

**Préparation au concours de l'Internat**  
**Épreuve de PHARMACOLOGIE MOLÉCULAIRE : Révision 2024-2025**

Un laboratoire développe le 5-HOB, un nouveau médicament ciblant les récepteurs  $\beta$ -adrénergiques ( $\beta$ 1-AR,  $\beta$ 2-AR). Les propriétés du 5-HOB sont comparées à celles du formotérol, un médicament utilisé dans l'asthme.

Dans un premier temps, les chercheurs ont utilisé des cellules CHO (cellules ovariennes de hamster) exprimant spécifiquement le récepteur  $\beta$ 1-AR (CHO  $\beta$ 1-AR) ou le récepteur  $\beta$ 2-AR (CHO  $\beta$ 2-AR) et avaient à disposition du [<sup>125</sup>I]-*Iodocyanopindolol* (ICYP), un ligand non sélectif des récepteurs  $\beta$ -ARs. Ils ont réalisé plusieurs expériences et ont obtenu les résultats suivants (Tableau 1).

Tableau 1 : Valeurs de Bmax, de Ki du formotérol et de Ki du 5-HOB obtenues dans les cellules CHO  $\beta$ 1-AR et les cellules CHO  $\beta$ 2-AR.

	Bmax (fmol/mg)	Ki Formotérol (M)	Ki 5-HOB (M)
CHO $\beta$ 1-AR	72,5	$9 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-7}$
CHO $\beta$ 2-AR	82,3	$1,5 \cdot 10^{-9}$	$9 \cdot 10^{-9}$

**Q1 : Définissez les paramètres Bmax et Ki. Expliquez le principe des expériences permettant de les déterminer. 4pts**

Bmax = densité maximale de récepteurs dans la préparation, obtenu avec une étude liaison ligand récepteur de saturation. 1pt

On mesure la liaison spécifique du radioligand (ICYP) appliqué à dose croissantes. La valeur de Bmax correspond au plateau de saturation. La liaison spécifique est obtenue en soustrayant la liaison non spécifique de la liaison totale. La liaison non spécifique est obtenue avec une utilisation du ligand froid (CYP) à concentration élevée. 1pt

Ki = constante d'inhibition obtenue avec une étude liaison ligand récepteur de compétition, il traduit l'affinité du ligand froid pour un récepteur 1pt

Des concentrations croissantes de ligand froid déplacent une concentration fixe de radioligand (ICYP) lié de façon spécifique à un récepteur. Cette liaison spécifique est obtenue de la même manière que dans une expérience de saturation (excès de ligand froid pour déterminer la liaison non spécifique).

On détermine ainsi la CI50 = concentration de ligand déplaçant 50% de radioligand à partir de la CI50 on détermine alors Ki par l'équation de Cheng-Prusoff = CI50 / [ 1+ [ICYP]/Kd<sub>ICYP</sub>] 1pt

**Q2 : Analysez les valeurs de Ki obtenues dans cette étude et concluez sur les propriétés pharmacologiques du formotérol et du 5-HOB. 2pts**

- Formotérol et 5-HOB ont une **affinité** pour les R  $\beta$ -AR 1pt

Pour  $\beta$ 1-AR : formotérol a Ki 10x plus faible que 5-HOB, donc formotérol est le plus affiné car + le Ki est petit meilleur est l'affinité du ligand

Pour  $\beta$ 2-AR : formotérol a Ki 6x plus faible que 5-HOB, donc formotérol est un peu plus affiné

- **Sélectivité** pour les R : 1pt

Pour Formotérol : Ki  $\beta$ 1-AR est 60x supérieur à Ki  $\beta$ 2-AR, donc formotérol a une affinité supérieure pour  $\beta$ 2-AR, avec une sélectivité moyenne

Pour 5-HOB :  $K_i$   $\beta_1$ -AR est 100x supérieur à  $K_i$   $\beta_2$ -AR, donc 5-HOB est sélectif pour  $\beta_2$ -AR versus  $\beta_1$ -AR

Les chercheurs ont ensuite évalué les effets du formotérol et du 5-HOB sur la concentration intracellulaire d'AMPC dans deux types cellulaires différents, des cellules musculaires lisses bronchiques riches en récepteurs  $\beta_2$ -AR et des cardiomyocytes riches en récepteurs  $\beta_1$ -AR. Les résultats sont présentés dans la Figure 1.

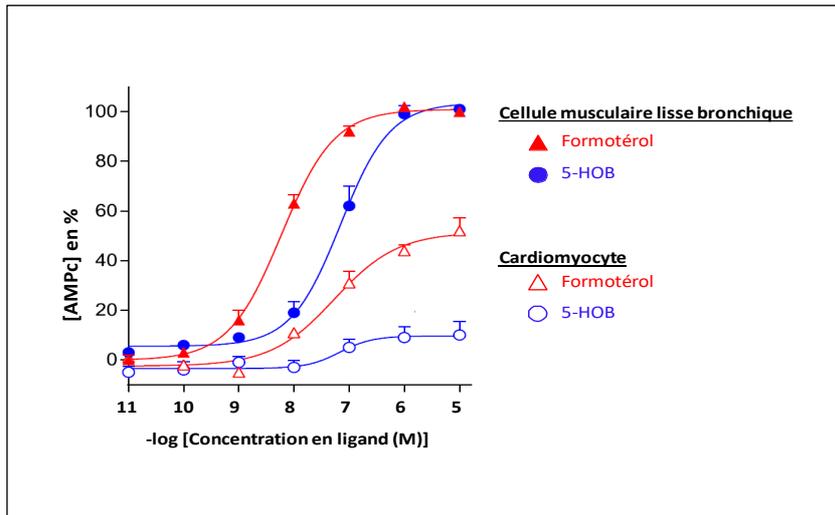


Figure 1 : Effets de concentrations croissantes de Formotérol (triangles rouges) et de 5-HOB (ronds bleus) sur la concentration intracellulaire en AMPC, dans des cellules musculaires lisses bronchiques (symboles pleins) et dans des cardiomyocytes (symboles vides). L'effet est exprimé en % de la réponse induite par l'isoprénaline (agoniste  $\beta$ -AR de référence) dans chaque type cellulaire.

**Q3 : Nommez et définissez le(s) paramètre(s) pharmacologique(s) qui peu(ven)t être déterminé(s) sur cette Figure 1. Donnez une valeur approximative de ce(s) paramètre(s) pour chacune des molécules pour la cellule musculaire lisse bronchique et le cardiomyocyte 3pts**

**Emax** = l'effet maximal induit par un agoniste, qui traduit son efficacité

**CE50** = concentration d'agoniste induisant 50% de sa réponse maximale, traduit la puissance d'un agoniste sur un R 1pt

	CE50	Emax
CML bronchique :		
Formotérol	$5 \cdot 10^{-9}$ M	100%
5-HOB	$5 \cdot 10^{-8}$ M	100% 1pt

**CARDIOMYOCYTE :**

Formotérol	$5 \cdot 10^{-8}$ M	50%
5-HOB	$10^{-7}$ M	10% 1pt

**ATTENTION SI OUBLIE D'UNITE à la CE50 : 0 pts**

**Q4 : A partir de ces données de la figure 1, concluez sur les propriétés pharmacologiques du formotérol et du 5-HOB, et comparez ces deux ligands entre eux 2pts**

Formotérol et 5-HOB sont des agonistes des récepteurs  $\beta$ -AR (induisent une réponse cellulaire)  
 Dans la CML bronchique, Formotérol et 5-HOB sont des agonistes entiers (efficacité maximale) et le formotérol est plus puissant que le 5-HOB. 1pt

Dans le cardiomyocyte, Formotérol et 5-HOB sont des agonistes partiels : activité intrinsèque  $\alpha=0,5$  pour le formotérol et  $0,1$  pour 5-HOB. Le formotérol est plus efficace que 5-HOB. Mais ils ont une puissance assez proche. 1pt

**Q5 : Quel serait l'effet de la toxine cholérique sur cette réponse au formotérol dans la cellule musculaire lisse bronchique ? Justifiez votre réponse en précisant le mécanisme d'action de cette toxine. 3pts**

La CTX induit une ADP-ribosylation de la protéine Gs 1pt lorsqu'elle est liée au GTP et bloque ainsi son activité GTPasique. Elle est maintenue activée et stimule donc ainsi l'AC. Les concentrations d'AMPc augmentent fortement 1pt. Dans la CML elle active la PKA qui va ainsi inhiber la MLCK et induire ainsi donc une bronchorelaxation très importante 1pt

**Q6 : En conclusion, le 5-HOB vous semble-t-il être un médicament prometteur dans le traitement de l'asthme ? Justifiez votre réponse. 3pts**

Oui, 5-HOB est un agoniste  $\beta$ 2-AR entier donc effet bronchodilatateur bénéfique. 1pt  
Il est moins puissant que formotérol, mais il est plus sélectif pour le récepteur  $\beta$ 2-AR versus  $\beta$ 1-AR et une faible efficacité dans le cardiomyocyte. 1pt

donc intérêt potentiel pour limiter les effets indésirables cardiaques. (l'AMPc engendre une contraction du cardiomyocyte via la phosphorylation de CavL par la PKA. 1pt

**Q7 : Le propranolol et le sotalol ont des valeurs de pA2 respectivement de 9 et de 4,8 pour le récepteur Beta 2. Définissez ce paramètre ? Que vous permet-il de conclure sur la nature du propranolol et du sotalol ? Comparez les deux molécules. 3pts**

pA2 = -log de la concentration d'antagoniste en présence de laquelle il faut doubler la concentration d'agoniste pour obtenir le même effet qu'en l'absence d'antagoniste. 1pt  
Si la pA2 est déterminée c'est qu'il s'agit d'antagonistes compétitifs réversibles 1pt  
Le propranolol est plus puissant que le sotalol (environ  $10^4$ X) 1pt + la pA2 est grande, plus l'antagoniste est puissant.