récepteurs des stéroïdes** formés de dimères de glucocorticoïdes, de progestérone, d'œstrogènes
- Les **RXR**, rétinoïdes récepteurs qui sont des hétérodimères puisqu'ils vont associer un RXR avec un RAR (acide rétinoïque), un VDR (récepteur à la vitamine D) ou avec un thyroid hormone receptor.
- Les **dimeric orphan receptor** qui associent deux RXR
- Les **monomeric orphan receptor** qui fonctionnent de façon juste monomérique

### b) Fonctionnement

Le ligand lipophile traverse la membrane cellulaire va se fixer au récepteur dans le cytoplasme et formé un complexe. Celui-ci va être transloqué dans le noyau pour atteindre le promoteur du gène. Il s'ensuit une transcription puis traduction des messagers.

En général on retrouve ce schéma : **Liaison médiateur-récepteur → régulation de la transcription → augmentation ou diminution de la synthèse d'ARNm → augmentation ou diminution de la synthèse des protéines → effets divers.**

Pour illustrer ce mode de fonctionnement on s'appuie sur le récepteur aux œstrogènes

Il est activé par une liaison de l'œstradiol, l'œstriol et l'œstrone. Les médiateurs vont ainsi déclencher toute une **activation de gènes** et induire un **changement des propriétés intrinsèques** des cellules concernées. Ainsi on observe des effets métaboliques s'opposant à l'ostéoporose et effets sexuels. L'œstradiol est utilisé au cours de la ménopause tandis que l'ethinyloestradiol associé à un progestatif est présent dans l'ensemble des pilules contraceptives. Quand on veut bloquer la transcription et donc la prolifération des cellules on antagonise cet effet des œstrogènes en l'occurrence par le tamoxifen.

On retrouve d'autres récepteurs nucléaires comme

- Les récepteurs des hormones thyroïdiennes
- Le récepteur de la vitamine D
- Les récepteurs de la vitamine A et des rétinoïdes
- Les récepteurs PPAR:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$

### **III. Les enzymes : cibles de médicaments**

Quelques enzymes recombinantes ou purifiées sont utilisées en tant que médicaments. Au moins 25 % des médicaments actuels sont des inhibiteurs ou plus rarement des activateurs enzymatiques. On dénombre plusieurs inhibiteurs enzymatiques utilisant différents procédés.

- Inhibition de l'HMG CoA reductase par les **hypocholestérolémians**. Donc la cible directe des médicaments est ici une enzyme. ++
- Blocage de la cyclo-oxygenase catabolisant l'acide arachidonique par **les anti-inflammatoires**
- Blocage du cycle d'oxydo-réduction de la vitamine K par **les anticoagulants**
- Inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine par **les anti-hypertenseurs** ++
- Anti-mitotiques par les **chimiothérapies**
- Inhibiteurs du recaptage de la sérotonine par les **antidépresseurs**

Les enzymes peuvent être aussi non humaines, ce sont les enzymes des microorganismes. On répertorie les **enzymes virales**, les **enzymes bactériennes** et les **enzymes fongiques ou parasitaires**.

## IV. Contrôle artificiel de l'expression des gènes

On note une autre catégorie de cibles de médicaments notamment nos acides nucléiques. En effet nos ARN peuvent faire l'objet de ciblage thérapeutique.

Stratégies	Cibles	Mécanismes d'action
ARN antisens	ARN messenger	Blocage de la traduction
Oligonucléotides	ARN viral	Dégradation des ARNm
Ribozymes		Dégradation des ARNm
siRNA		Dégradation des ARNm
miRNA		Blocage de la traduction

Le mécanisme d'action majeur qui est impliqué est la **dégradation de ces ARN messagers**. On va essayer de les cibler de façon spécifique, de les casser, ce qui va entraîner un défaut de traduction. Il s'agit dans cette stratégie de ciblage de mettre une entité qui bloquera la traduction. Pour répondre à cet objectif on peut utiliser les **ARN anti-sens** et les **ARN interférence**.

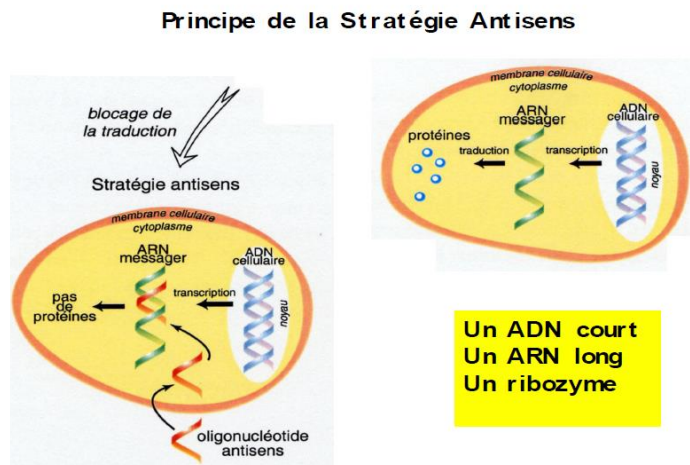
### A. Les ARN anti-sens

#### a) Principe

Ce sont de petites séquences d'ARN synthétiques que l'on va mettre dans la cellule pour tenter de **bloquer la traduction**.

Un ARN antisens est un brin d'ARN qui se fixe de façon complémentaire sur le brin d'ARNm. Il bloque ainsi sa traduction en protéines. C'est le plus souvent une séquence oligonucléotidique courte (20-30 nt) qui permet un ciblage spécifique. Ses sites de fixation sont multiples. Il se fixe préférentiellement en 5',

mais aussi sur le site de la RNase H, indispensable pour la maturation des ARN. Sa fixation sur la région de Splice permet un arrêt total de la traduction. (tiré de la ronéo de l'année dernière car non détaillé en cours)



Si cette méthode semble fonctionner, il reste néanmoins des défis majeurs à relever.

- **Tout d'abord il faut que les cibles soient stables** : L'acide nucléique est une entité pas très stable. Une fois produite elle a une durée de vie de 2 à 3 jours voire quelques heures. Donc comment stabiliser ces acides nucléiques le plus longtemps possible ? On va ajouter des groupements méthyles, NH ou cycliser les ARN
- Ensuite, **l'ARN ne pénètre pas facilement la cellule**. Pour pallier à cela soit on utilise beaucoup d'ARN soit on ajoute des subterfuges, des substances adjuvantes qui vont aider la pénétration dans la cellule.
- Enfin, **il y a d'importantes similitudes entre les cellules**. Le ciblage peut s'avérer fluctuant. L'ARN anti sens peut donc viser la bonne cible mais aussi des sites structurellement proches mais non spécifiques. On parle d'effet « off target » qui peut être délétère.

### **b) Exemple : La leucémie myéloïde chronique**

La LMC est causée par une translocation t(9,11). Ceci entraîne la fusion des gènes BCR et ABL et amène à la **formation d'une protéine de fusion**. Cette protéine entraîne une **activation constitutionnelle** de ses tyrosines kinases. Ceci conduit à une modification de l'adhésion, une activation des mitoses et une inhibition de l'apoptose. On retrouve donc un **phénotype malin**.

On a cherché à **développer un ARN anti-sens qui se fixe sur les gènes** du BCR et ABL afin de traiter la LMC. Il existe des traitements utilisant les anti-sens qui ciblent le gène BCL2. Cette technique marche parfaitement au niveau cellulaire. Néanmoins, elle reste inefficace utilisée in vivo. Beaucoup d'essais cliniques ont été effectués avec un ARN anti sens aboutissant à des **échecs suite à des problèmes de pénétration de l'ARN**.

Pour répondre à cette problématique on **peut polymériser les ARN**. On peut donc inclure les ARN dans de petits polymères. Le polymère pénètre facilement, il est stable et arrivé à l'intérieur de la cellule il se dégrade et libère l'acide nucléique.

On a donc une liste de tous les ARN anti sens développées dont certains ont atteint la phase 3 des phases de développement. On souligne les résultats concluants de l'ARN anti sens qui a bloqué, la protéine BCL2.

### **B) L'ARN interférence**

#### **a) Principe**

C'est un ARN qui peut être double brin. Une fois délivré dans la cellule il va se débarrasser des séquences annexes et va cibler de façon spécifique notre ARN cible. En effet il va être pris en charge par un complexe physiologique, le complexe RISC. Celui-ci va emmener directement l'ARN cible sur

la séquence complémentaire qu'il va reconnaître sur l'ARN messager. **Le but est donc de cliver l'ARN** et par la suite d'inhiber la traduction.

### **b) Les différents types d'ARN interférence**

- Les SiRNA (non évoqué en cours mais présent dans les diapos)

Les SiRNA tentent **de bloquer la traduction**, mais de façon différente. Le SiRNA est souvent double brin. Il se fixe exclusivement sur le complexe RISC qui le prend en charge dès son entrée dans la cellule. Ce complexe dégrade le brin sens et conserve le brin anti-sens. Ce brin anti-sens se fixe directement sur l'ARNm cible et le clive, l'empêchant d'être pris en charge par les ribosomes. Les SiRNA sont exogènes. Il existe également les ShRNA (Short Helphing RNA), qui sont présents de manière physiologique dans nos cellules. Ils agissent de la même façon, et donc constituent **une piste de recherche thérapeutique**.

- Les MiRNA

Ce sont de petits ARN que nous avons tous **de façon physiologique dans notre organisme**. Ils ont pour seul **rôle d'intervenir dans la maturation de nos ARN** depuis la phase de transcription jusqu'à la phase de traduction. Les microRNA existent chez les plantes et les animaux. Ils ont une taille entre 21 et 25 nt. On dénombre 300 à 1000 microRNA chez l'homme. Chaque microRNA peut réprimer l'expression de plusieurs dizaines de gènes.

Puisque ce sont des régulateurs physiologiques de notre propre acide nucléique on va essayer de voir comment ils sont exprimés dans les pathologies humaines. **On va donc se servir de leur expression pour les utiliser comme médicament**. On dénombre à ce jour 56 929 articles de recherche sur PubMed concernant les MIRNA amenant à la découverte de leurs implications dans le cancer, les infections virales.

On a donc de nombreuses molécules développées en clinique qui vont inhiber de nombreuses fonctions cellulaires. On va retrouver par exemple comme médicament anticancéreux des anticorps monoclonaux (Mab). Les SiRNA sont utilisés dans le but de valider les cibles proposées accélérant ainsi l'identification des cibles pertinentes. L'idée à terme est de les combiner avec des thérapies qui fonctionnent aujourd'hui.

## **V. Conclusion**

En somme, 98.5 % du génome est constitué d'ADN non-codant, 50% des nucléotides qui constituent le génome humain sont transcrits et seulement 1 à 2% des séquences ARN produites (transcriptome) sont traduites en protéines.

**Les médicaments vont cibler des récepteurs enzymatiques, des protéines dans le cytoplasme mais auront également des cibles au cœur même de la traduction de notre patrimoine.**