Pharmacologie-

- **Pharmacologie générale P2**
- Pharmacologie des grandes classes médicamenteuses (antidiabétiques-hormones-antibiotiques, antiviraux, antihypertenseurs, anticancéreux, médicaments du SNC, antiarythmiques…en D3.
- **Thérapeutique en D4**

Pharmacologie générale

Etude du médicament:

- Classes chimiques: pharmacochimie
- Pharmacodynamie (effets attendus) et mode d'action
- Métabolisme et élimination: mode d'administration, périodicité, pharmacocinétique
- Effets secondaires et interactions médicamenteuses: Iatrogenèse
- Grandes indications

Récepteurs des médicaments et action pharmacologique

Cours de Pharmacologie- P2

F. Calvo- 26/11/2007

Les médicaments

- Un médicament est une substance administrée pour corriger, modifier ou restaurer une fonction affectée de l'organisme.
- Un médicament 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.

Les médicaments

- On compte environ 3000 substances utilisées comme médicaments mais uniquement 500 cibles (environ 100 000 proteines).
- Les deux classes de cibles les plus importantes sont les récepteurs membranaires des médiateurs (45% des cibles actuelles) et les enzymes (28%). Les canaux ioniques (5%) et les récepteurs nucléaires (2%) sont d'autres cibles potentielles des médicaments.

Exemples d'actions thérapeutiques

- Inhibition de l'HMG CoA reductase hypocholestérolémiants
- Blocage de la cyclo-oxygenase catabolisant l'acide arachidonique Anti-inflammatoires
- Blocage du cycle d'oxydo-réduction de la vitamine K Anticoagulants
- Inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine Anti-hypertenseurs
- Anti-mitotiques Chimiothérapies
- Inhibiteurs du recaptage de la sérotonine Antidépresseurs

Les protéines sont la cible de nombreux médicaments

L'état actuel

- La connaissance du génome (40 000 gènes)
- Le décryptage du protéome (> 100 000 proteines)
- L'association entre des protéines cibles et des maladies

On considère que les médicaments agissent par interaction avec 4 types de protéines régulatrices dans les cellules humaines:

- Enzymes (p.ex. l'Aspirine inhibe une enzyme, la cyclooxygenase).
- Protéines de transport (p.ex. le Prozac inhibe le transporteur de la sérotonine).
- Protéines des canaux ioniques (p.ex. les anesthésiques locaux inhibent les canaux Na).
- Protéines recepteurs (p.ex. le Zirtec, un antiallergique, bloque le récepteur H1 de l'histamine)

Récepteurs des médicaments

- les récepteurs canaux ioniques sont des récepteurs de membrane associés à un canal ionique Ex: le récepteur de l'acetylcholine- transmission neuromusculaire
- Les récepteurs couplés aux protéines G: après activivation de nombreux signaux de transduction sont activés. Des hormones peptidiques et plusieurs neurotransmetteurs utilisent cette signalisation.
- les récepteurs Tyrosine kinase contiennent une activité enzymatique intrinsèque dans leur domaine intra cellulaire. Après activation par leur ligand le récepteur TK va entrainer une cascade de phosphorylation – insuline, EGF, VEGF…)
- Les récepteurs intracellulaires régulent la transcription génique. En se liant au récepteur les hormones stéroides sont transloquées au noyau et régulent la transcription.

Médicament de substitution = Remplacement d'une substance nécessaire à l'organisme

- Défaut de synthèse : insuline chez le patient diabétique, dopamine (L dopa) dans la maladie de Parkinson, facteurs VIII ou IX chez l'hémophile
- Défaut d'apport : vitamine D (rachitisme), vitamine B12 (anémie de Biermer).
- Défaut physiologique de synthèse : oestrogènes après la ménopause.

Médicaments interagissant avec le métabolisme d'une substance endogène

- Inhibition de la synthèse de l'angiotensine II à partir de l'angiotensine I (= inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine).
- Inhibition de la synthèse du cholestérol par inhibition de l'HMG-CoA réductase (hydroxy methyl glytaryl Co-enzyme A reductase) qui assure la synthèse de l'acide mévalonique précurseur du cholestérol (= mécanisme d'action principal des statines).
- Inhibition des vitamines K réductases aboutissant au blocage du cycle d'oxydo-reduction de la vitamine K (base du mécanisme d'action des anti-coagulants oraux).

Médicaments qui interagissent avec les cibles de substances endogènes

Développement d'agonistes et antagonistes

- Agonistes-antagonistes beta-adrénergiques

Agonistes beta 1 et 2 : isoprénaline, adrénaline

Agoniste beta 1 : dobutamine, noradrénaline, dopamine

Agonistes beta 2 préférentiels : salbutamol, terbutaline, salmeterol

Antagonistes beta - bloquants

- Agonistes-antagonistes dopaminergiques (neuroleptiques)
- Antagonistes des récepteurs H1 et H2 de l'histamine
- Morphiniques : agonistes des récepteurs aux enképhalines
- Curares : blocage de la transmission neuro-musculaire

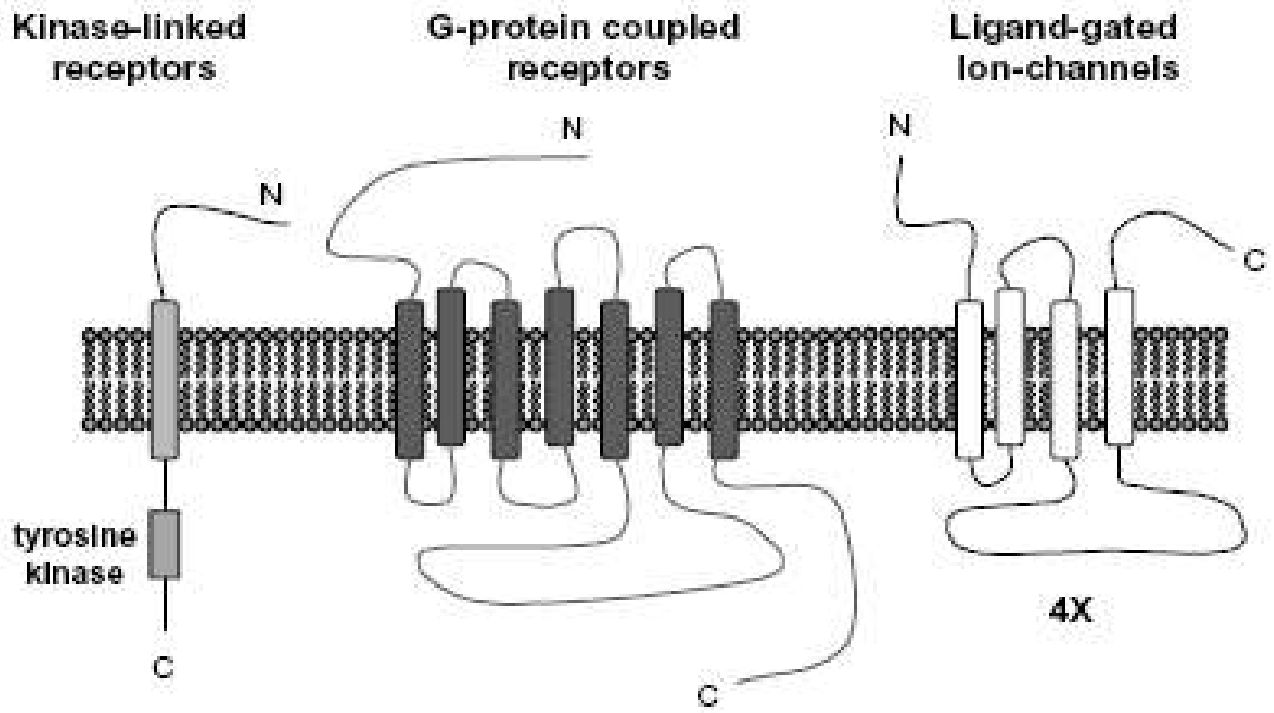
Médicaments interagissant avec les canaux membranaires ou des systèmes de transport ionique

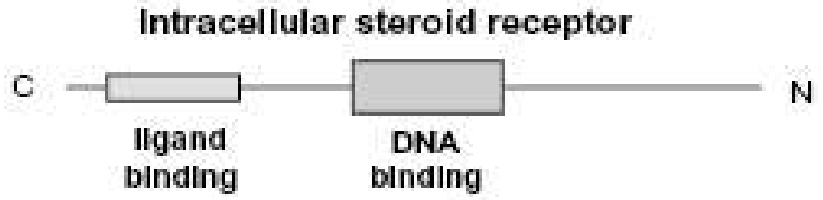
- Anti-arythmiques de classe I, anesthésiques locaux (xylocaïne), bloqueurs des canaux calciques, potassiques, digitaliques (= inhibiteurs de l'ATPase membranaire Na K), inhibiteurs de la pompe à protons au niveau gastrique etc...

Interaction avec bactéries/virus parasites/champignons

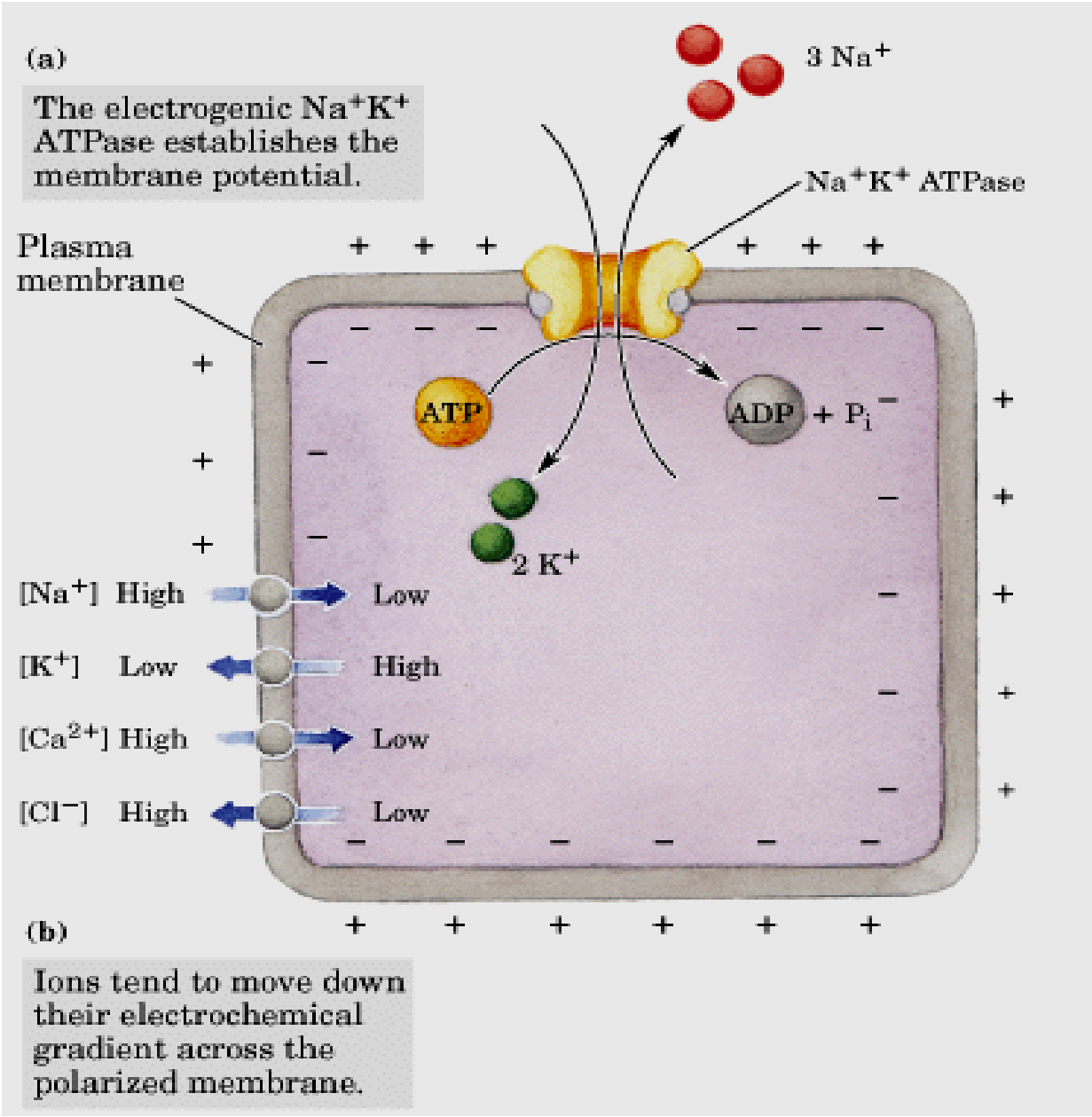
- Inhibition de synthèse d'un constituant indispensable à leur développement ou à leur survie
- Beta-lactamines, inhibition de synthèse de la paroi bactérienne,
- quinine, chloroquine : inhibition du cycle de maturation du plasmodium falciparum

Types de récepteurs membranaires et nucléaires impliqués dans la réponse aux médicaments



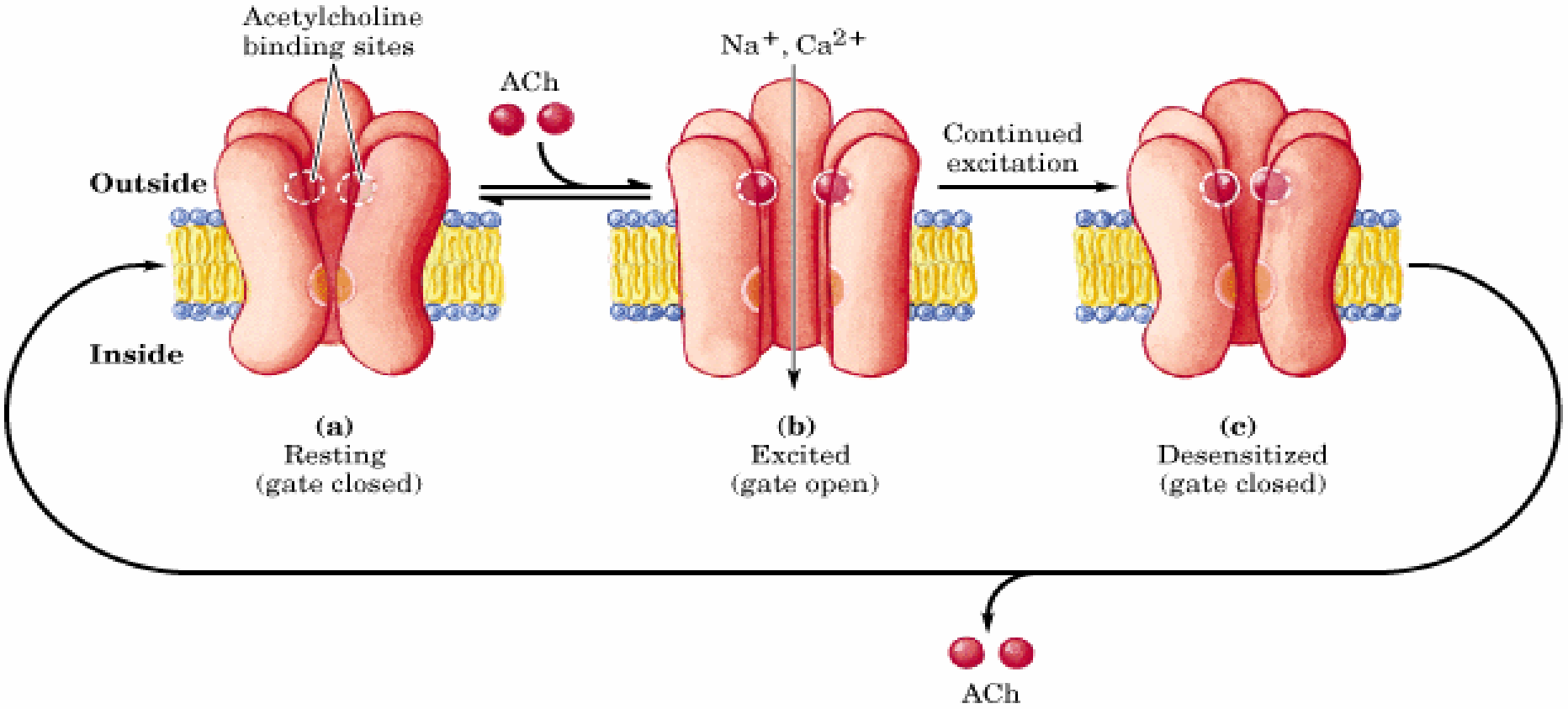


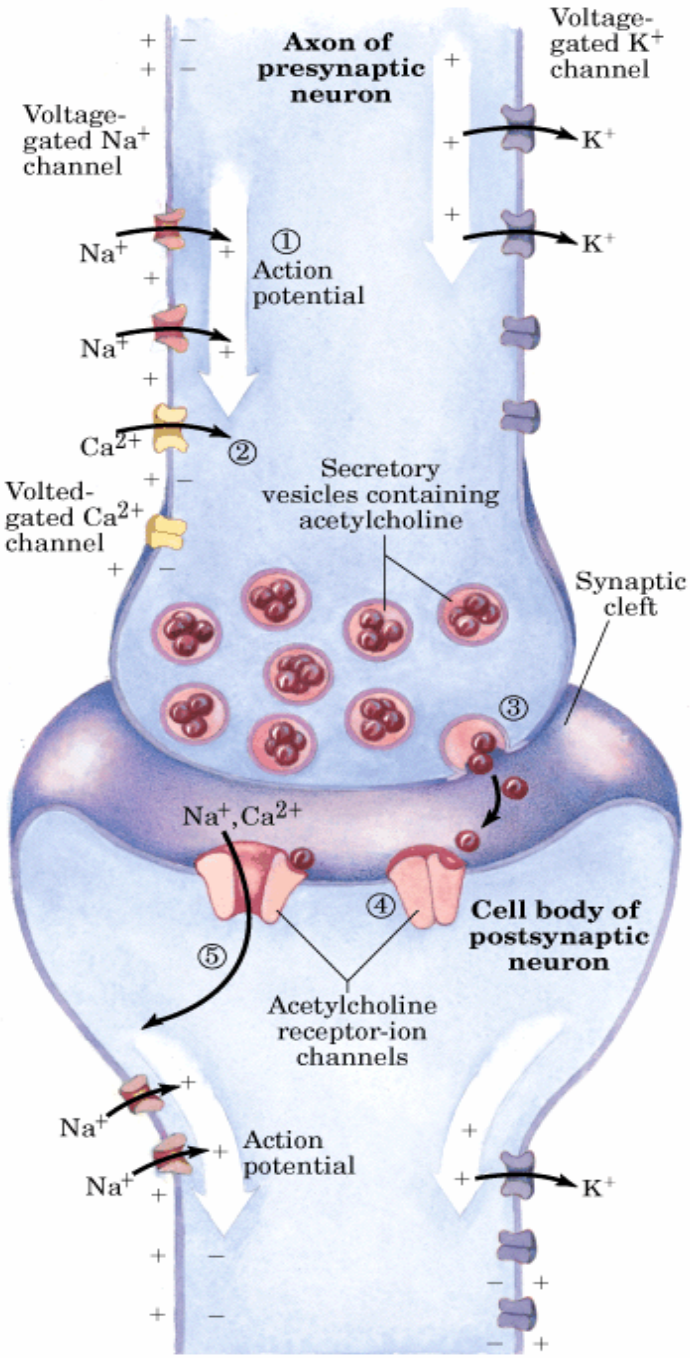
Récepteurs de type canal ionique


(a)
The electrogenic Na^+K^+ ATPase establishes the membrane potential.
3 Na^+
Na^+K^+ ATPase
Plasma membrane
ATP
ADP + P_i
2 K^+
[Na^+] High
Low
[K^+] Low
High
[Ca^{2+}] High
Low
[Cl^-] High
Low
(b)
Ions tend to move down their electrochemical gradient across the polarized membrane.

Récepteurs couplés à des canaux ioniques

Récepteurs des neurotransmetteurs: p ex: serotonine, acetyl choline
Liaison du ligand au récepteur > ouverture du canal > influx ionique > Cascade d'évènements en aval
Médicaments inhibiteurs: barbituriques, antidepresseurs




Axon of presynaptic neuron
Voltage-gated K+ channel
Voltage-gated Na+ channel
K+
K+
Na+
Na+
① Action potential
Ca2+
②
Secretory vesicles containing acetylcholine
Volted-gated Ca2+ channel
Synaptic cleft
③
Na+,Ca2+
④
Cell body of postsynaptic neuron
⑤
Acetylcholine receptor-ion channels
Na+
Na+
Action potential
K+

Récepteurs couplés à des protéines G

Recept couplé G 0.mov

Recept couplé G prot1.mov

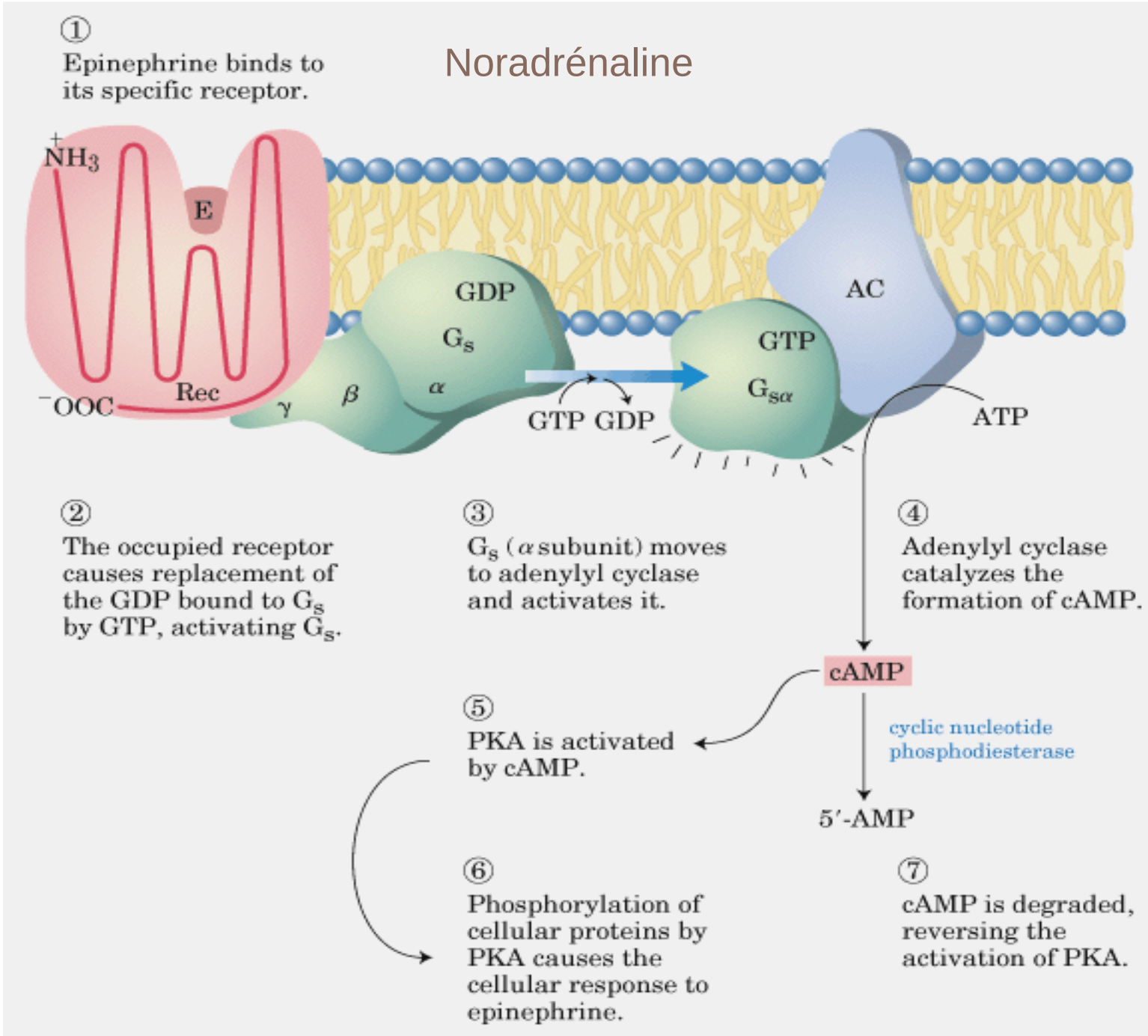
Recept couplé effecteur2.mov

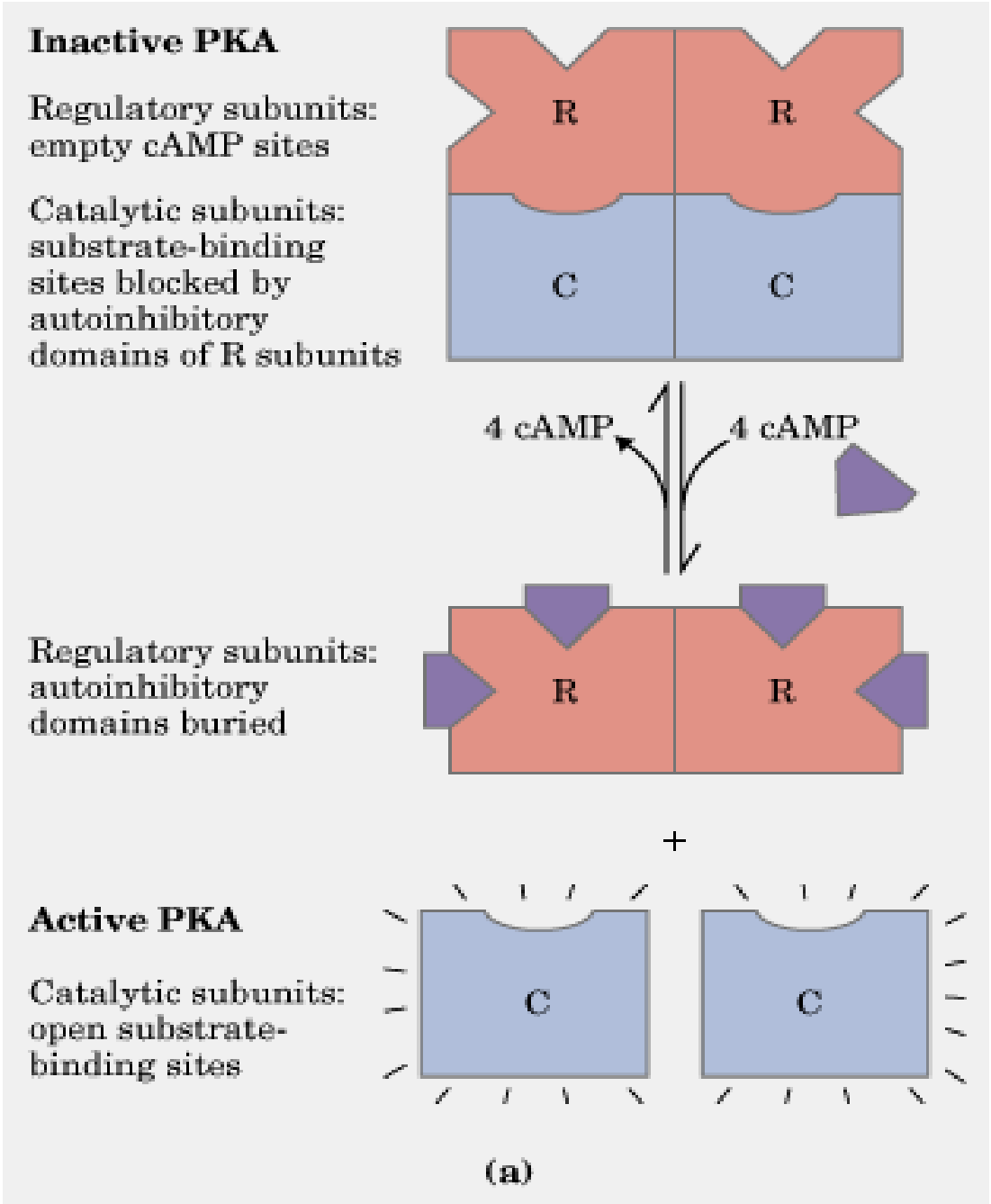
Recept couplé PKA4.mov

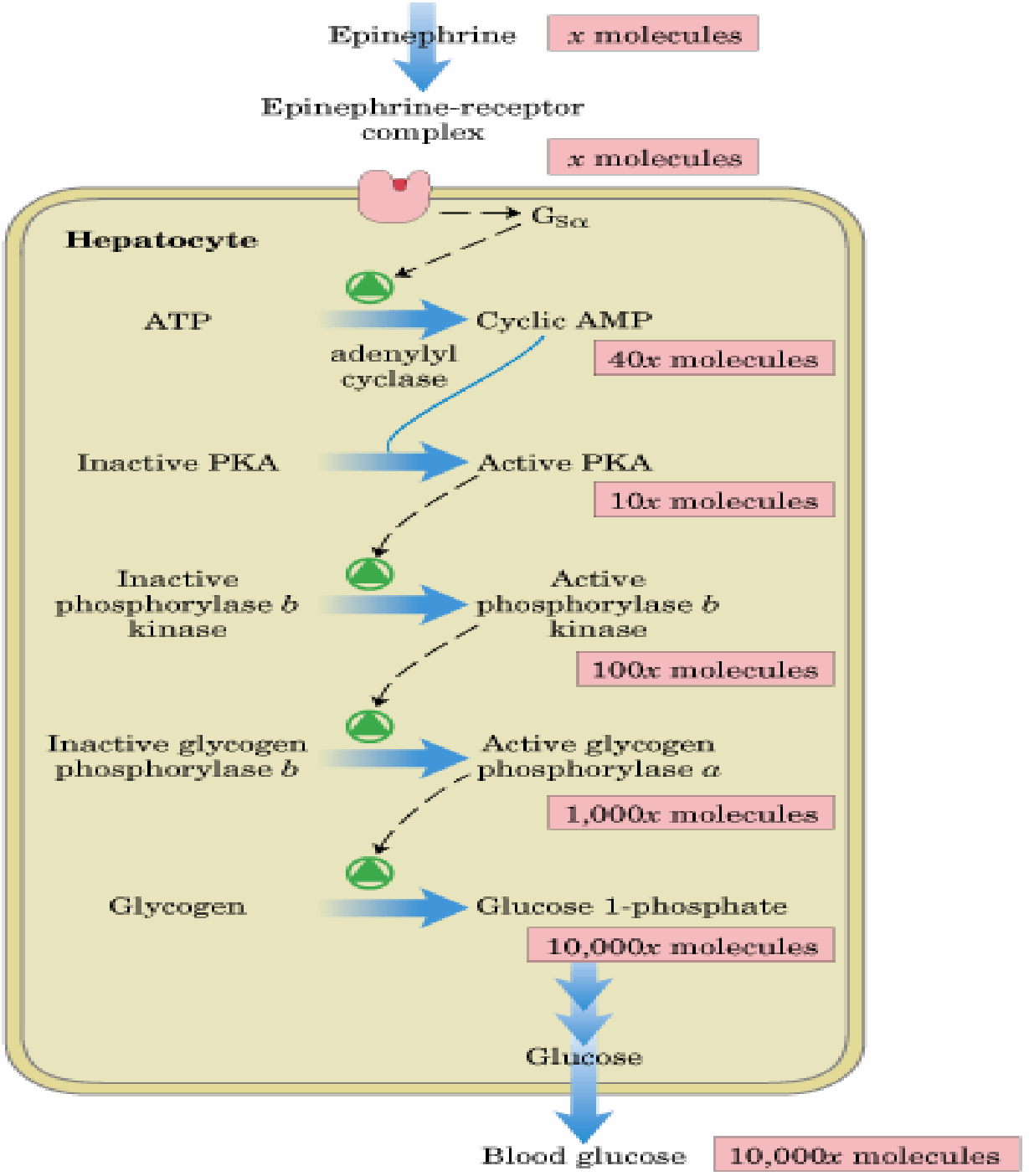
Recept couplé Ad Cycl3.mov

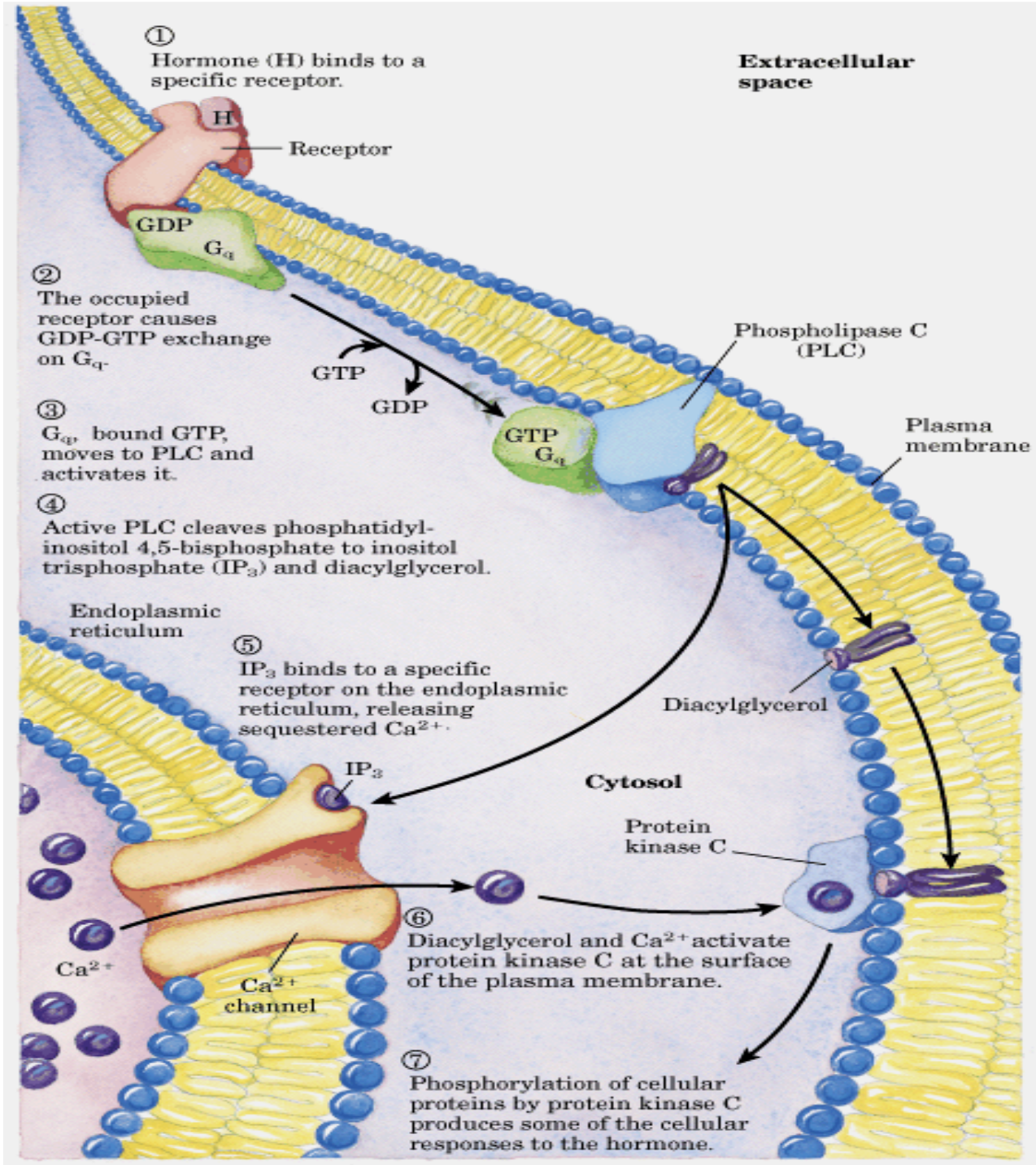
Recept couplé PLC.mov

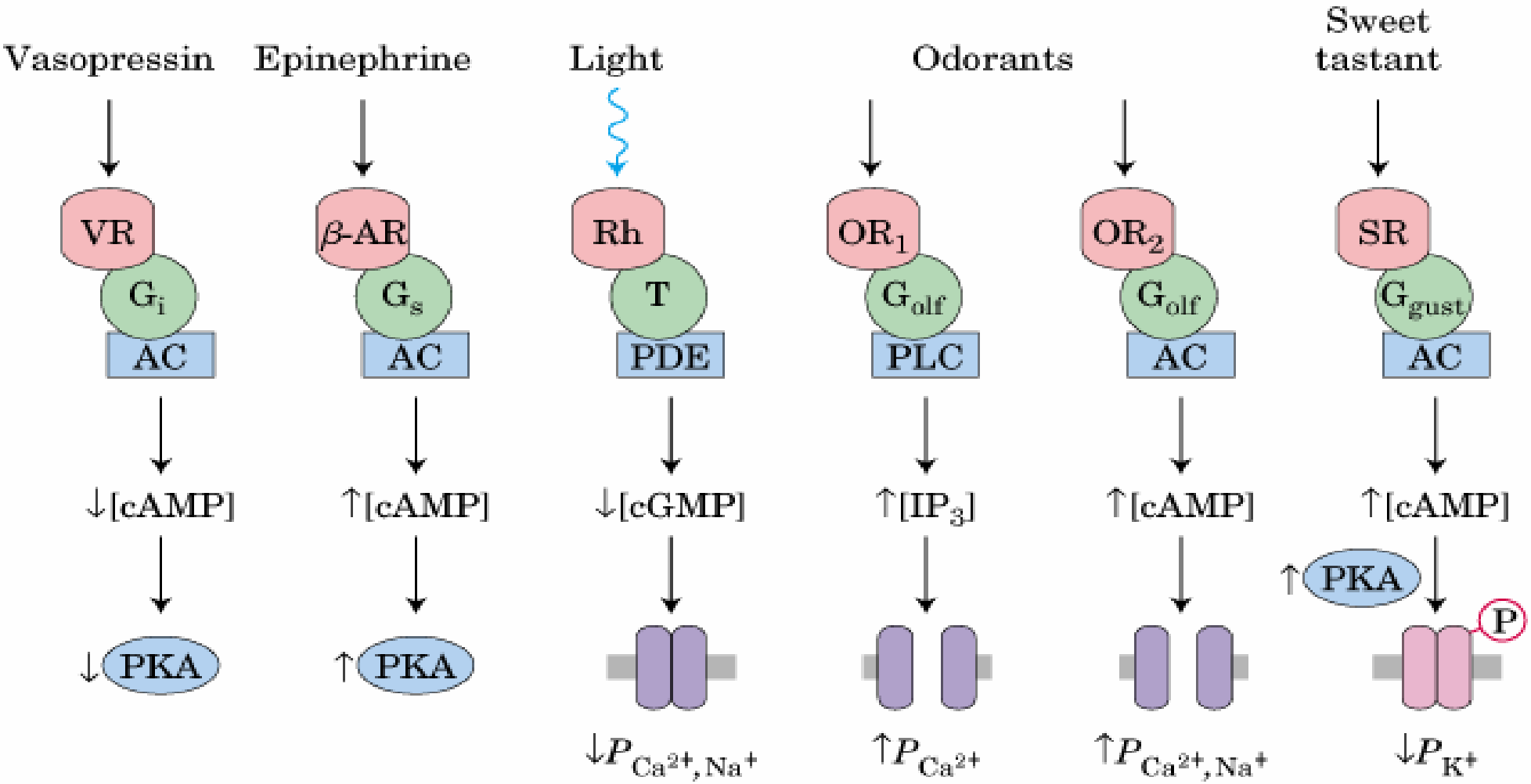
Noradrénaline




Inactive PKA
Regulatory subunits: empty cAMP sites
Catalytic subunits: substrate-binding sites blocked by autoinhibitory domains of R subunits
R
R
C
C
4 cAMP
4 cAMP
Regulatory subunits: autoinhibitory domains buried
R
R
+
Active PKA
Catalytic subunits: open substrate-binding sites
C
C
(a)


Epinephrine
x molecules
Epinephrine-receptor complex
x molecules
Hepatocyte
$G_{s\alpha}$
ATP
adenylyl cyclase
Cyclic AMP
40x molecules
Inactive PKA
Active PKA
10x molecules
Inactive phosphorylase *b* kinase
Active phosphorylase *b* kinase
100x molecules
Inactive glycogen phosphorylase *b*
Active glycogen phosphorylase *a*
1,000x molecules
Glycogen
Glucose 1-phosphate
10,000x molecules
Glucose
Blood glucose
10,000x molecules


① Hormone (H) binds to a specific receptor.
Extracellular space
H
Receptor
GDP
G_q
② The occupied receptor causes GDP-GTP exchange on G_q.
GTP
GDP
Phospholipase C (PLC)
③ G_q, bound GTP, moves to PLC and activates it.
GTP
G_q
Plasma membrane
④ Active PLC cleaves phosphatidyl-inositol 4,5-bisphosphate to inositol trisphosphate (IP_3) and diacylglycerol.
Endoplasmic reticulum
⑤ IP_3 binds to a specific receptor on the endoplasmic reticulum, releasing sequestered Ca^{2+}.
Diacylglycerol
IP_3
Cytosol
Protein kinase C
Ca^{2+}
Ca^{2+} channel
⑥ Diacylglycerol and Ca^{2+} activate protein kinase C at the surface of the plasma membrane.
⑦ Phosphorylation of cellular proteins by protein kinase C produces some of the cellular responses to the hormone.


Vasopressin
Epinephrine
Light
Odorants
Sweet tastant
VR
G_i
AC
β-AR
G_s
AC
Rh
T
PDE
OR_1
G_{olf}
PLC
OR_2
G_{olf}
AC
SR
G_{gust}
AC
↓[cAMP]
↑[cAMP]
↓[cGMP]
↑[IP_3]
↑[cAMP]
↑[cAMP]
↓PKA
↑PKA
↑PKA
P
$\downarrow P_{Ca^{2+},Na^+}$
$\uparrow P_{Ca^{2+}}$
$\uparrow P_{Ca^{2+},Na^+}$
$\downarrow P_{K^+}$

Récepteurs liés à des enzymes

Recept Tyr kinase.mov

Recepteurs liés à des enzymes

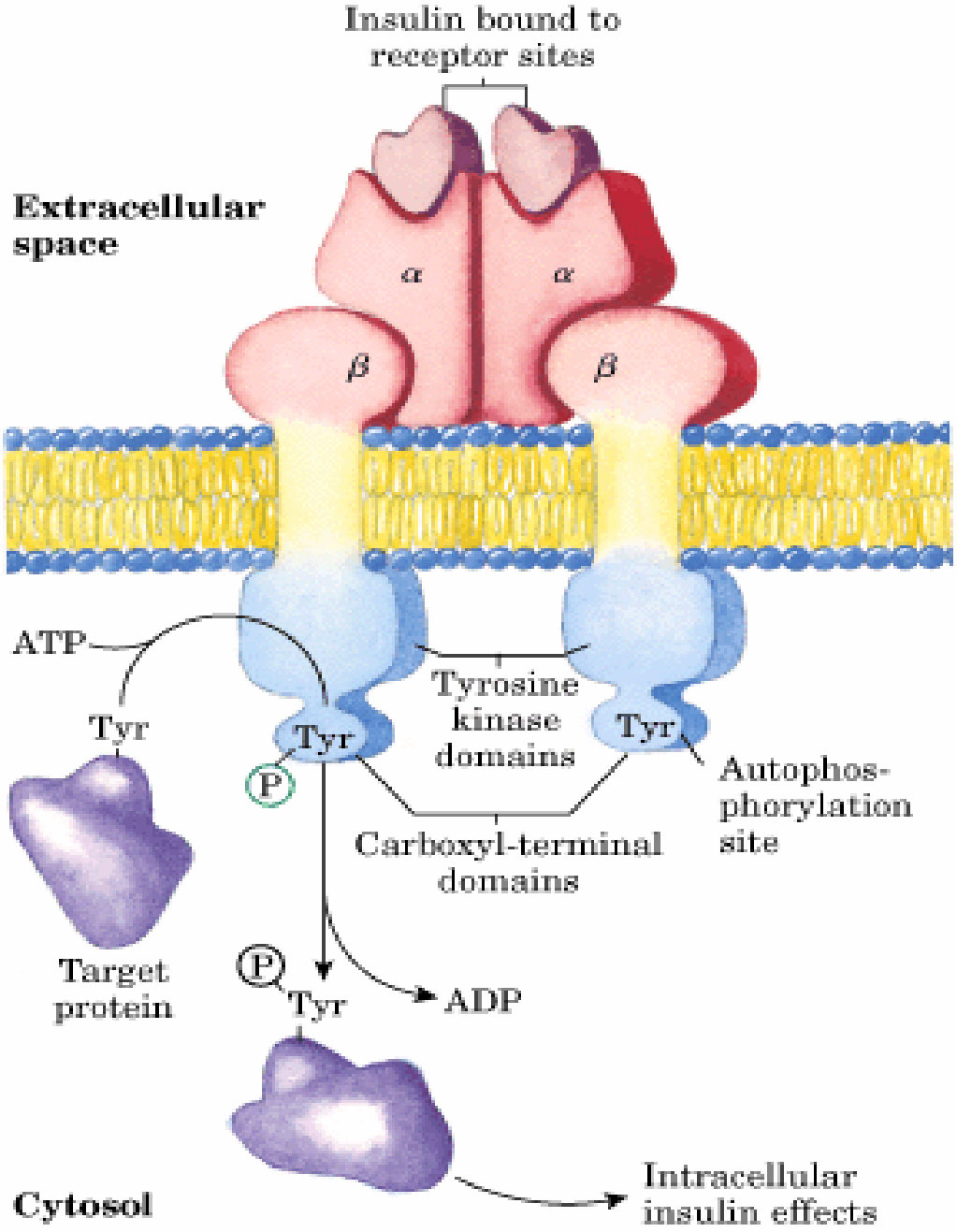
Recepteurs tyrosine kinases

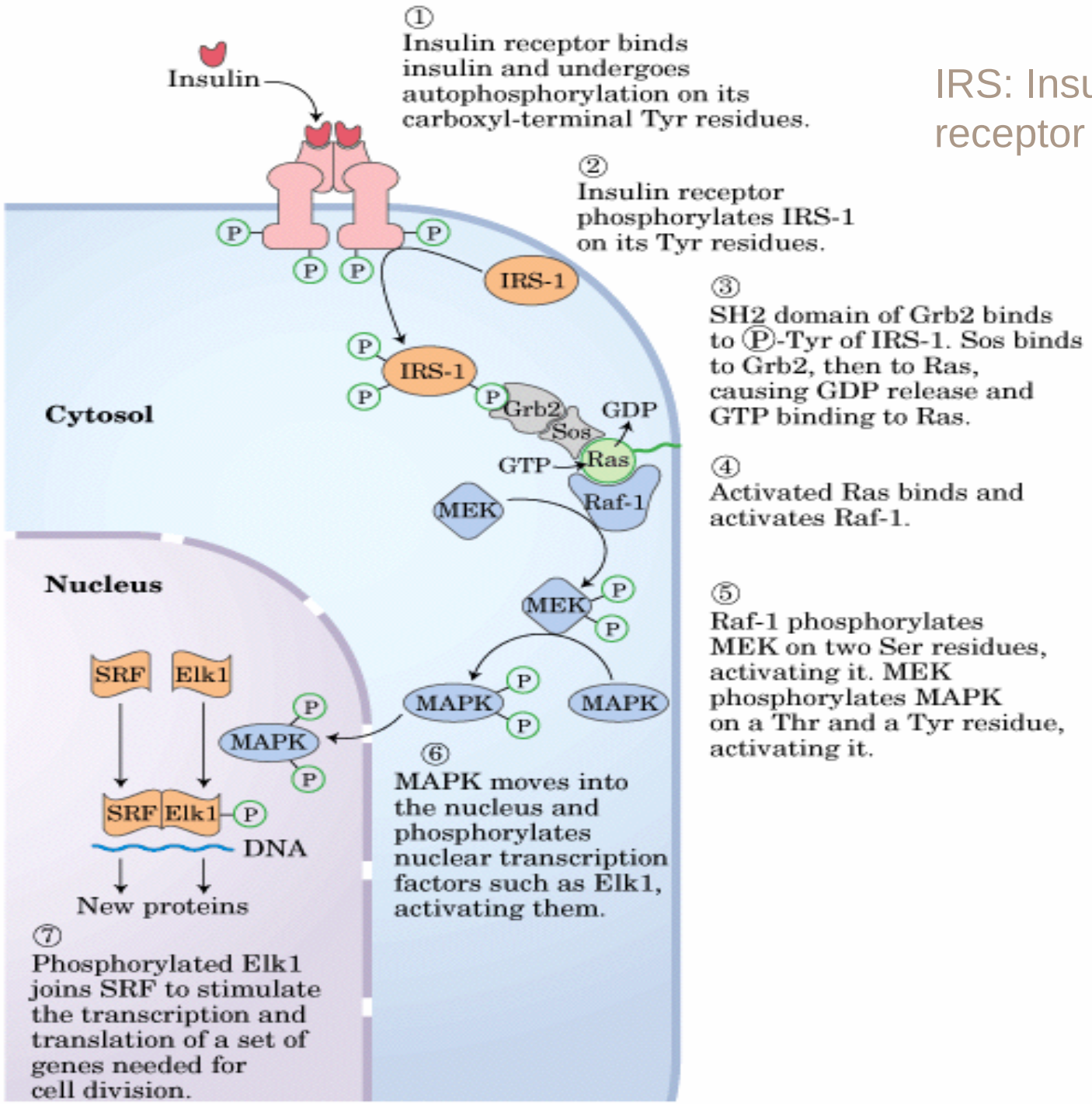
Exemples- recepteurs des facteurs de croissance : FGF, PDGF, Insulin, IGF-1, CSF

La liaison du ligand au RTK----activation de l'activité TK------autophosphorylation----liaison de laprotéine d'activation de la GTPase ou de la PI3 kinaseou de la phospholipase----Activation de la PKC et/ou Ras---activation de la MAPKKK----activation de la MAPKK---Activation de la MAPK----c-Jun---activation de la transcription

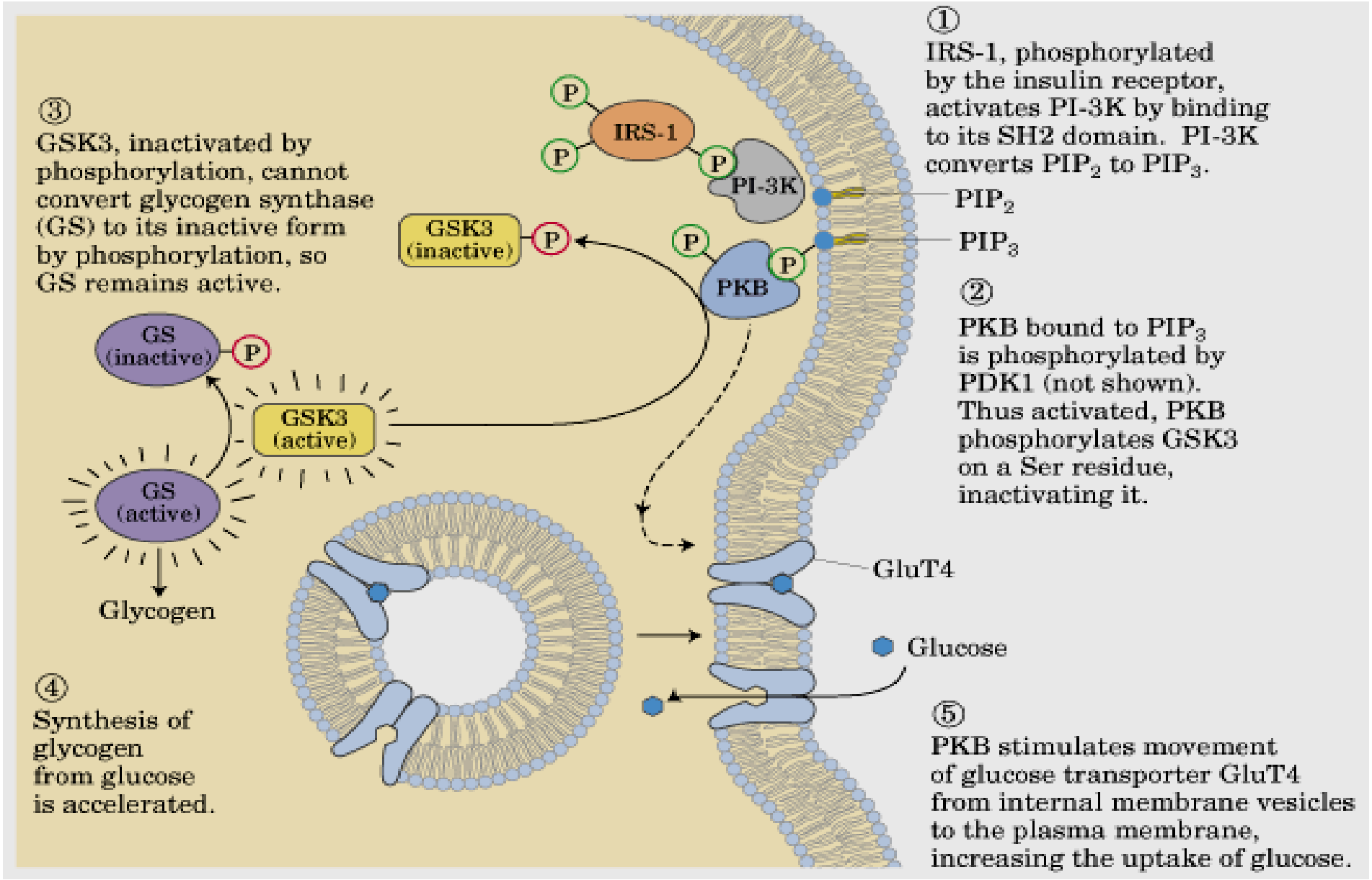
Receptor serine/threonine kinases:

Exemples des récepteurs dela famille TGF-b





IRS: Insuline receptor substrate

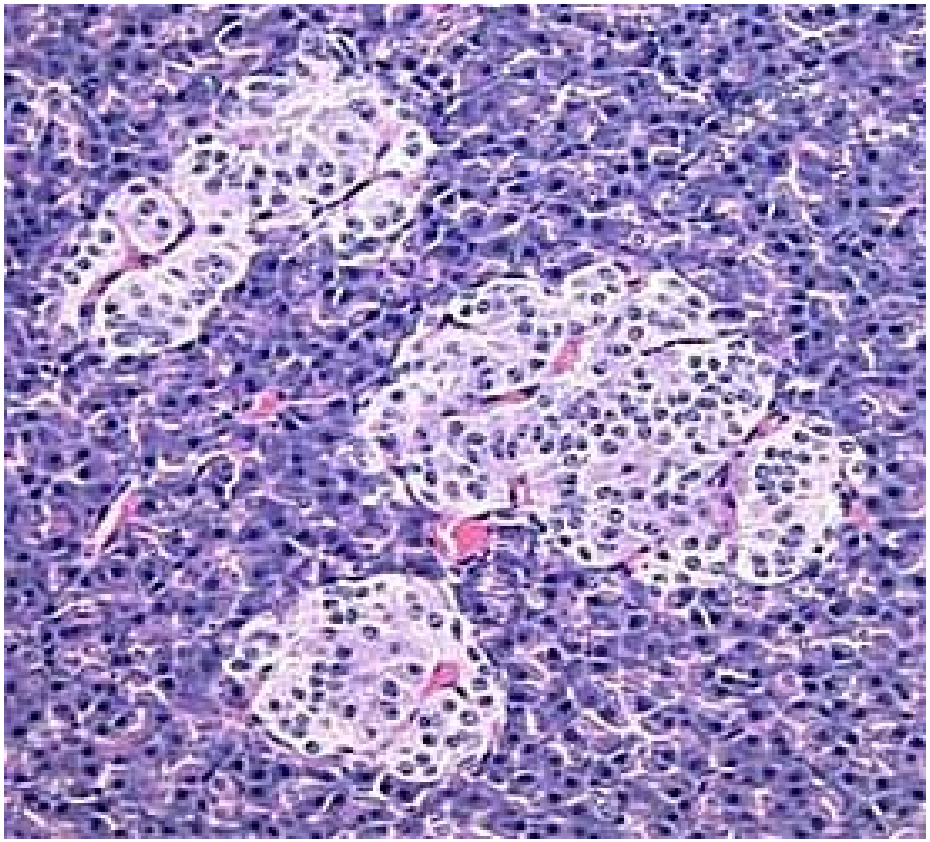

①
IRS-1, phosphorylated by the insulin receptor, activates PI-3K by binding to its SH2 domain. PI-3K converts PIP_2 to PIP_3.
②
PKB bound to PIP_3 is phosphorylated by PDK1 (not shown). Thus activated, PKB phosphorylates GSK3 on a Ser residue, inactivating it.
③
GSK3, inactivated by phosphorylation, cannot convert glycogen synthase (GS) to its inactive form by phosphorylation, so GS remains active.
④
Synthesis of glycogen from glucose is accelerated.
⑤
PKB stimulates movement of glucose transporter GluT4 from internal membrane vesicles to the plasma membrane, increasing the uptake of glucose.
IRS-1
PI-3K
PKB
GSK3 (inactive)
GSK3 (active)
GS (inactive)
GS (active)
P
PIP_2
PIP_3
GluT4
Glucose
Glycogen

INSULINE

Pancreas endocrine et exocrine:

Ilots de Langherans endocrines:
Cellules Alpha: glucagon
Cellules Beta: Insuline (au centre)
Cellules Delta:somatostatine

Les ilots sont très vascularisés permettant le transfert rapide sanguin des hormones. Ils sont innervés par les neurones Parasympathiques et sympathiques.



INSULINE

Structure de l'Insuline:

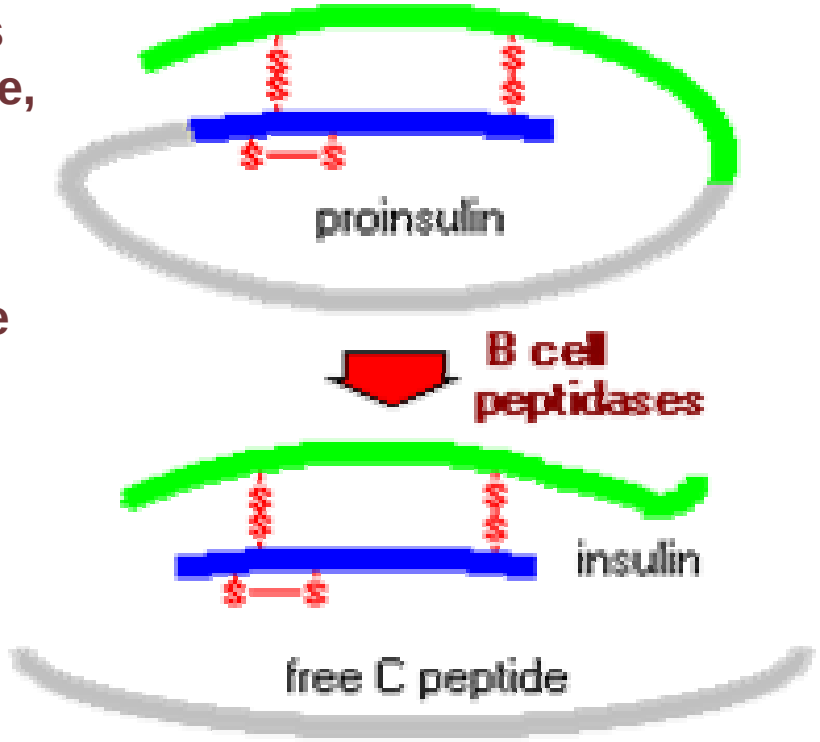
C'est une petite protéine d'environ 6000 Daltons. Ele est composée de deux chaines réunies par des ponts disulfures (chaîne A en bleu et chaîne B en vert)

Sa structure est extrêmement bien conservée à travers les espèces (les insulines animales -porcines, extraite du pancréas- continuent à être utilisées chez les patients)

INSULINE

Synthèse de l'insuline:

L'insuline est synthétisée par les cellules B, sous la forme d'une protéine linéaire la Pré-pro-insuline, maturée dans le RE en proInsuline par clivage enzymatique du peptide signal.
La proinsuline comporte 3 domaines, aminoterminal A, carboxyterminal B et un peptide intermédiaire le peptide C qui va être excisé par des endopeptidases spécifiques dans le RE, les trois protéines vont migrer dans le golgi, s'accumuler et être libérées par exocytose après stimulation appropriée



INSULINE

Contrôle de la sécrétion d'insuline

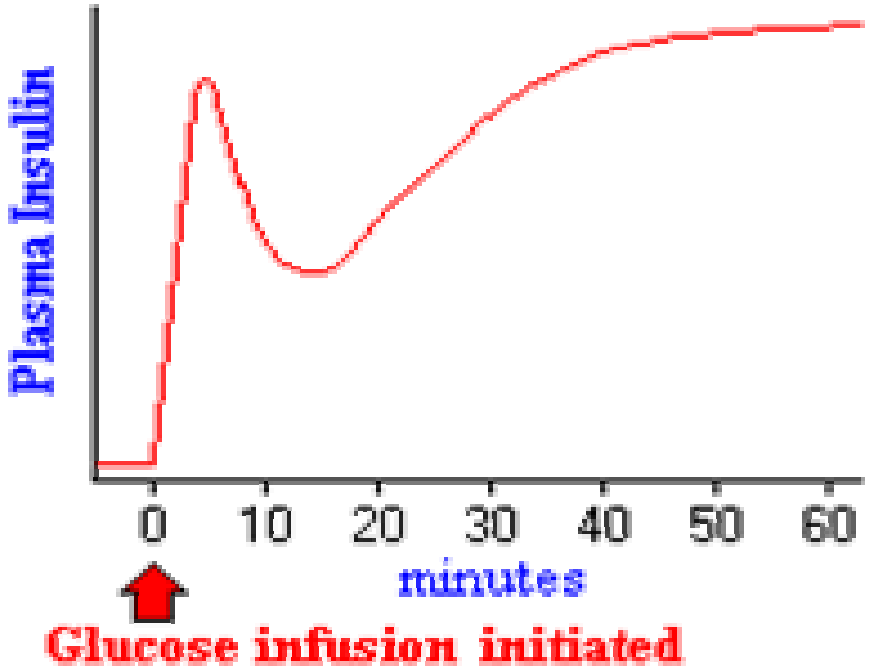
L'INSULINE est secrétée en réponse à l'élévation des concentrations sanguines de glucose, pour faciliter l'entrée du glucose dans les cellules. D'autres signaux neurologiques ou nutritionnels stimulent sa sécrétion (alimentation, AA, AG…)

Le Glucose est transporté dans la cellule B par diffusion facilitée par le transporteur de glucose.

- **Les concentrations élevées de glucose dans la cellule B entraînent une dépolarisation de la membrane et un influx calcique, qui déclencher l'exocytose des granules de sécrétion d'insuline.**
- **D'autres mécanismes de sécrétion indépendants du flux calciques existent .**

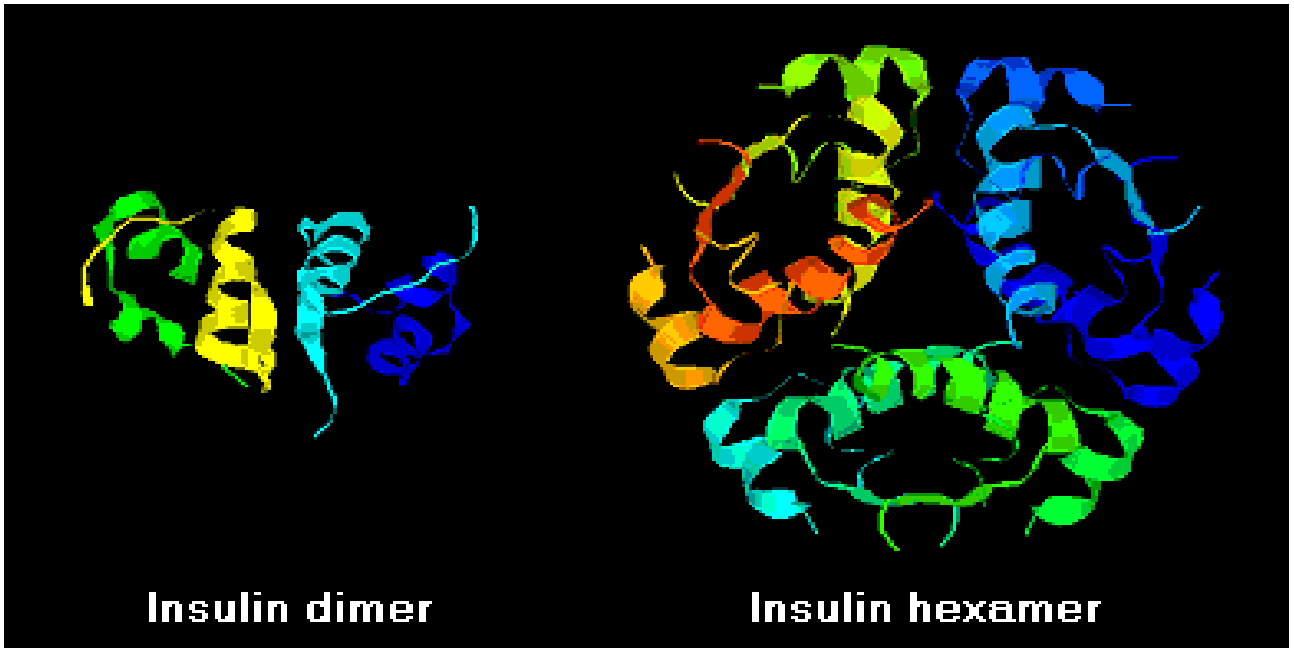
INSULINE

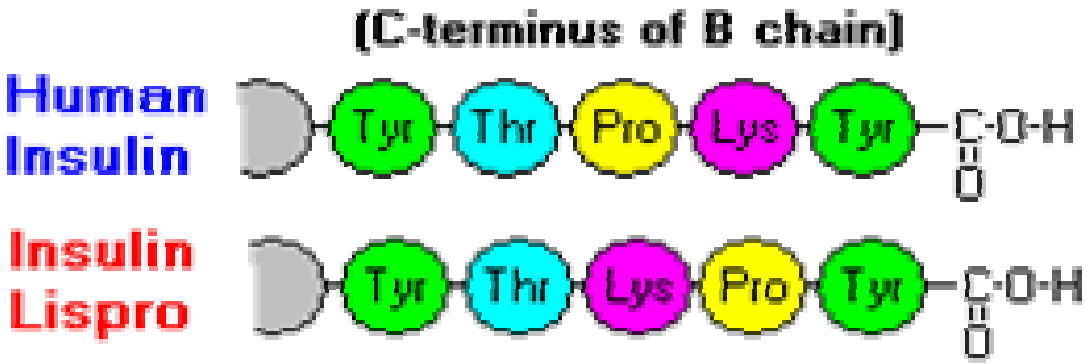
Stimulation de la secrétion d'insuline:
La concentration normale de glucose sanguin est de 4 à 5 mMoles chez l'homme associée à des taux très faibles d'insulinémie.
La perfusion de glucose aboutit immédiatement à un pic d'insulinémie libéré par les cellules, suivi d'une chute transitoire (déplétion des stocks), et d'une réascension secondaire liée à la synthèse de novo d'insuline suggérant un effet transcrîptionnel du glucose sanguin.



Structure de l'insuline:

En solution, l'insuline a tendance à se dimériser ou former des hexamères en présence de zinc (propriété utilisée pour former des formes retard). Les dimères et hexamères diffusent difficilement dans le sang et sont donc des formes retard. A l'inverse de nouvelles insulines de synthèse existent comme l'insuline LISPRO dans laquelle une simple interversion de PRO et LYS ne modifie pas la liaison au récepteur mais empêche la formation de dimères et d'hexamères.

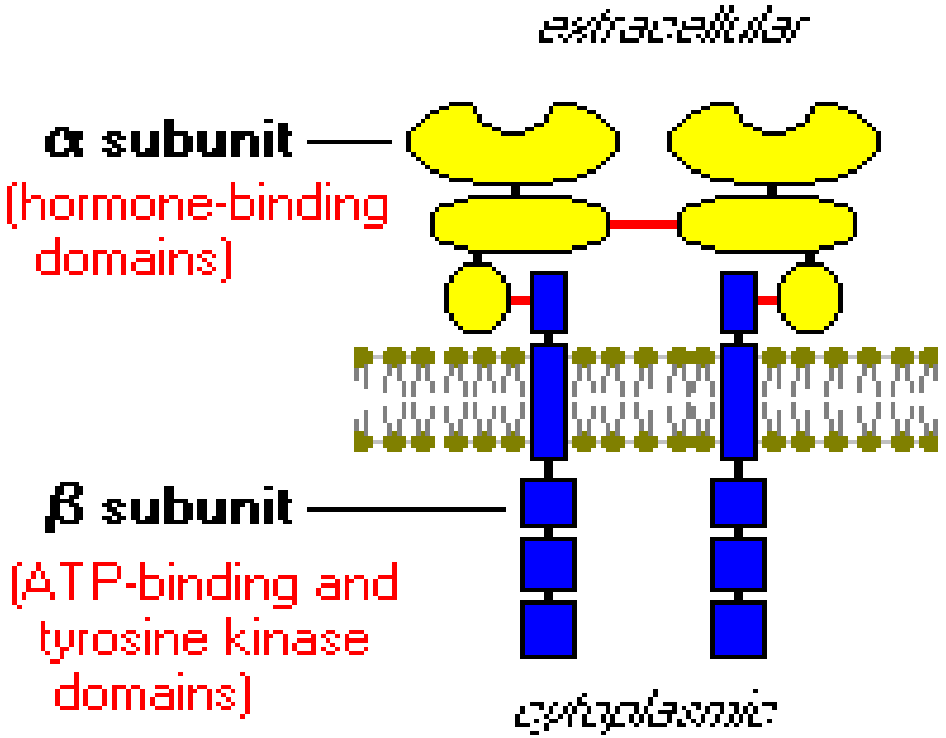


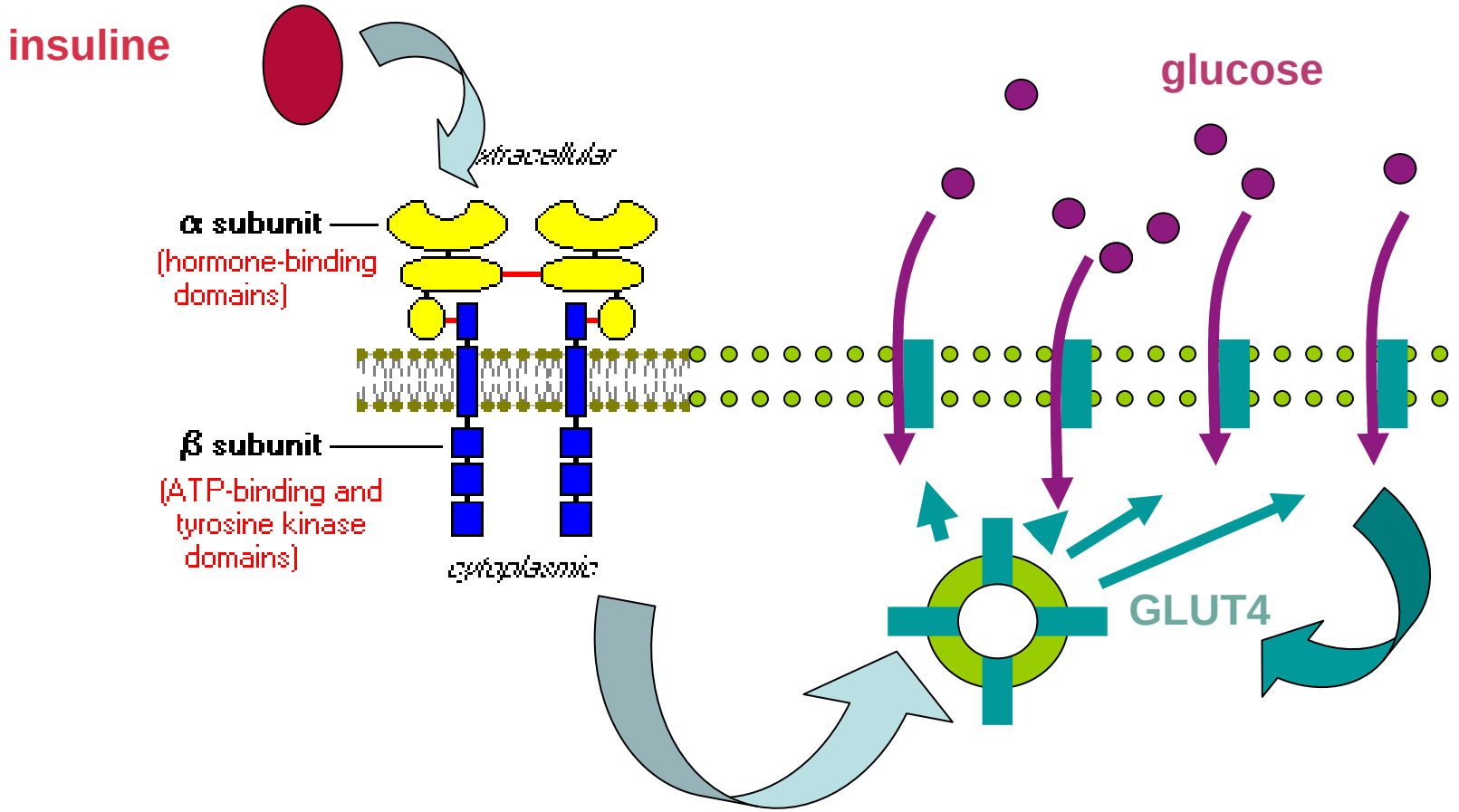


INSULINE

Le récepteur de l'insuline et mécanisme d'action:

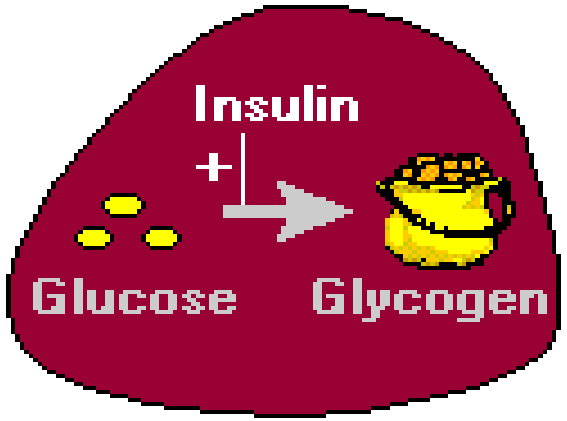
C'est un récepteur membranaire de la famille des récepteurs Tyrosine kinase, composé de deux sous unités alpha et deux sous unités beta. La liaison de l'insuline va entrainer l'auto phosphorylation de la chaine beta et la phosphorylation d'autres protéines intra cellulaires. La mieux étudiée est la protéine IRS-1 qui va recruter et activer d'autres enzymes.

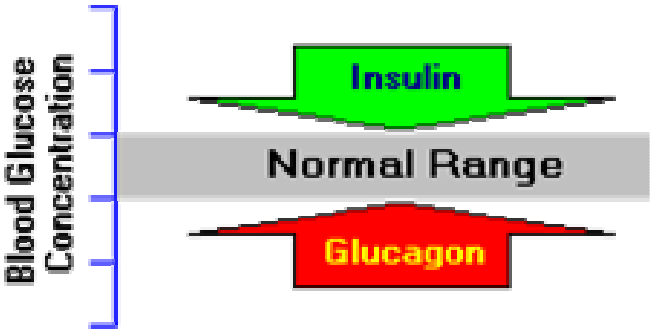


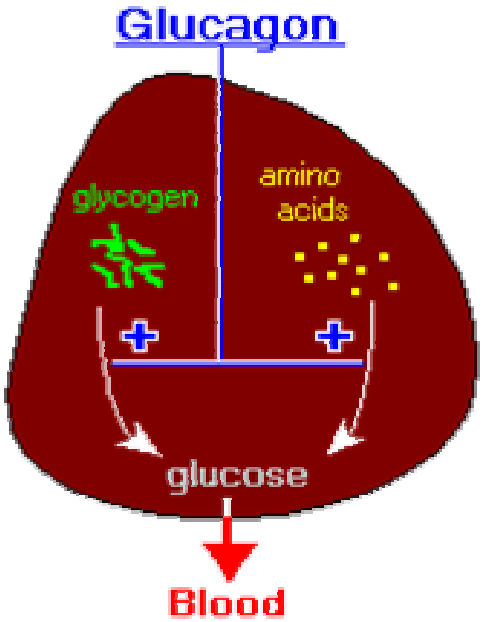


L'insuline facilite l'entrée de de glucose dans le muscle, le tissus adipeux , et d'autres tissus par les transporteurs d'hexose dont le représentant majeur est le GLUT4. Le foie et le cerveau utilsent d'autres transporteurs indépendants du récepteur de l'insuline

L’insuline stimule le le stockage hépatique de glucose sous forme de glycogène. L’insuline active l’hexokinase hépatique qui phosphoryle le glucose et inhibe la G6 phosphatase permettant son trappage. Elle stimule les enzymes de synthèse de glycogène (PFK et Glycogène synthase).
L’insuline diminue les taux sanguins de glucose et son effet cesse dès que la glycémie baisse. Les cellules utilsent alors les AG comme source d’énergie à l’exception des neurones..
En l’absence d’insuline la synthèse de glycogène est remplacée par sa dégradation. Cette dégradation est également sous la dépendance du Glucagon.





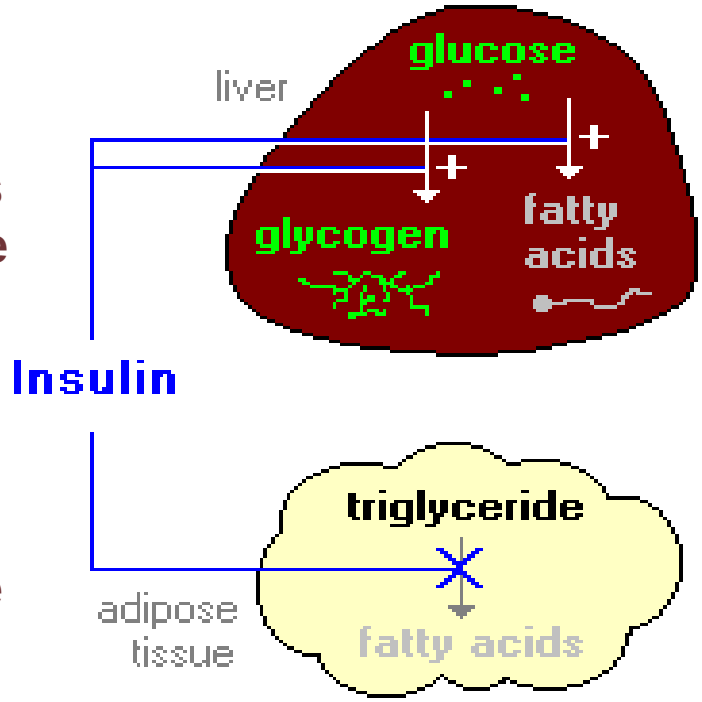


L’insuline augmente la synthèse d’acides gras par le foie. Dès que la synthèse de glycogène dépasse un niveau (>5% masse hépatique) celle-ci ralentit au profit d’autres voies métaboliques comme la synthèse d’AG qui sont libérés sous forme de lipoprotéines qui vont être captés par d’autres tissus dont les adipocytes pour synthétiser les triglycérides.

L’Insuline inhibe la dégradation des lipides dans le tissus adipeux en inhibant la lipase intra cellulaire qui hydrolyse les triglycérides.

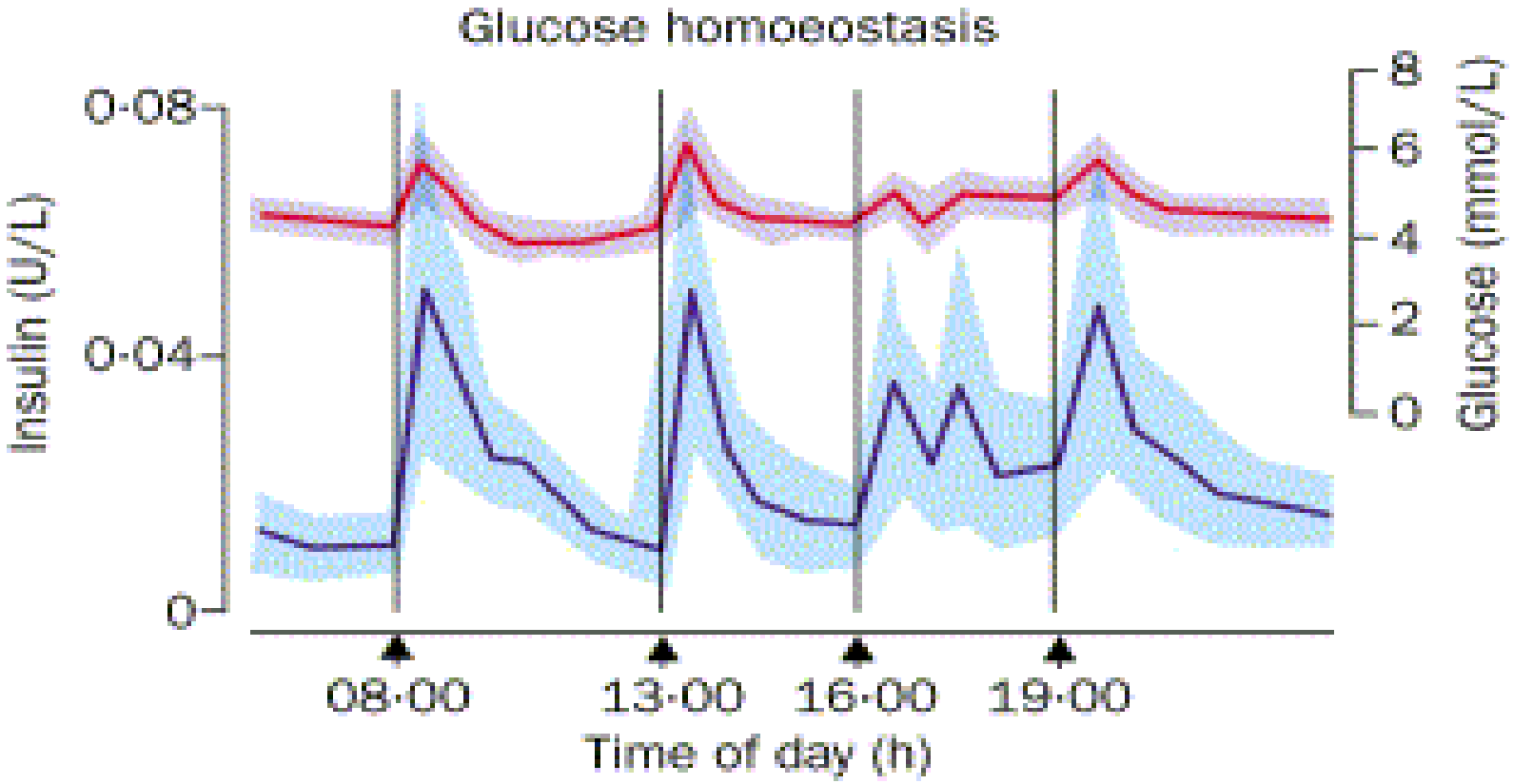
L’insuline facilite l’entrée du glucose dans les adipocytes ou il permet la synthèse de glycérol utilsé avec les AG hépatiques pour former les triglycérides.

Globalement l’insuline a un rôle d’épargne lipidique, favorisant l’oxydation périphérique du glucose plutot que celle des AG pour fournir de l’énergie, stimulant indirectement l’accumulation de graisses dans les adipocytes.



Insuline

	DID	DNID
Age d'apparition	**< 30 ans**	**➢40 ans**
Antécédents familiaux	**Inhabituels**	**Habituels**
Poids	**Non obèse**	**Obèse**
Acidocétose	**Oui**	**Non**
Traitement Insulinique	**Oui**	**Rare et tardif**
Prévalence	**0,5%**	**5% en augmentation**
Association avec HLA	**Oui**	**Non**



Profils quotidien du glucose et de l'insuline plasmatiques chez des volontaires sains (n=12)

Préparations d'Insuline (1)

- **Insulines immédiates: séquences modifiées empéchant la dimérisation: peuvent être administrées immédiatement avant ou même après le début du repas**
  - **Insuline lispro**
  - **Insuline aspart**
- **Insulines à courte durée d'action: ou neutre et soluble, administrée ½h avant le repas, durée d'action de 8h**
  - **Actrapid, humuline S**
  - **Insuline bovine ou porcine**

Préparations d’Insuline (2)

- **Insulines intermédiaires et à longue durée d’action: complément indispensable à la couverture quotidienne en complément des insulines rapides (insulines isophane)**
- **Insulines biphasiques: mélange d’insuline immédiate et d’insuline à longue durée d’action**
- **Nouvelles préparations susceptibles de couvrir sur 24h les besoins en association avec les insulines immédiates (Ins-Glargine, Ins-Determir)**

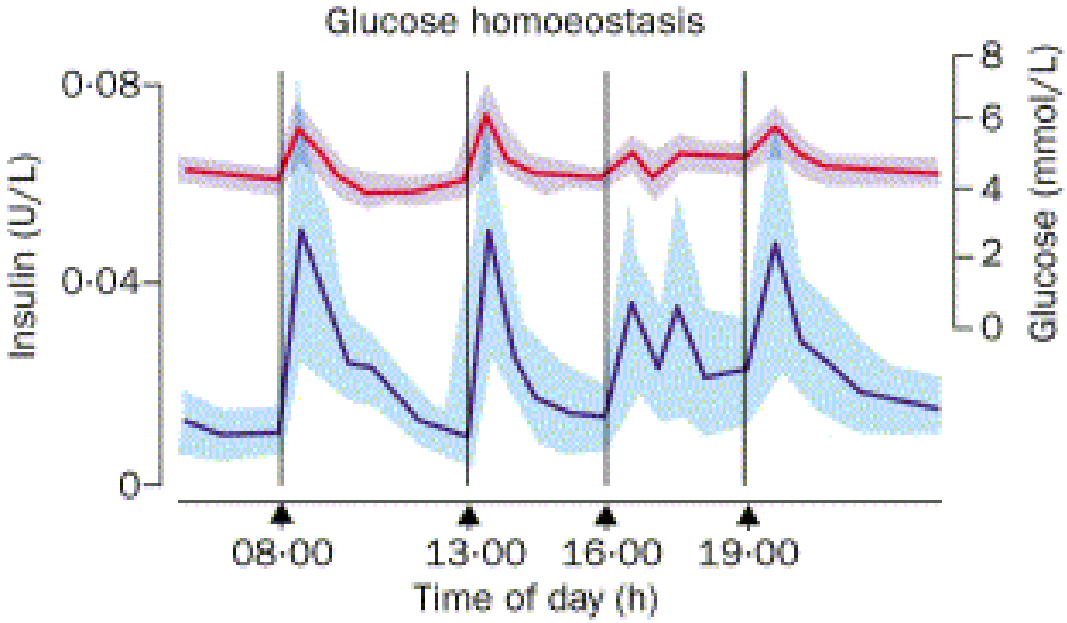
Estimation des consommations d'insulines

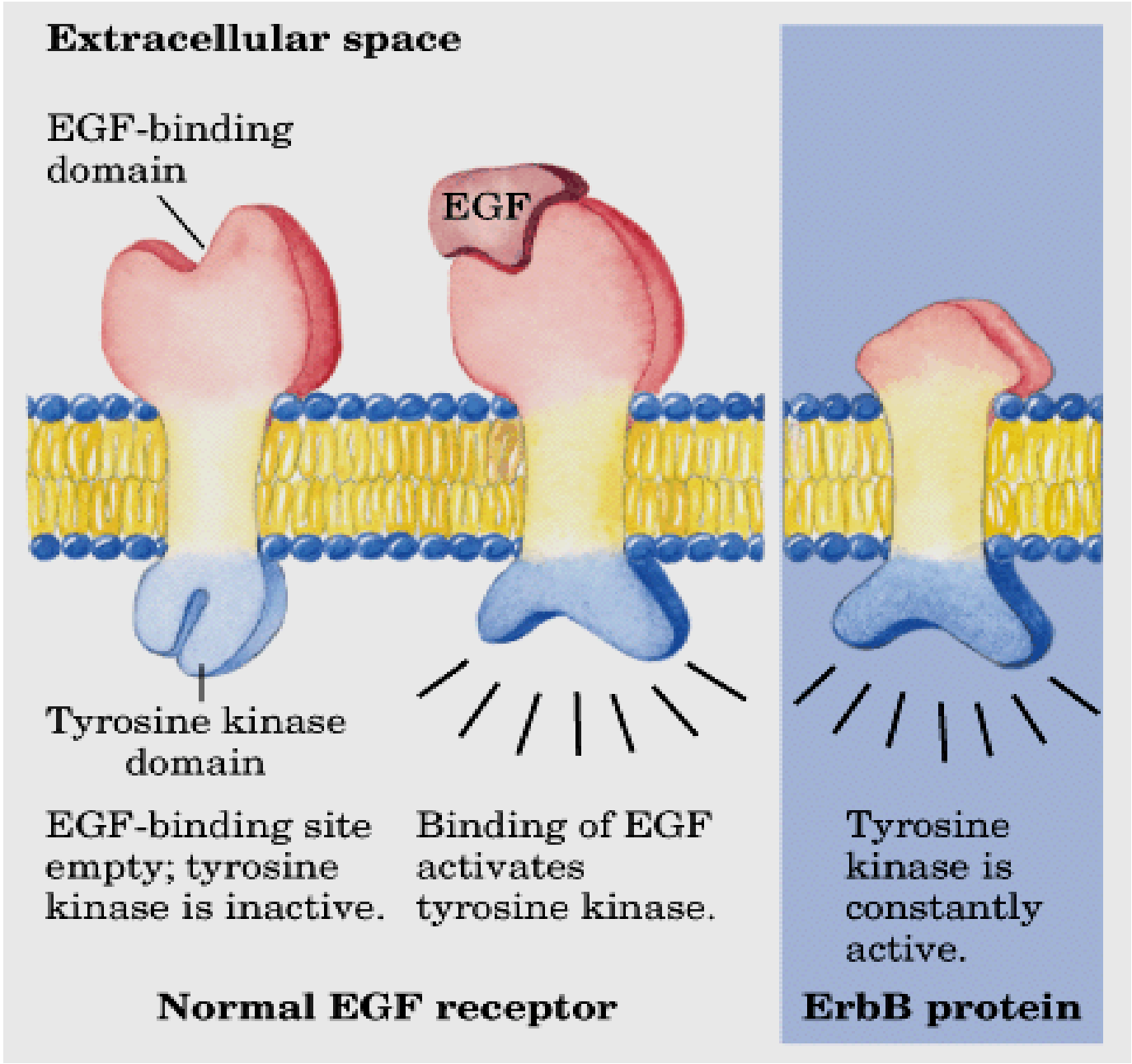
	Insulin consumption			
	Worldwide	UK	Canada	Italy
Insulin type				
Soluble	26%	23%	26%	26%
Premixtures	39%	51%	31%	39%
Basal (NPH, IZS)	35%	26%	43%	35%

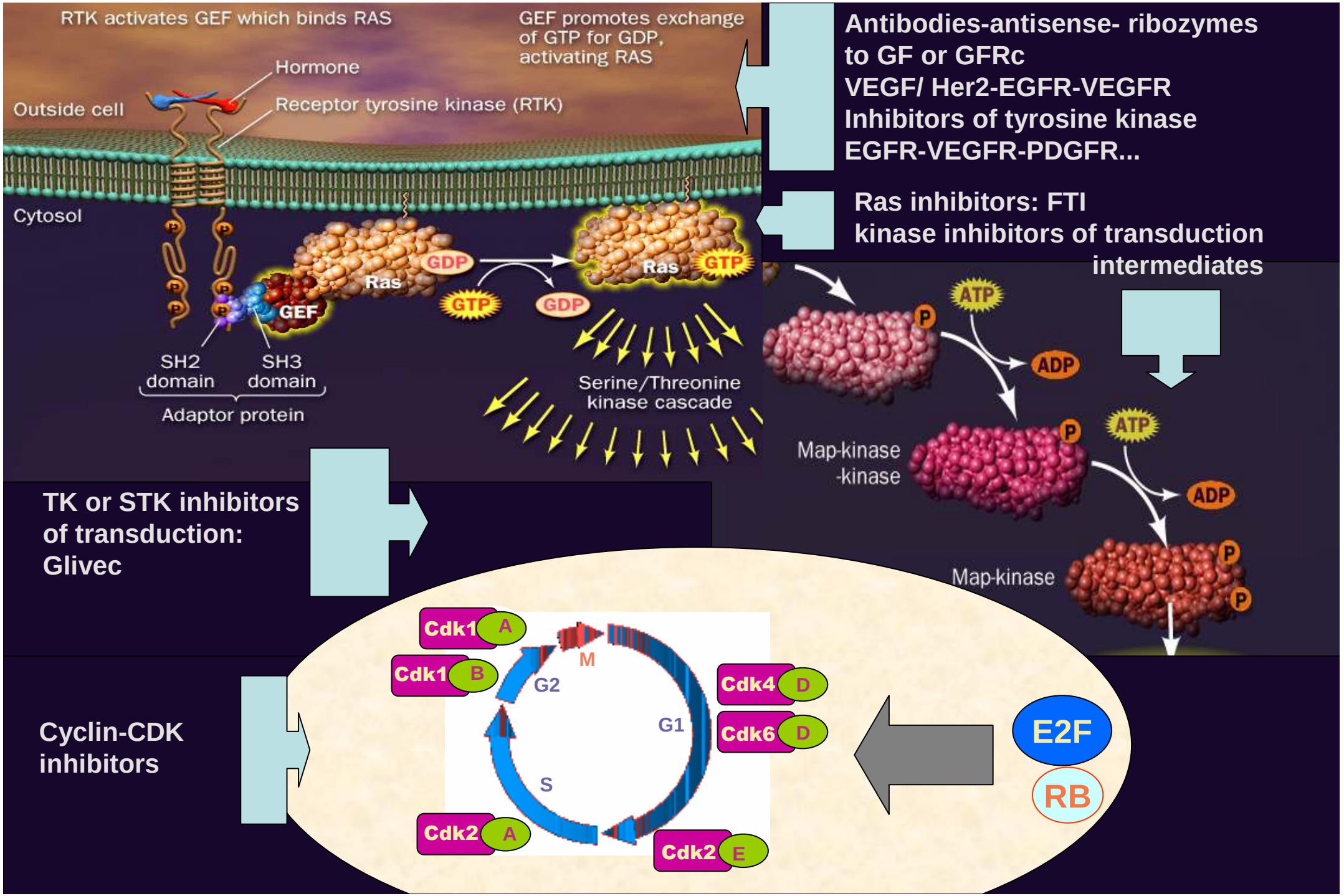
L'administration d'insuline ne reproduit pas les variations physiologiques en raison des problèmes de résorption et de biodisponibilité

Surveillance du traitement insulinique

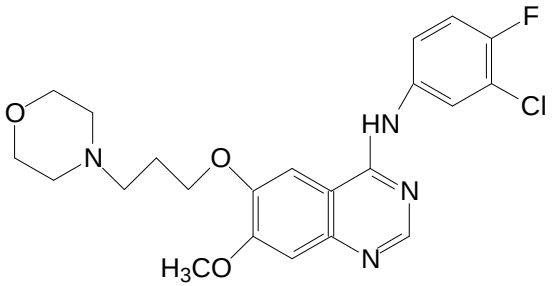
- Glycémie capillaire au doigt > 3 fois /j
- HbA1c (/2mois)
- Adaptation des doses
- Education du patient qui devient son thérapeute
- Carnet de surveillance



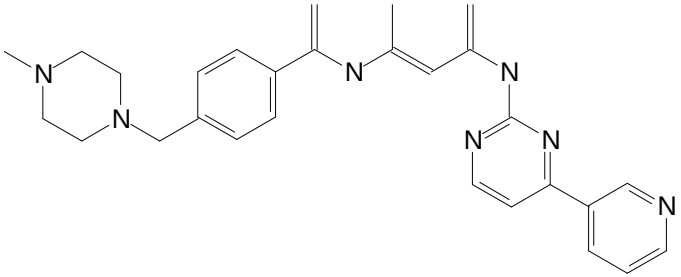

Extracellular space
EGF-binding domain
EGF
Tyrosine kinase domain
EGF-binding site empty; tyrosine kinase is inactive.
Binding of EGF activates tyrosine kinase.
Tyrosine kinase is constantly active.
Normal EGF receptor
ErbB protein


RTK activates GEF which binds RAS
GEF promotes exchange of GTP for GDP, activating RAS
Hormone
Outside cell
Receptor tyrosine kinase (RTK)
Cytosol
Ras
GDP
GTP
GEF
SH2 domain
SH3 domain
Adaptor protein
Serine/Threonine kinase cascade
Antibodies-antisense- ribozymes to GF or GFRc
VEGF/ Her2-EGFR-VEGFR
Inhibitors of tyrosine kinase EGFR-VEGFR-PDGFR...
Ras inhibitors: FTI
kinase inhibitors of transduction intermediates
ATP
ADP
Map-kinase -kinase
Map-kinase
TK or STK inhibitors of transduction: Glivec
Cyclin-CDK inhibitors
Cdk1 A
Cdk1 B
Cdk2 A
Cdk2 E
Cdk4 D
Cdk6 D
M
G2
G1
S
E2F
RB

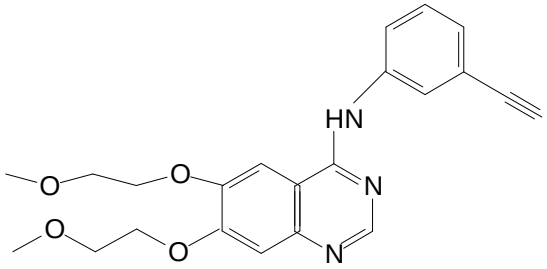
TYROSINE KINASE INHIBITORS



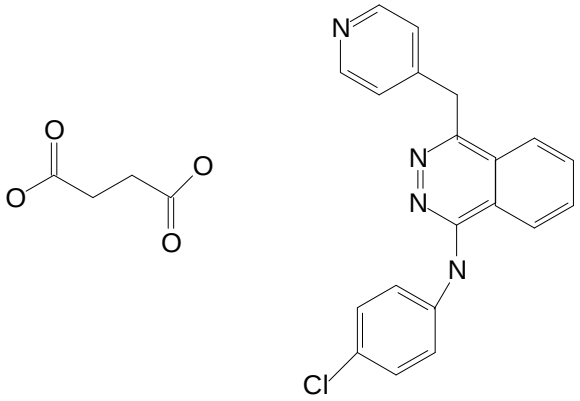
IMATINIB (GLIVEC®)



GEFINITIB (IRESSA®)



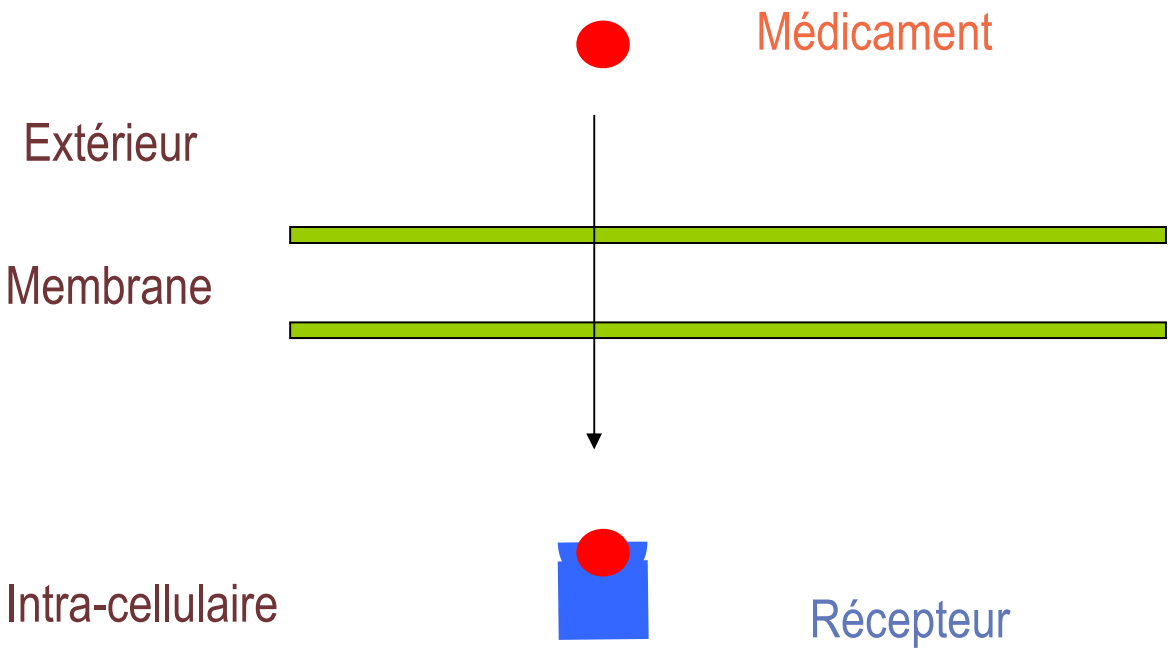
TARCEVA®



PTK 787

Récepteurs nucléaires

Récepteurs Nucléaires

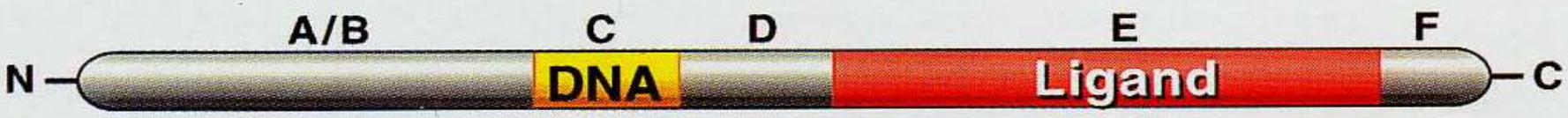


Exemples

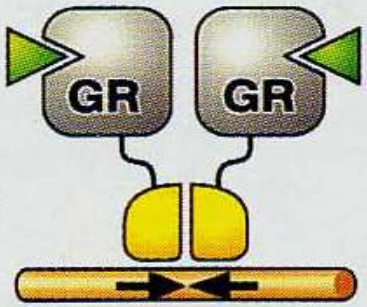
- Corticostéroïdes
- Minéralo-corticoïdes
- Stéroïdes sexuels
- Vit D
- H. Thyroïdienne
- NO

Liposolubilité

The nuclear receptor superfamily

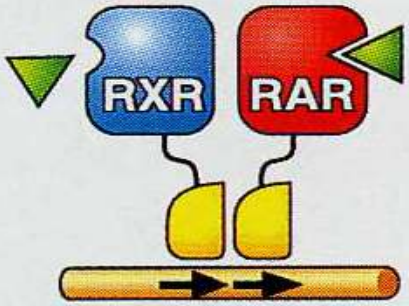


Steroid Receptors



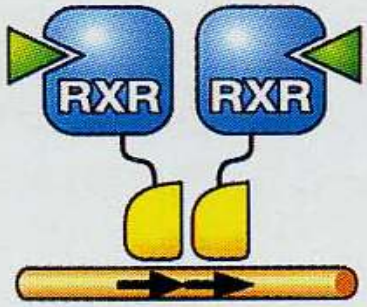
GR	*glucocorticoid*
MR	*mineralcorticoid*
PR	*progesterone*
AR	*androgen*
ER	*estrogen*

RXR Heterodimers



TRα,β	*thyroid hormone*
RARα,β,γ	*all-trans RA*
VDR	*1,25-(OH)$_2$-VD$_3$*
PPARα,β,γ	*eicosinoids*
EcR	*ecdysone*

Dimeric Orphan Receptors

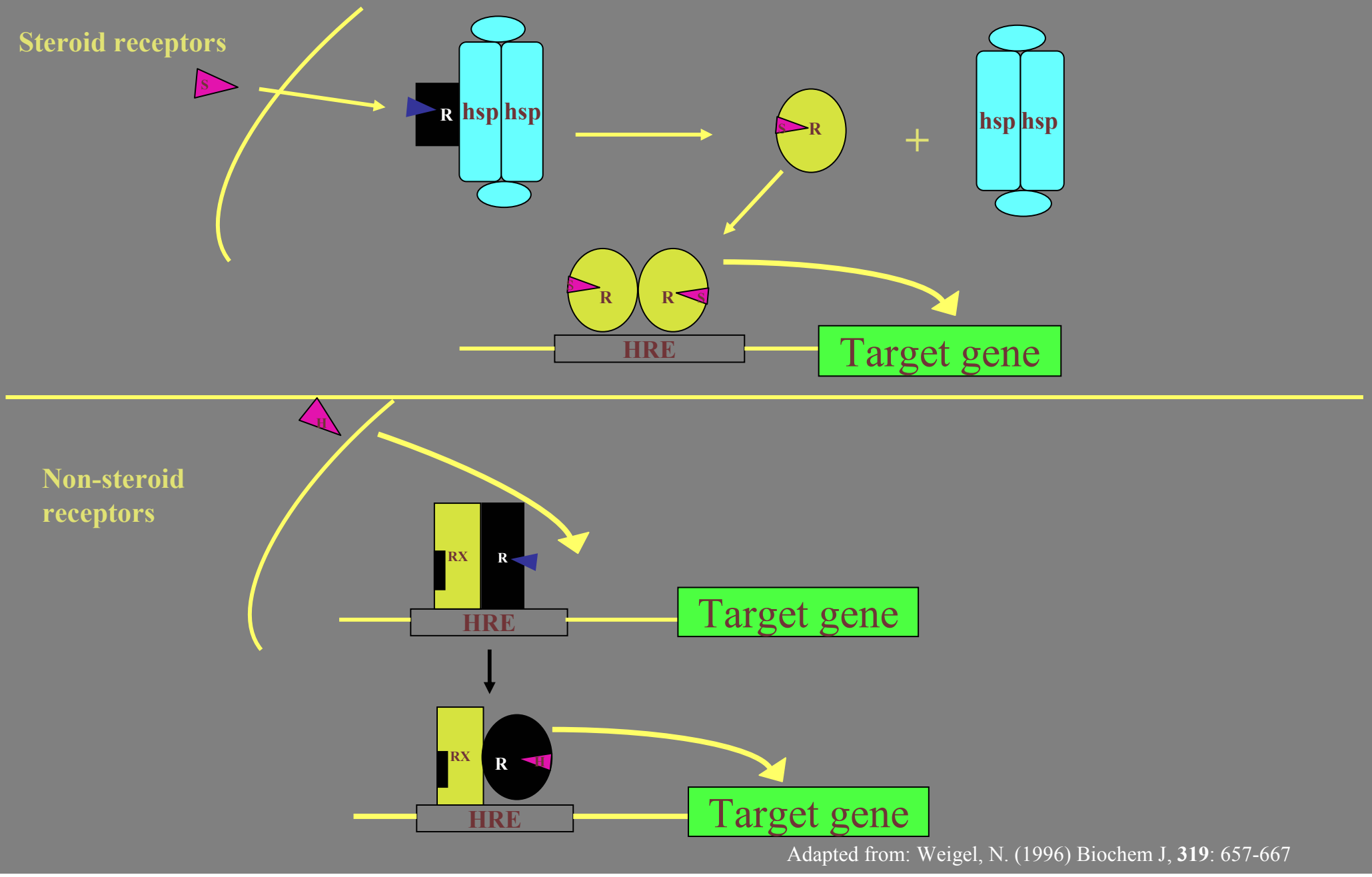


RXR (usp)	*9-cis RA*
COUP/ARP	*?*
HNF-4	*?*

Monomeric Orphan Receptors

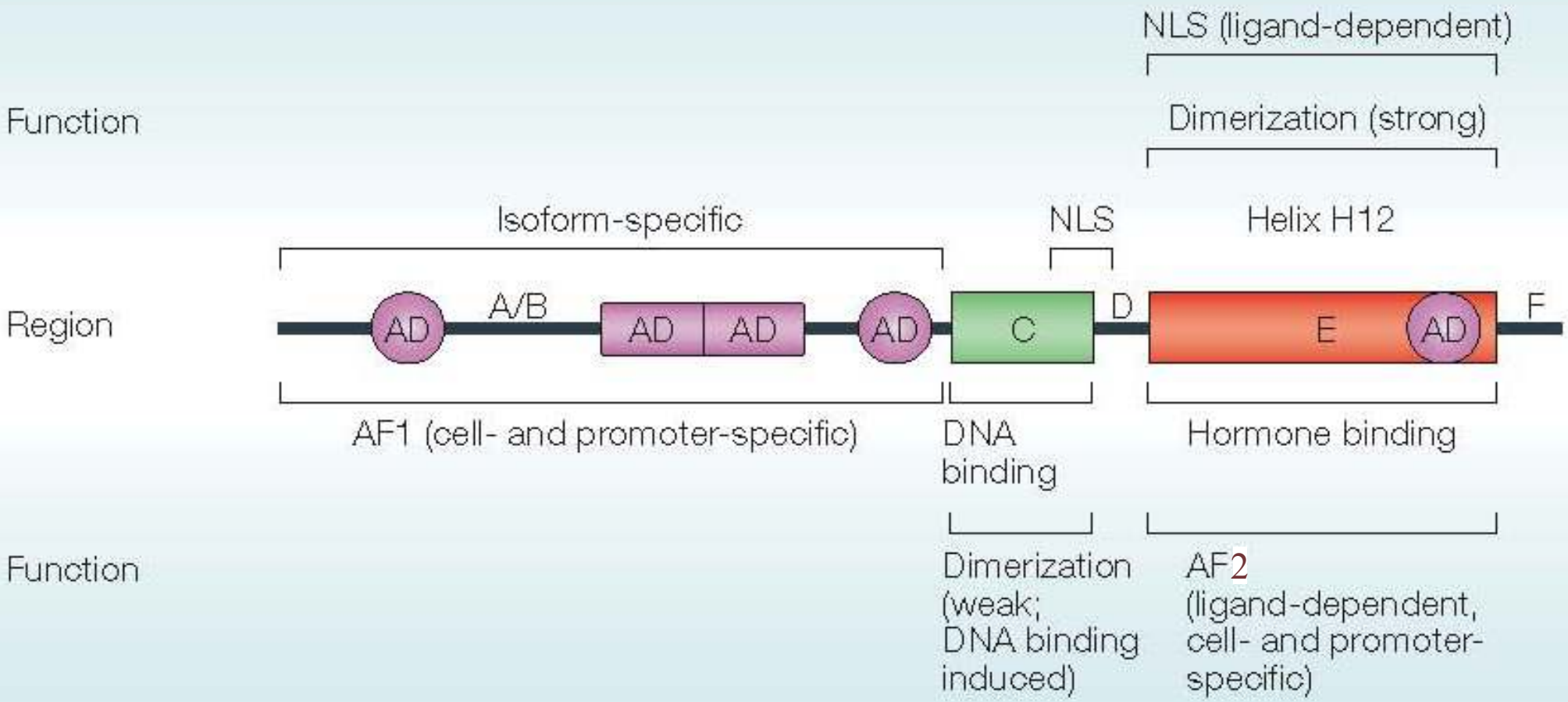
NGFI-B (CEB-1')	*?*
ELP / SF-1 (Ftz-F1)	*?*

Activation of steroid and non-steroid nuclear receptors



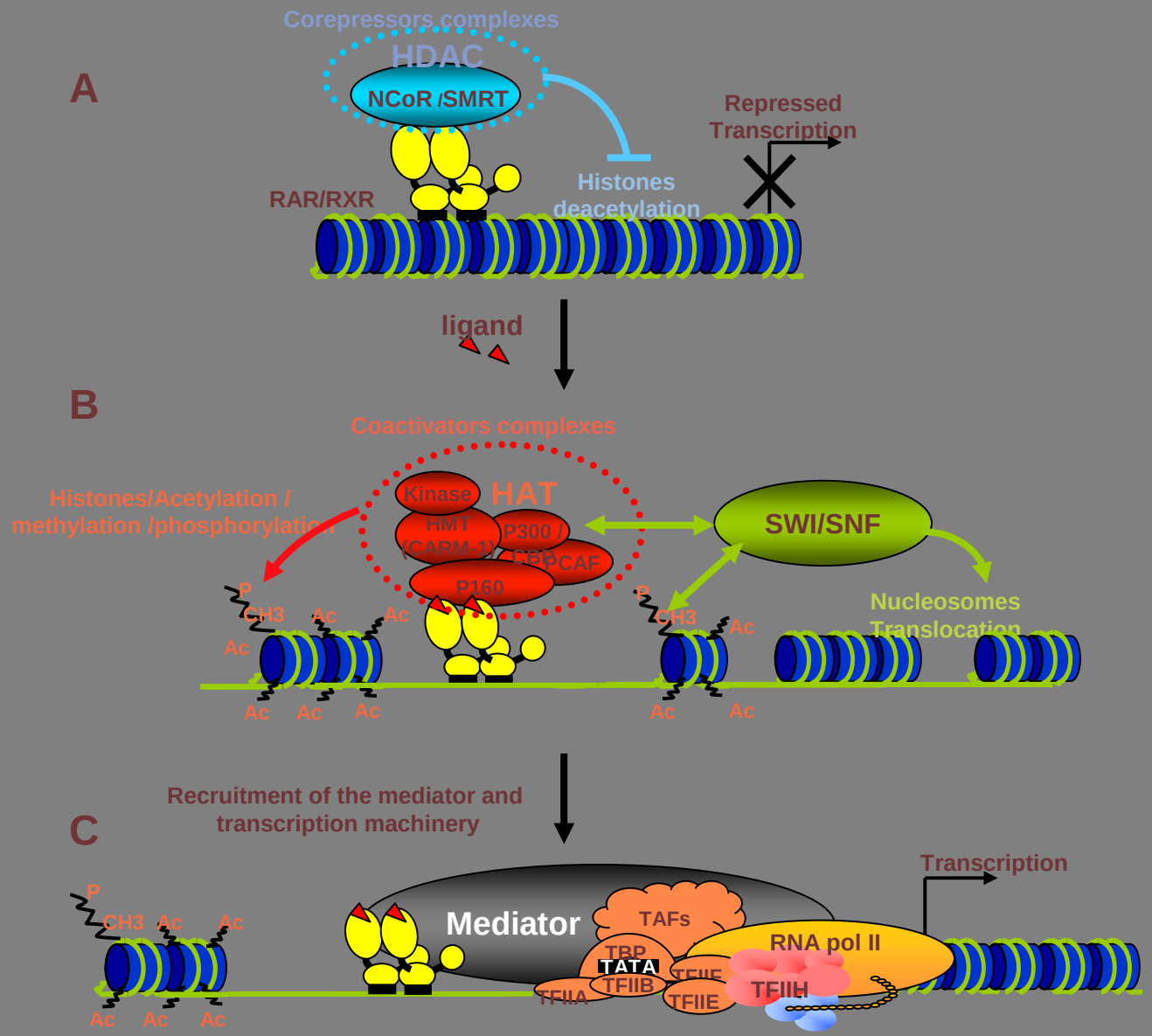
Adapted from: Weigel, N. (1996) Biochem J, **319**: 657-667

Domain structure of nuclear hormone receptors



Gronemeyer et al, (2004) Nat Rev Drug Discov **3**:950-964

Transcriptional repression and activation by nuclear receptors

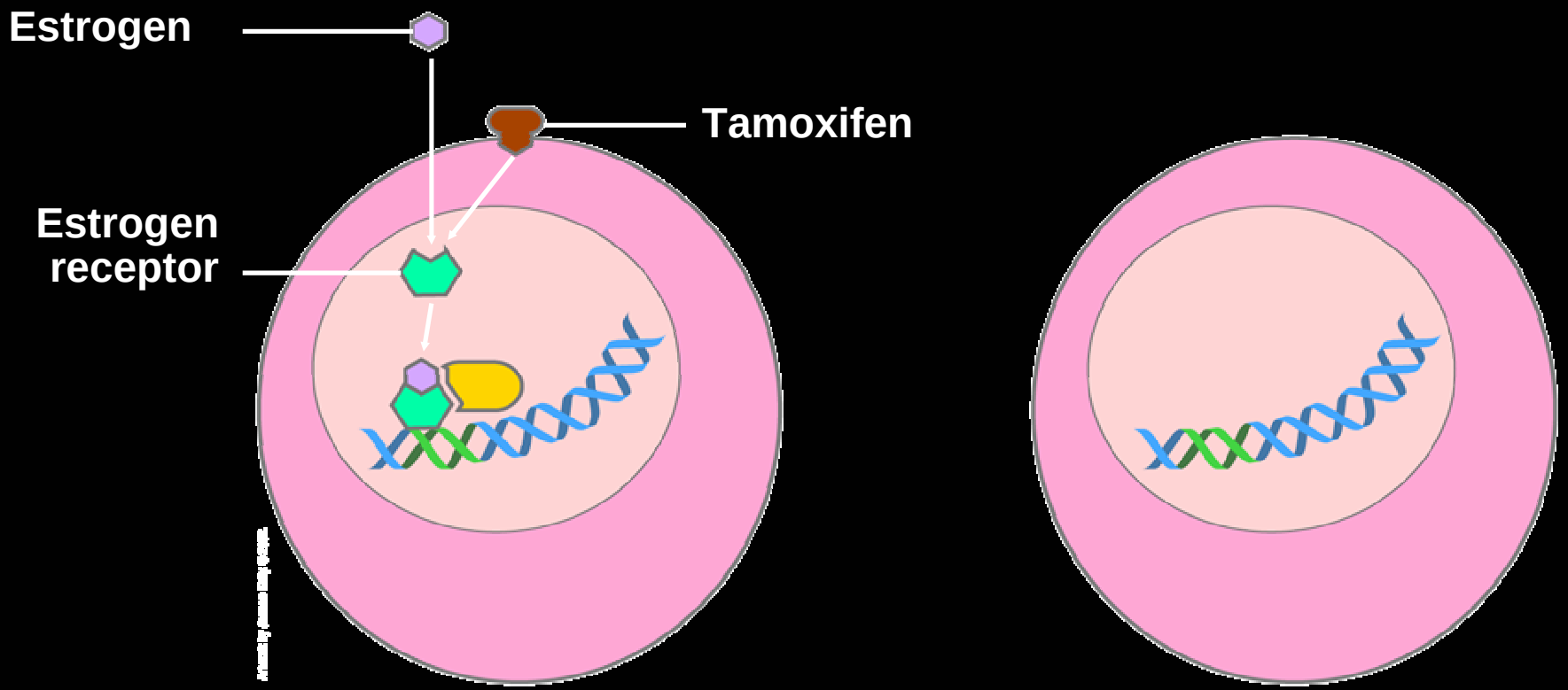


Bastein and Rochette-Egly (2004) Gene **328**, 1-16

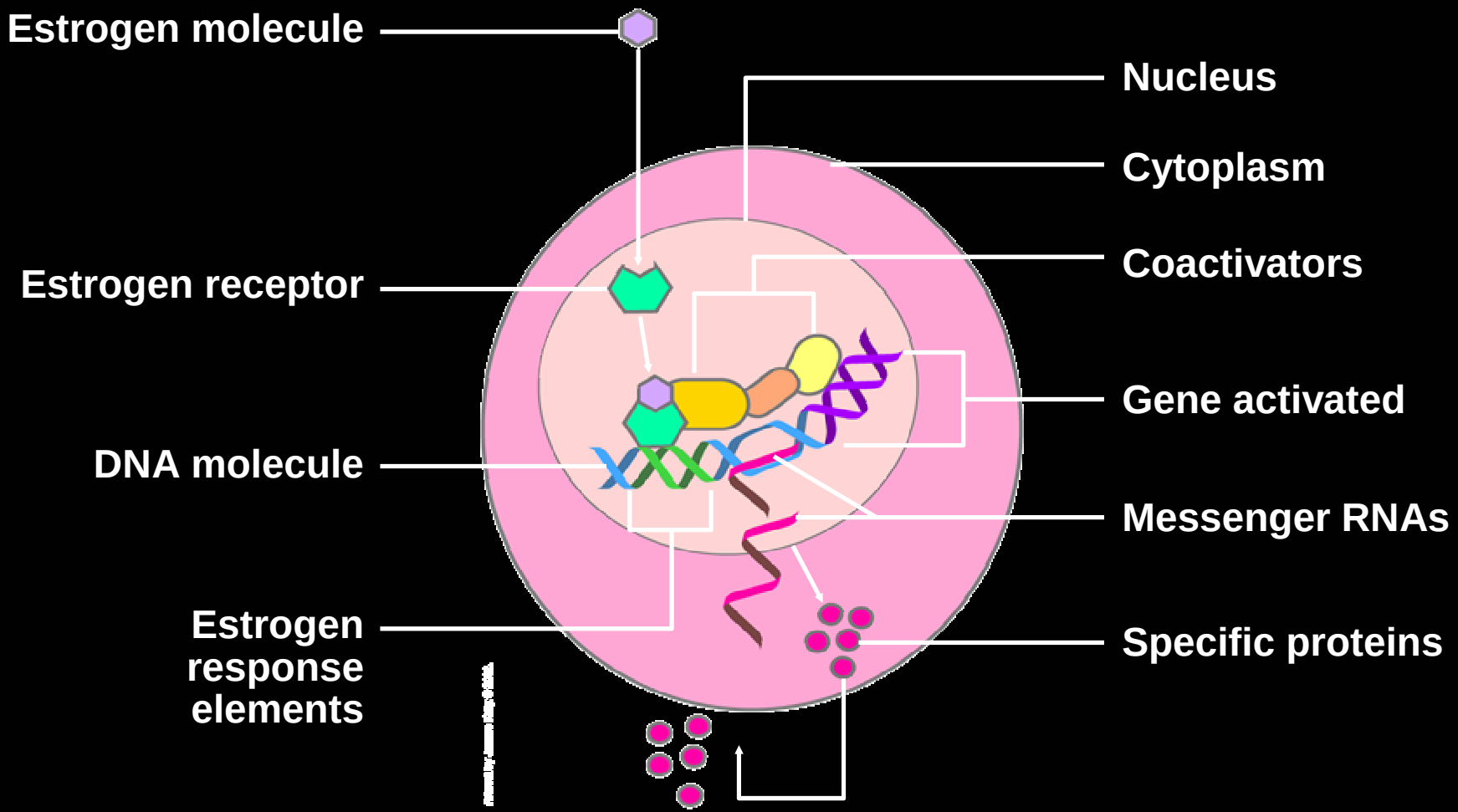
Estrogen Receptors

Estrogen target cell
(e.g., breast, uterine lining, liver, etc.)

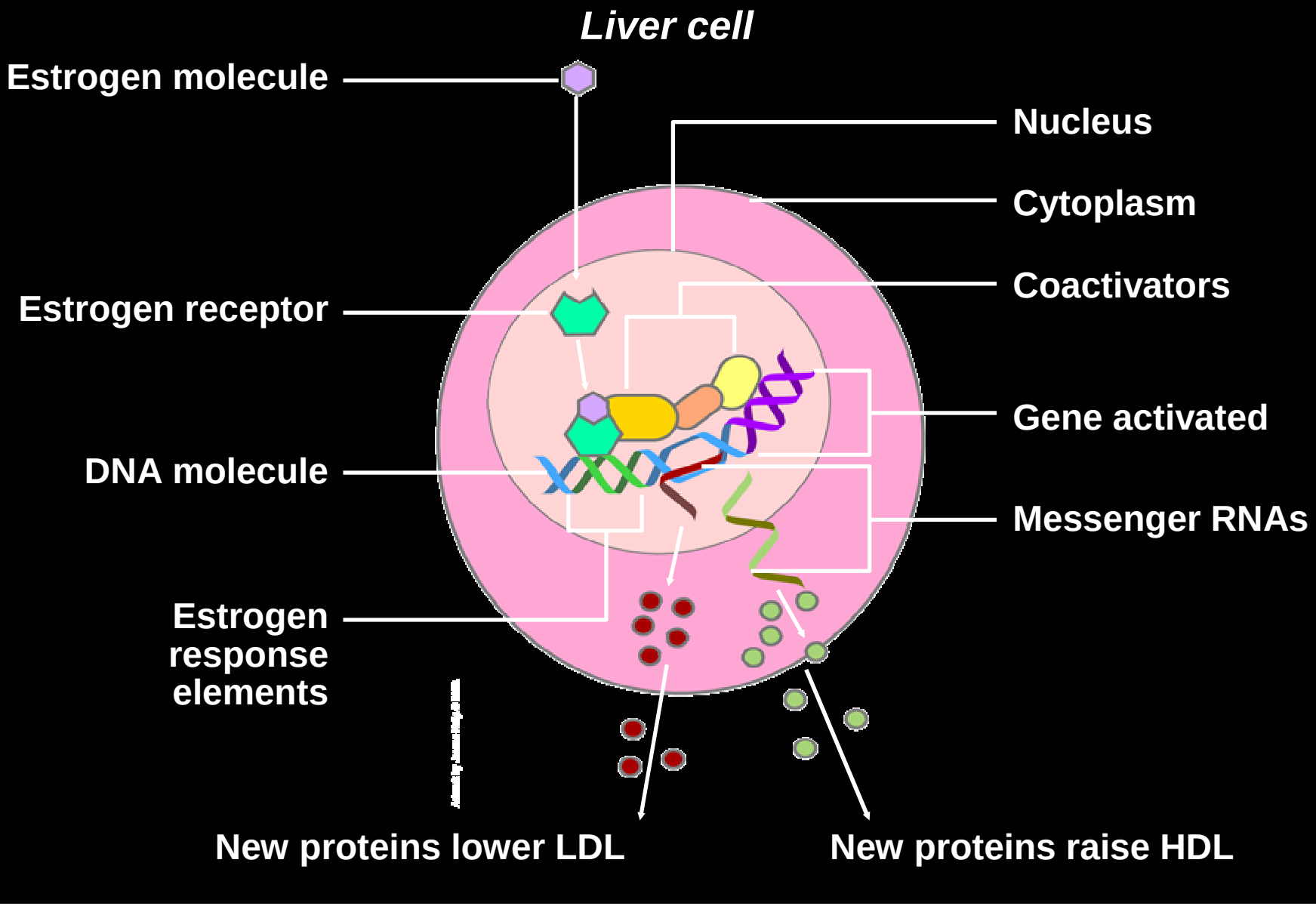
Non-target cell
(contains no estrogen receptor)



Estrogen Receptors Trigger Gene Activation



Estrogen-Induced Changes in Cell Behavior



Mode of Action of Estradiol

AF1 and AF2 = Transcription activation function
ER = Estrogen receptor
ERE = Estrogen response element

Wakeling AE et al. *Endocr Relat Cancer*. 2000;7:17-28.

Activation de la synthèse de protéines spécifiques

Activation de la croissance

Antagonisme par la liaison des anti-hormones