

[E1-2004N] EXERCICE N°1 (40 POINTS) :

ENONCE

Une céphalosporine de 3^e génération est administrée par voie IM à la dose de 1g.

Le pic sérique est égal à $24\mu\text{g.mL}^{-1}$ (C_{max}).

A partir de ce C_{max} , la cinétique sérique suit une fonction mono exponentielle.

Le temps de $\frac{1}{2}$ vie d'élimination sérique = 1h.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de la plupart des germes sensibles à cet antibiotique est inférieure à $0,5\mu\text{g.mL}^{-1}$

QUESTION N°1 : Pendant combien de temps après l'obtention du pic sérique, la dose de 1g par voie IM permettra-t'elle de se maintenir au dessus de cette CMI ?

QUESTION N°2 : Sachant que le volume apparent de distribution (Vd) pour cet antibiotique est égal à 22,5 L , calculer la valeur de la clairance sérique totale CL de cette céphalosporine.

QUESTION N°3 : Par voie IV, la cinétique sérique de cette céphalosporine suit un modèle d'élimination monocompartimental ouvert.

Quelle sera la dose d'antibiotique à administrer par voie IV rapide pour obtenir immédiatement la concentration de $10\mu\text{g.mL}^{-1}$

QUESTION N°4 : Cet antibiotique est administré en perfusion IV continue. Quelle sera la vitesse de perfusion nécessaire pour obtenir une concentration sérique d'état d'équilibre (C_{eq}) stable et égale à $10\mu\text{g.mL}^{-1}$

REPONSES EXERCICE N° 1 [E1-2004N] (40 points)

REPONSE QUESTION N° 1 :

$$T_{1/2 \text{ el s\u00e9rique}} = (L_n 2) / k_{el} \quad \text{avec } k_{el} = \text{constante de vitesse d'\u00e9limination s\u00e9rique}$$

$$\text{donc } k_{el} = (L_n 2) / (T_{1/2 \text{ el s\u00e9rique}}) = 0,693 \text{ h}^{-1}$$

$$CMI = C_{\max} e^{-k_{el} t} \quad \Rightarrow \quad 0,5 \mu\text{g.mL}^{-1} / 24 \mu\text{g.mL}^{-1} = e^{-0,693 \text{ h}^{-1} t}$$

$$L_n (0,5 / 24) = L_n e^{-0,693 \text{ h}^{-1} t} \quad \Rightarrow \quad 3,871 = 0,693 \text{ h}^{-1} t$$

$$3,871 / 0,693 \text{ h}^{-1} = 5,59 \text{ h (temps maintenu au dessus de la CMI par une IM d'1g.)}$$

REPONSE QUESTION N° 2 :

$$CL = V_d \times k_{el} \quad \Rightarrow \quad CL = 22,5 \text{ L} \cdot 0,693 \text{ h}^{-1} = 15,6 \text{ L.h}^{-1}$$

REPONSE QUESTION N° 3 :

$$C_o = D_{IV} / V_{ID} \text{ en mod\u00e8le monocompartimental } V_{ID} = V_d \text{ (avec } V_{ID}, \text{ volume initial de distribution)}$$

$$\text{donc } C_o = D_{IV} / V_d \quad \text{d'o\u00f9} \quad D_{IV} = V_d \cdot C_o$$

$$D_{IV} = 22,5 \text{ L} \cdot 10 \text{ mg.L}^{-1} = 225 \text{ mg}$$

REPONSE QUESTION N° 4:

$$\text{A l'\u00e9tat d'\u00e9quilibre } V_{\text{perf}} = V_{\text{\u00e9limination}} = CL \cdot C_{\text{eq}}$$

$$15,6 \text{ L.h}^{-1} \times 10 \text{ mg.L}^{-1} = 156 \text{ mg.h}^{-1}$$

[E2-2004N] EXERCICE N°2 (40 POINTS) :

Après administration IV de morphine, 2 métabolites glucuroconjugués sont principalement retrouvés dans le plasma : la M3G et la M6G. Les propriétés pharmacologiques de la morphine et de ses 2 métabolites ont été comparées lors d'études de liaison à l'équilibre aux récepteurs opioïdes μ , et lors de la détermination de leur activité antinociceptive *in vivo*.

I-ETUDES DE LIAISON A L'EQUILIBRE :

Des études d'inhibition de la ^3H -naloxone à la concentration de 2 nM par des concentrations croissantes de morphine, de M3G et de M6G ont été réalisées sur une lignée cellulaire surexprimant le récepteur opioïde μ . Les courbes de compétition obtenues sont présentées sur la figure 1.

La constante de dissociation de la ^3H -naloxone (K_D) vis-à-vis du récepteur opioïde μ est de 1 nM.

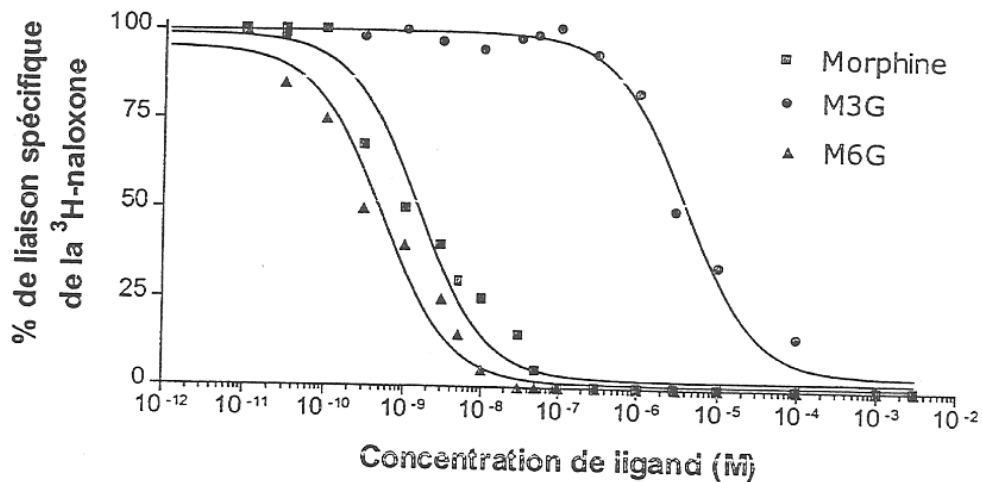


Figure 1 : Courbes d'inhibition compétitive de la liaison de la ^3H -naloxone par la morphine, la M3G et la M6G

QUESTION N°1 : Déterminer la CI_{50} et le K_i de la morphine, de la M3G et de la M6G et commenter ces résultats.

II- ACTIVITE ANTINOCICEPTIVE CHEZ LA SOURIS APRES ADMINISTRATION INTRACEREBRALE

Le test de la plaque chauffante met en jeu une stimulation nociceptive d'origine thermique.

La figure 2 présente l'activité antinociceptive de la morphine et de la M6G administrées par voie intracérébrale chez la souris, dans le test de la plaque chauffante. L'effet de doses croissantes de ces composés a été déterminé en l'absence et en présence d'une dose unique de naloxone.

Dans ce test, la M3G est dépourvue d'activité antinociceptive.

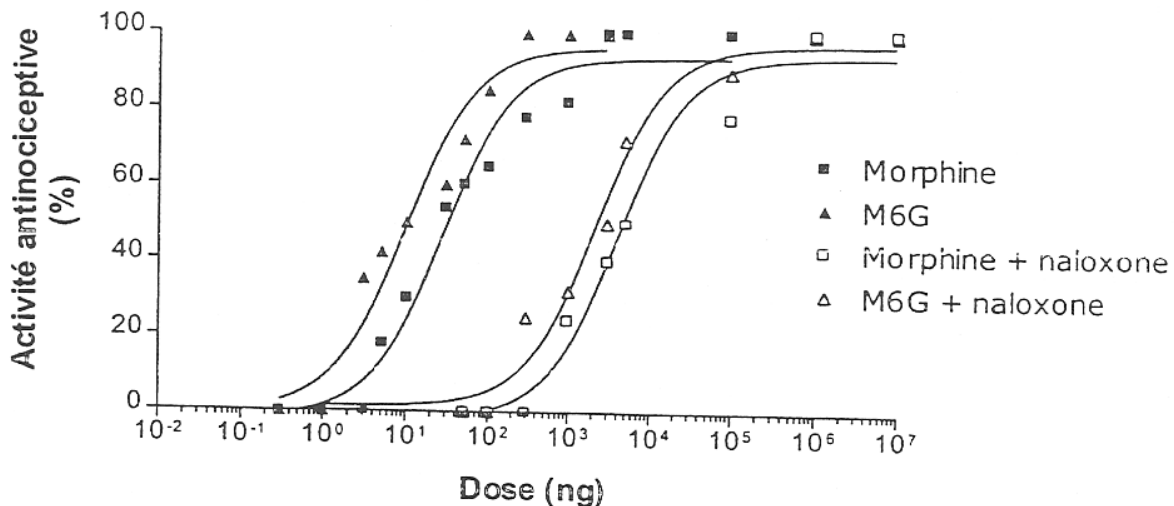


Figure 2 : Activité antinociceptive dans le test de la plaque chauffante chez la souris de la morphine et de la M6G en l'absence ou en présence d'une dose unique de naloxone. Les molécules ont été administrées par voie intracérébrale et l'activité antinociceptive a été déterminée 30 min après l'injection.

QUESTION N°2 : Déterminer les DE_{50} de la morphine et de la M6G en l'absence et en présence de naloxone. Commenter ces résultats en tenant compte de la question 1.

QUESTION N°3 : De quel type d'antagonisme la naloxone est-elle responsable vis à vis des effets de la morphine et de la M6G. Justifier votre réponse au vu de la figure 2.

III - ACTIVITE ANTINOCICEPTIVE CHEZ LA SOURIS APRES ADMINISTRATION SOUS-CUTANEE

Les cinétiques des activités antinociceptives de la morphine, de la M3G, et de la M6G ont été évaluées chez la souris, après administration sous-cutanée d'une dose de 1 mg/kg de chacun de ces composés, dans le test de la plaque chauffante. Les résultats sont présentés sur la figure 3.

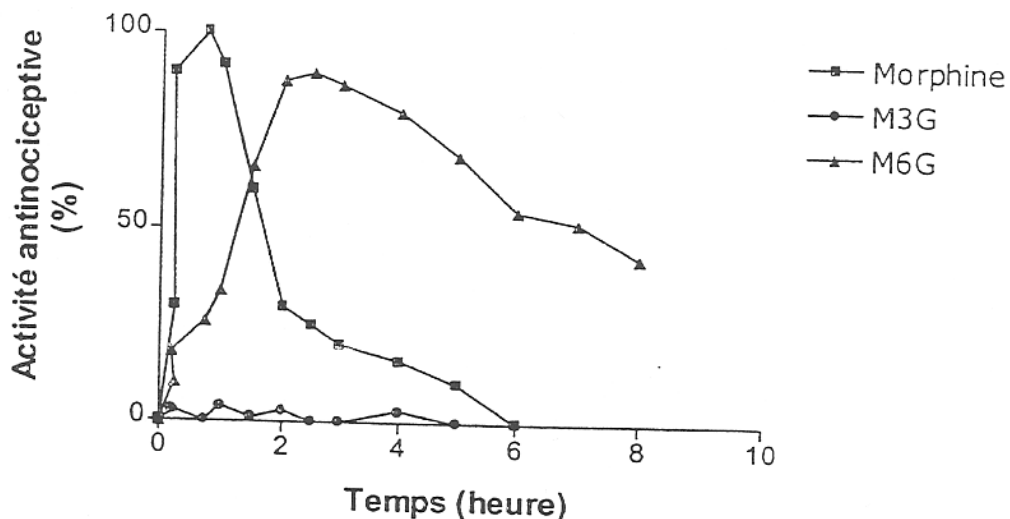


Figure 3 : Cinétique de l'activité antinociceptive de la morphine, de la M3G et de la M6G administrées par voie sous-cutanée chez la souris.

QUESTION N°4 : Expliquer les différences de cinétique d'effet de la morphine, de la M3G et de la M6G.

REPONSES EXERCICE N° 2 [E2-2004N] (40 points)

REPONSE QUESTION N° 1 : La CI_{50} est la concentration en ligand froid nécessaire pour inhiber 50 % de la liaison spécifique du radioligand au récepteur μ . La valeur de la CI_{50} est déterminée graphiquement.

Pour la morphine: $CI_{50} = 1,4 \text{ nM}$ (= 1 à 2 nM)

Pour la M6G : $CI_{50} = 0,5 \text{ nM}$ (= 0,2 à 0,7 nM)

Pour la M3G : $CI_{50} = 4 \mu\text{M}$ (= 2 à 6 μM)

Le K_I représente l'affinité apparente de la molécule froide pour le récepteur. La valeur du K_I est obtenue par calcul et dépend de la CI_{50} de la molécule froide, de la concentration en ligand chaud libre, la naloxone (F, ici 2 nM) et de son K_D pour le récepteur (ici 1 nM). Le K_I est calculé par l'équation de Cheng et Prusoff:

$$K_I = (CI_{50}) / (1 + (F/K_D))$$

Pour la M6G : $K_I = 0,2 \text{ nM}$

Pour la morphine: $K_I = 0,5 \text{ nM}$

Pour la M3G : $K_I = 1,3 \mu\text{M}$

Plus la valeur du K_I est faible, meilleure est l'affinité de la molécule pour le récepteur. Ainsi la morphine et la M6G ont une affinité similaire pour le récepteur μ et c'est une bonne affinité, tandis que la M3G a une mauvaise affinité pour le récepteur μ car le K_I est plus de 2.500 fois plus élevé.

N.B : Les candidats peuvent faire le même commentaire à partir des seules valeurs de CI_{50} (i.e., plus la valeur de CI_{50} est faible, meilleure est l'affinité), puisque les conditions expérimentales sont les mêmes.

REPONSE QUESTION N° 2 : La DE_{50} est déterminée graphiquement sur une courbe effet-dose et représente la dose qui entraîne 50 % de l'effet maximal. Plus la valeur de la DE_{50} est faible plus la puissance de la molécule est élevée.

Pour la M6G : $DE_{50} = 10 \text{ ng}$

Pour la morphine: $DE_{50} = 25 \text{ ng}$

En présence de naloxone : pour la M6G : $DE_{50} = 2 \mu\text{g}$

En présence de la naloxone : pour la morphine: $DE_{50} = 4 \mu\text{g}$

En présence de naloxone, la DE_{50} de la M6G est augmentée d'un facteur 200 et celle de la morphine d'un facteur 150. Sachant que la naloxone est un antagoniste des récepteurs μ et que la M6G et la morphine se lient avec une haute affinité sur ce type de récepteur (**REPONSE QUESTION 1**), on en déduit que ces deux molécules sont des agonistes des récepteurs μ et que l'activation de ces récepteurs provoque un effet analgésique. Les puissances des molécules sont similaires.

REPONSE QUESTION N° 3 : Il s'agit d'un antagonisme compétitif. Sous l'effet de la naloxone, il y a un déplacement des courbes d'activité de la morphine et de la M6G vers la droite. L'activité maximale de la morphine et de la M6G est conservée. Par contre la puissance est diminuée.

REPONSE QUESTION N° 4 : La M3G n'a pas d'activité antinociceptive après administration systémique ce qui est en accord avec son absence d'effet après administration intracérébrale.

La M6G et la morphine entraînent un effet analgésique après administration systémique. Cependant les cinétiques d'effet de ces deux molécules sont différentes. L'effet de la morphine apparaît rapidement (maximum de l'effet à 1h environ) mais ne dure pas longtemps, tandis que l'effet de la M6G apparaît plus tardivement (maximum de l'effet à 2h environ) mais perdure (50 % de l'effet maximal 8h après administration de M6G). Ces deux molécules ont une affinité similaire pour le récepteur μ et une activité analgésique semblable après administration intracérébrale. On en déduit que si l'effet de ces deux molécules est un effet central, la morphine atteint plus rapidement que la M6G les récepteurs μ du système nerveux central (probablement en raison de sa plus grande lipophilie). Contrairement à la M6G, l'effet de la morphine ne dure pas car elle est probablement dégradée en un métabolite inactif qui est très certainement la M3G. Autrement dit la M3G représente le métabolite majoritaire de la morphine et il est dépourvu d'effet antinociceptif. A l'inverse la M6G est un

métabolite minoritaire de la morphine mais il est pourvu d'une bonne activité analgésique.

[E3-2004N] EXERCICE N°3 (40 POINTS) :

ENONCE

Le rendement maximal d'une extraction simple de 100mL de solution aqueuse d'un monoacide organique XH par 10mL de dichlorométhane est de 63%.

QUESTION N°1 : Quel est le coefficient de partage de XH.

QUESTION N°2 : Quel serait le rendement maximal si l'on extrayait 100mL de solution de XH par 18 mL de dichlorométhane ?

QUESTION N°3 : Calculer le rendement théorique si l'on extrait 100mL de XH par trois fois 6mL de dichlorométhane.

QUESTION N°4 : Le pK_a de ce monoacide organique étant de 5,25, à quelle condition devra répondre le pH de la solution pour que l'extraction offre le rendement maximal.

QUESTION N°5 : Après extraction, comme décrit dans le début de l'énoncé, on procède au dosage de XH restant dans la phase aqueuse sur une prise d'essai de 10 mL. Pour cela, on titre par une solution d'hydroxyde de sodium 0,0096 M en présence de phénolphaléine. On trouve une chute de burette de 17,70 mL.

Déterminer la concentration initiale de la solution de XH.

REPONSES EXERCICE N° 3 [E3-2004N] (40 points)

REPONSE QUESTION N° 1 : Soit P le coefficient de partage = $C_{\text{org}} / C_{\text{aq}}$
Soit α (alpha) le coefficient de partage corrigé : $\alpha = Q_{\text{org}} / Q_{\text{aq}} = P (V_{\text{org}} / V_{\text{aq}})$

Soit le rendement $R = Q_{\text{org}} / Q_{\text{totale}} \text{ initiale} \Rightarrow R = 0,63 = \alpha / (1+\alpha) \Rightarrow \alpha = 1,703$

(ou bien $Q_{\text{org}} = 0,63 Q_t$. $Q_{\text{aq}} = 0,37 Q_t$)

$1,703 = P . (10 / 100) \Rightarrow P = 17,03$

REPONSE QUESTION N° 2 : $V_{\text{aq}} = 100 \text{ mL}$, $V_{\text{org}} = 18 \text{ mL}$

$\alpha_2 = 17,03 . (18 / 100) = 3,065$

$R = \alpha_2 / (1 + \alpha_2) = 0,754$ soit 75,4 %

REPONSE QUESTION N° 3 : $V_{\text{aq}} = 100 \text{ mL}$, $V_{\text{org}} = 6 \text{ mL} \times 3$

$\alpha_3 = 17,03 \times (6 / 100) = 1,022$

Il s'agit d'une extraction répétée 3 fois. : $R = 1 - (1 / (1+ \alpha_3)^3)$

$R = 0,879$ soit 87,9 %

REPONSE QUESTION N° 4: La forme extractible est la forme protonée XH, en solution aqueuse.

$\text{XH} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{X}^- + \text{H}_3\text{O}^+$ où $(\text{X}^-) = ((\text{X}) . 10^{-5,25}) / (\text{H}_3\text{O}^+)$

pour que le rendement de l'extraction soit minimal, il faut que (X^-) soit négligeable devant (X) ,

c'est-à-dire $(\text{X}^-) < 10^{-2} (\text{X}) \Rightarrow (10^{-5,25}) / (\text{H}_3\text{O}^+) = (\text{X}^-) / (\text{H}_3\text{O}^+) < 10^{-2}$

$(\text{H}_3\text{O}^+) > 10^{-3,25} \text{ M} \Rightarrow \text{pH} < 3,25$

REPONSE QUESTION N° 5 :

Concentration de la phase aqueuse: $10 . C_{\text{aq}} = 17,7 \times 0,0096 \text{ M}$ $C_{\text{aq}} = 0,017 \text{ M}$

Quantité de X dans les 100 mL de phase aqueuse à l'équilibre

$1,7 \text{ mmol} = 0,37 Q_0$

$Q_0 = 4,59 \text{ mmol}$ dans 100 mL.

Concentration initiale de la solution de XH = $4,59 \cdot 10^{-2} \text{ M}$

[E4-2004N] EXERCICE N°4 (40 POINTS) :**ENONCE**

Pour tous les tests choisir un risque égal à 5%. Dans le cadre d'une enquête sur la pollution de l'eau potable, on effectue différents contrôles de qualité.

QUESTION N°1 : L'eau potable doit avoir une concentration en ions ammonium inférieure à 0,5 mg.L⁻¹. A la suite d'une purification par un procédé chimique (traitement 1), un dosage des ions ammonium sur 50 prélèvements a donné pour moyenne $x_1=0,459$ mg.L⁻¹ et pour écart-type $s_1=0,108$ mg.L⁻¹.

Le résultat obtenu après traitement est-il inférieur à la norme ?

QUESTION N°2 : A la suite d'un procédé biologique (traitement 2), un dosage des ions ammonium sur 50 prélèvements a donné pour moyenne $x_2=0,418$ mg.L⁻¹ et pour écart-type $s_2=0,122$ mg.L⁻¹. Les traitements 1 et 2 ont-ils des effets différents ?

QUESTION N°3 : On effectue 200 prélèvements dans trois zones différents et on dénombre le nombre de prélèvements pollués par des bactéries coliformes. La présence de ces bactéries étant indicatrice de contamination pouvant causer des maladies intestinales. Les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

	Zone 1	Zone 2	Zone 3
Présence de bactéries	4	18	10
Absence de bactéries	36	52	80

Les trois zones diffèrent-elles quant à la proportion de prélèvements pollués par les bactéries ?

QUESTION N°4 : On mesure la concentration en chlorures et en sulfates de 10 échantillons d'eau du robinet. Les résultats des analyses sont donnés ci-dessous :

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chlorures	102	128	53	48	122	85	64	72	168	26
Sulfates	52	69	128	86	163	136	65	156	203	61

Calculer le coefficient de corrélation linéaire entre les deux paramètres physicochimiques. Sont-ils linéairement corrélés.

REPONSES EXERCICE N° 4 [E4-2004N] (40 points)

REPONSE QUESTION N° 1 :

Comparaison d'une moyenne expérimentale à une moyenne théorique $\mu_0 = 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$: $H_0 (\mu_1 = \mu_0)$ / $H_1 (\mu_1 < \mu_0)$

$$\varepsilon = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = 2,68 > 1,645$$

La concentration moyenne en ions ammonium est significativement inférieure à $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$.

REPONSE QUESTION N° 2 : Comparaison de 2 moyennes expérimentales d'échantillons indépendants ($n > 30$) : $H_0 (m_1 = m_2)$ / $H_1 (m_1 \neq m_2)$

$$\varepsilon = \frac{|m_1 - m_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = 1,78 < 1,96$$

⇒ La concentration moyenne en ions ammonium ne diffère pas significativement entre les deux traitements

REPONSE QUESTION N° 3 : Comparaison des 2 distributions : $H_0 (\forall i : p_i = p_{i0})$ / $H_1 (p_i \neq p_{i0})$

	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Total
	Obs (ni)	Théo (ci)	ni	ci	ni	ci	
Présence de bactéries	4	6,4	18	11,2	10	14,4	32
Absence de bactéries	36	33,6	52	58,8	80	75,6	168
Total		40		70		90	200

$$\chi^2 = \sum \frac{(n_i - c_i)^2}{c_i} = 7,587 > 5,99 \text{ (d.d.l. = 2)}$$

⇒ Les trois zones diffèrent quant à la proportion de prélèvements pollués par les bactéries

REPONSE QUESTION N° 4 : On calcule le coefficient de corrélation entre les deux variables :

$$r = \text{cov}(x,y) / s_x \cdot s_y = \frac{(n \sum xy) - (\sum x \sum y)}{\sqrt{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \sqrt{n \sum y^2 - (\sum y)^2}} = 0,513$$

Comparaison du coefficient de corrélation r à zéro : $H_0 (r=0)$ / $H_1 (r \neq 0)$

$$t = t = \frac{|r|}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2} = 1,69 < 2,306 \text{ (ddl = 8)} ; r \text{ n'est pas significativement différent de zéro}$$

⇒ Les deux paramètres physicochimiques ne sont pas linéairement corrélés

[E5-2004N] EXERCICE N°5 (40 POINTS) :

ENONCE

Pour une enzyme E agissant sur un substrat S, l'unité internationale (U) est définie comme une quantité d'enzyme pouvant transformer 1 micromole de substrat par minute dans les conditions conventionnelles précisées. Notamment, la concentration en substrat du milieu d'incubation, est fixée à $7 K_m$ et le temps d'incubation à 3 minutes.

Dans les applications usuelles de la technique, on se trouve dans des conditions de vitesse initiale.

La préparation A de cette enzyme est une poudre destinée à la fabrication de comprimés.

Elle correspond à un extrait tissulaire partiellement purifié, dilué dans un excipient convenable.

QUESTION N°1 : Pour déterminer la concentration de cette préparation A, on dissout 2g dans une solution tampon convenable et complète à 50 mL (solution B).

La mesure de l'activité sur $250 \mu\text{L}$ de cette solution B dans les conditions conventionnelles définies au début de cet exercice donne une consommation de substrat égale à $0,60 \mu\text{moles}$. Calculer la concentration catalytique de cette solution B.

QUESTION N°2 : En déduire la concentration catalytique de la préparation A.

QUESTION N°3 : Le pharmacien doit fabriquer des comprimés de 0,5 g contenant chacun 0,8 U d'enzyme. Combien faudra-t-il de préparation pour fournir, après dilution dans un excipient convenable, 1 kg de poudre à comprimer à la concentration catalytique prescrite par le protocole de fabrication ?

QUESTION N°4 : Quelle serait la concentration catalytique de A si pour les conditions conventionnelles la concentration en substrat était de $15 K_m$? Commenter.

REPONSES EXERCICE N° 5 [E5-2004N] (40 points)

REPONSE QUESTION N° 1 : Substrat consommé en 1 minute / $250 \mu\text{l} = 0,20 \mu\text{mol}$
Soit $0,80 \mu\text{mol/mL/mn}$ ou $0,8 \text{ U/mL}$ ou 800 U/L

REPONSE QUESTION N° 2 : Concentration catalytique de la poudre A
 $B = 40 \text{ g A/L}$ donc 40 g de A contiennent 800 U soit $800/40 = 20 \text{ U/g de A}$

REPONSE QUESTION N° 3 : $0,8 \text{ U}$ correspondent à $1 \times (0,8/20) = 0,04 \text{ g de A}$ et $0,5 \text{ g de comprimé}$, donc pour $1 \text{ kg de poudre à comprimer}$, il faut $0,04/0,5 \times 1000 = 80 \text{ g de A}$

REPONSE QUESTION N° 4 :

Nouvelle concentration catalytique = $(20 \cdot (15/16)) / (7/8) = 20 \cdot ((15 \cdot 8) / (16 \cdot 7)) = 20 (15/14) = 21,4 \text{ U/g}$

Commentaire : la valeur d'une quantité ou concentration catalytique exprimée en U arbitraire dépend complètement de la définition des conditions conventionnelles. Ici, légère augmentation car l'enzyme travaille à $15/16^{\text{ème}}$ de V_{max} (au lieu de $7/8^{\text{ème}}$ de V_{max} précédemment).