

# ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2004

## ZONE NORD

### EXERCICE N° 1 (40 points)

#### ÉNONCÉ

Une céphalosporine de 3<sup>e</sup> génération est administrée par voie intramusculaire (IM) à la dose de 1 g.

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

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

Le temps de demi-vie d'élimination sérique est égal à 1 h.

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 1 g par voie IM permettra-t-elle de se maintenir au-dessus de cette CMI ?

**QUESTION N° 2 :** Sachant que le volume apparent de distribution ( $V_d$ ) 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 intraveineuse (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 sérique 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 ( $C_{\text{eq}}$ ) stable et égale à  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  ?

---

### EXERCICE N° 2 (40 points)

#### ÉNONCÉ

Après administration intraveineuse de morphine, deux métabolites glucuronoconjugués sont principalement retrouvés dans le plasma : la M3G et la M6G. Les propriétés pharmacologiques de la morphine et de ces deux métabolites ont été comparées lors d'études de liaison à l'équilibre aux récepteurs opioïdes  $\mu$ , et lors de la détermination de leur activité antinociceptive *in vivo*.

#### I. – ÉTUDES DE LIAISON À L'ÉQUILIBRE :

Des études d'inhibition de la liaison de la  $^3\text{H}$ -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  $\mu$ . Les courbes de compétition obtenues sont présentées sur la *Figure 1*.

La constante de dissociation de la  $^3\text{H}$ -naloxone ( $K_D$ ) vis-à-vis du récepteur opioïde  $\mu$  est de 1 nM.

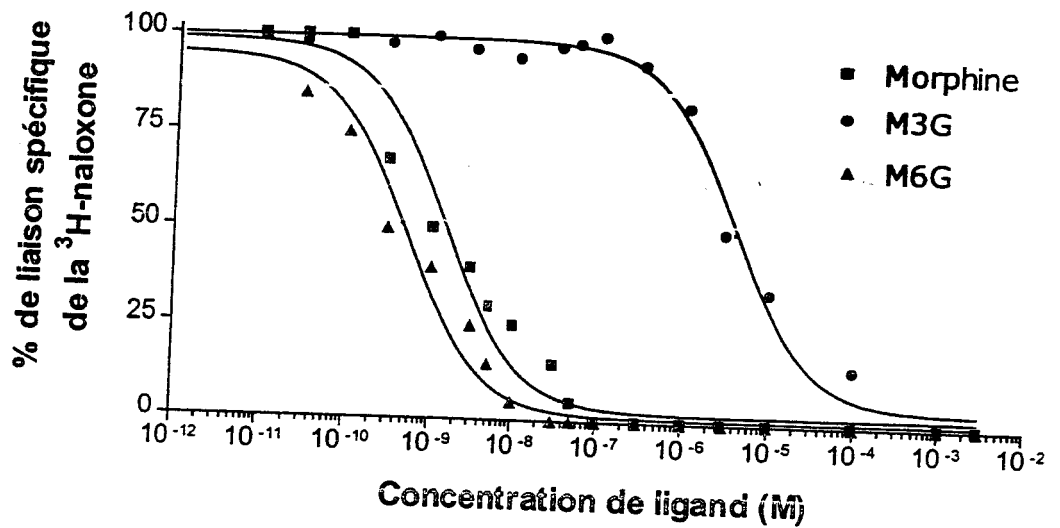


Figure 1 : Courbes d'inhibition compétitive de la liaison de la <sup>3</sup>H-naloxone par la morphine, la M3G et la M6G

**QUESTION N° 1 :** Déterminer la CI<sub>50</sub> et le K<sub>i</sub> de la morphine, de la M3G et de la M6G et commenter ces résultats.

**II. - ACTIVITÉ ANTINOCÉPTIVE CHEZ LA SOURIS APRÈS ADMINISTRATION INTRACÉRÉBRALE**

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

La Figure 2 présente l'activité antinocéptive 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 antinocéptive.

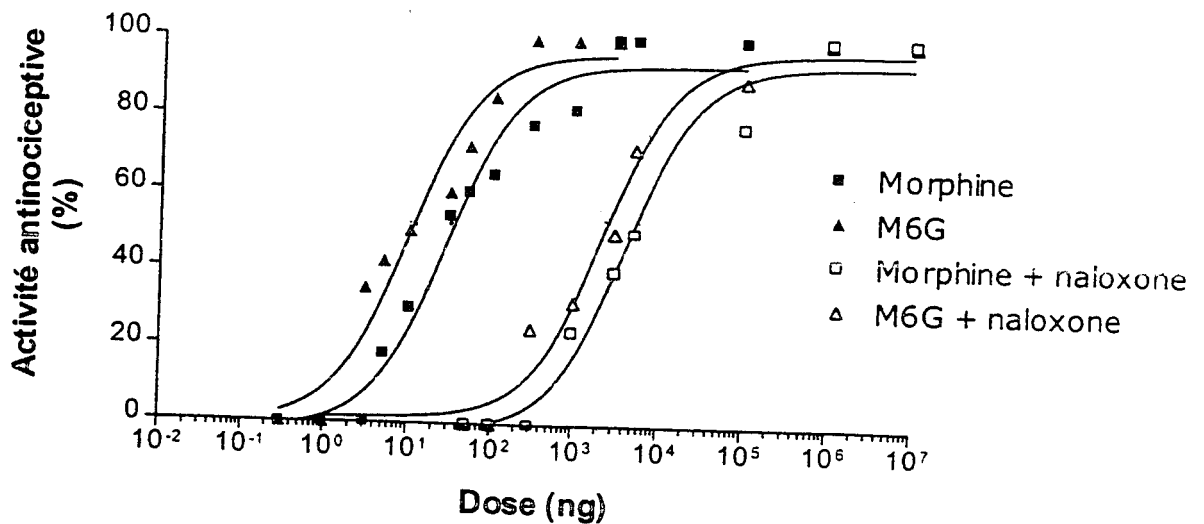


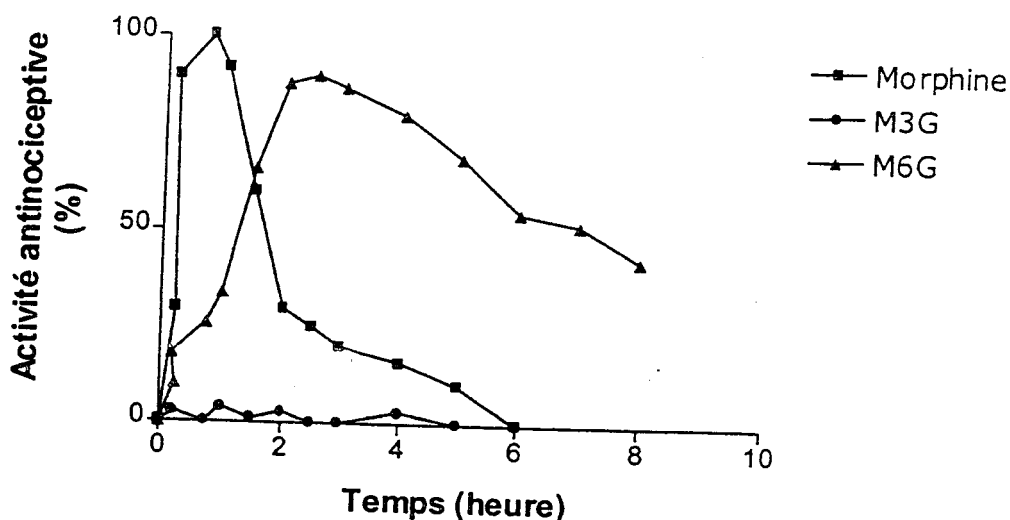
Figure 2 : Activité antinocéptive dans le test de la plaque chauffante chez la souris de la morphine et de la M6G en l'absence ou en présence d'une dose unique de naloxone. Les molécules ont été administrées par voie intracérébrale et l'activité antinocéptive a été déterminée 30 min après l'injection.

**QUESTION N° 2 :** Déterminer les DE<sub>50</sub> 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. – ACTIVITÉ ANTINOCÉPTIVE CHEZ LA SOURIS APRÈS ADMINISTRATION SOUS-CUTANÉE

Les cinétiques des activités antinocéptives 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 antinocéptive 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.

### EXERCICE N° 3 (40 points)

#### ÉNONCÉ

Le rendement maximal d'une extraction simple de 100 mL de solution aqueuse d'un monoacide organique XH par 10 mL 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 100 mL de solution de XH par 18 mL de dichlorométhane ?

**QUESTION N° 3 :** Calculer le rendement théorique si l'on extrait 100 mL de XH par trois fois 6 mL 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 aqueuse pour que l'extraction offre le rendement maximal ?

**QUESTION N° 5 :** Après extraction, comme décrit dans le début de l'énoncé page 1, 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 phénolphtaléine. On trouve une chute de burette de 17,70 mL. Déterminer la concentration initiale de la solution de XH.

## EXERCICE N° 4 (40 points)

### ÉNONCÉ

*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  $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ . A la suite d'une purification par un procédé chimique (traitement 1), un dosage des ions ammonium sur 50 prélèvements a donné pour moyenne  $\bar{x}_1 = 0,459 \text{ mg.L}^{-1}$  et pour écart-type  $s_1 = 0,108 \text{ mg.L}^{-1}$ .

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  $\bar{x}_2 = 0,418 \text{ mg.L}^{-1}$  et pour écart-type  $s_2 = 0,122 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Les traitements 1 et 2 ont-ils des effets différents ?

**QUESTION N° 3 :** On effectue 200 prélèvements dans trois zones différentes 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 ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) en chlorures et en sulfates de 10 échantillons d'eau du robinet. Les résultats des analyses sont donnés ci-dessous :

Échantillon	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 ?

---

## EXERCICE N° 5 (40 points)

### ÉNONCÉ

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 catalytique de cette préparation A, on dissout 2 g dans une solution tampon convenable et complète à 50 mL (solution B). La mesure de l'activité sur 250  $\mu$ L de cette solution B dans les conditions conventionnelles définies au début de cet exercice donne une consommation de substrat égale à 0,60 micro-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 A 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.

**ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2004  
PROPOSITIONS DE RÉPONSES<sup>(\*)</sup>**

**ZONE NORD**

**EXERCICE N° 1 (40 points)**

**QUESTION N° 1 :**

$$T_{1/2\text{el}} \text{ sérique} = \frac{\text{Ln}2}{k_{\text{el}}}$$

avec  $k_{\text{el}}$  = constante de vitesse d'élimination sérique

$$\text{donc } k_{\text{el}} = \frac{\text{Ln}2}{T_{1/2\text{el}}} = \frac{0,693}{1 \text{ h}} = 0,693 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{CMI} = C_{\text{max}} e^{-k_{\text{el}} \cdot t}$$

$$\frac{0,5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}}{24 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}} = e^{-0,693 \text{ h}^{-1} \cdot t}$$

$$\text{Ln} \frac{0,5}{24} = \text{Ln} e^{-0,693 \text{ h}^{-1} \cdot t}$$

$$3,871 = 0,693 \text{ h}^{-1} \cdot t$$

$$\frac{3,871}{0,693 \text{ h}^{-1}} = 5,59 \text{ h}$$

**QUESTION N° 2 :**

$$\text{CL} = V_d \times k_{\text{el}}$$

$$\text{CL} = 22,5 \text{ L} \times 0,693 \text{ h}^{-1} = 15,6 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$$

**QUESTION N° 3 :**

$$C_0 = \frac{D_{\text{IV}}}{V_{\text{ID}}} \text{ en modèle monocompartmental } V_{\text{ID}} = V_d \text{ (avec } V_{\text{ID}}, \text{ volume initial de distribution)}$$

$$\text{donc } C_0 = \frac{D_{\text{IV}}}{V_d}$$

$$V_d \times C_0 = D_{\text{IV}}$$

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

**QUESTION N° 4 :**

$$\text{A l'état d'équilibre } V_{\text{perf}} = V_{\text{élimination}} = \text{CL} \times C_{\text{eq}}$$

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

**\*Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent. — 37 —

## EXERCICE N° 2 (40 points)

### QUESTION N° 1 :

La  $CI_{50}$  représente la concentration en ligand froid nécessaire pour inhiber 50 % de la liaison spécifique du radioligand au récepteur  $\mu$ . La valeur de la  $CI_{50}$  est déterminée graphiquement.

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

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

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

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  $2 \text{ nM}$ ) et de son  $K_D$  pour le récepteur (ici  $1 \text{ nM}$ ). Le  $K_I$  est calculé par l'équation de Cheng et Prusoff :

$$K_I = \frac{CI_{50}}{1 + \frac{F}{K_D}}$$

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

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

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

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  $\mu$  et c'est une bonne affinité, tandis que la M3G a une mauvaise affinité pour le récepteur  $\mu$  (le  $K_I$  est plus de 2.500 fois plus élevé).

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.

### 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 :  $DE_{50} \approx 10 \text{ ng}$

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

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

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

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  $\mu$  et que la M6G et la morphine se lient avec une haute affinité sur ce type de récepteur (Question 1), on en déduit que ces deux molécules sont des agonistes des récepteurs  $\mu$  et que l'activation de ces récepteurs provoque un effet analgésique. Les puissances des 2 molécules sont similaires.

### 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.

### 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 1 h environ) mais ne dure pas longtemps, tandis que l'effet de la M6G apparaît plus tardivement (maximum de l'effet à 2 h environ) mais perdure (50 % de l'effet maximal 8 h après administration de M6G). Ces deux molécules ont une affinité similaire pour le récepteur  $\mu$  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  $\mu$  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 mineur de la morphine mais il est pourvu d'une bonne activité analgésique.

## EXERCICE N° 3 (40 points)

### QUESTION N° 1 :

Soit P le coefficient de partage =  $\frac{C_{org}}{C_{aq}}$

Soit le  $\alpha$  le coefficient de partage corrigé.

$$\alpha = \frac{q_{org}}{q_{aq}} = P \frac{V_{org}}{V_{aq}}$$

Soit le rendement =  $\frac{q_{org}}{q_{totale\ initiale}}$

$$R = 0,63 = \frac{\alpha}{1 + \alpha} \rightarrow \alpha = 1,703$$

(ou bien  $q_{org} = 0,63 q_r$   $q_{aq} = 0,37 q_t$ )

$$1,073 = P \cdot \frac{10}{100} \rightarrow P = 17,03$$

### QUESTION N° 2 :

$V_{aq} = 100 \text{ mL}$  ,  $V_{org} = 18 \text{ mL}$

$$\alpha_2 = 17,03 \times \frac{18}{100} = 3,065$$

$$R = \frac{\alpha_2}{1 + \alpha_2} = 0,754 \text{ soit } 75,4 \%$$



**QUESTION N° 3 :**

$$V_{\text{aq}} = 100 \text{ mL} , V_{\text{org}} = 6 \text{ mL} \times 3$$

$$\alpha_3 = 17,03 \times \frac{6}{100} = 1,022$$

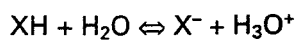
Il s'agit d'une extraction répétée 3 fois.

$$R = 1 - \frac{1}{(1 + \alpha_3)^3}$$

$$R = 0,879 \text{ soit } 87,9 \%$$

**QUESTION N° 4 :**

La forme extractible est la forme protonée XH, en solution aqueuse.



$$\text{ou } (\text{X} - \text{H}^-) = \frac{(\text{X}) 10^{-5,25}}{(\text{H}_3\text{O}^+)}$$

pour que le rendement de l'extraction soit minimal, il faut que  $(\text{X} - \text{H}^-)$  soit négligeable devant  $(\text{X})$ , c'est-à-dire  $(\text{X} - \text{H}^-) < 10^{-2} (\text{X})$

$$\Rightarrow \frac{10^{-5,25}}{(\text{H}_3\text{O}^+)} = \frac{(\text{X} - \text{H}^-)}{(\text{H}_3\text{O}^+)} < 10^{-2}$$

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

**QUESTION N° 5 :**

Concentration de la phase aqueuse :

$$10 \cdot C_{\text{aq}} = 17,7 \times 0,0096 \text{ M} \quad C_{\text{aq}} = 0,017 \text{ M}$$

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

$$1,7 \text{ mmol} = 0,37 \text{ q}_0$$

$$\text{q}_0 = 4,59 \text{ mmol dans } 100 \text{ mL.}$$

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

**EXERCICE N° 4 (40 points)****QUESTION N° 1 :**

Comparaison d'une moyenne expérimentale à une moyenne théorique  $\mu_0 = 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$  :

$$H_0(\mu_1 = \mu_0) / H_1(\mu_1 < \mu_0)$$

$$\varepsilon = \frac{|\bar{x}_1 - \mu_0|}{\frac{s_1}{\sqrt{n}}} = 2,68 > 1,645$$

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

**QUESTION N° 2 :**

Comparaison de deux moyennes expérimentales : échantillons indépendants ( $n > 30$ )

$$H_0(\mu_1 = \mu_2) / H_1(\mu_1 \neq \mu_2)$$

$$\varepsilon = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = 1,78 < 1,96$$

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

**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.

**QUESTION N° 4 :**

On calcule le coefficient de corrélation entre les deux variables :

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

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

$$t = \frac{|r|}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2} = 1,69 < 2,306 \text{ (d.d.l. = 8)}$$

⇒ Les deux paramètres physicochimiques ne sont pas linéairement corrélés.

**EXERCICE N° 5 (40 points)****QUESTION N° 1 :**

Substrat consommé en 1 min/250  $\mu\text{L}$  = 0,20  $\mu\text{mol}$   
Soit 0,80  $\mu\text{mol/mL/min}$  ou 0,8 U/mL ou 800 U/L

**QUESTION N° 2 :**

Concentration catalytique de la poudre A

$$B = 40 \text{ g A/L donc } 40 \text{ gA contiennent } 800 \text{ U soit } \frac{800}{40} = 20 \text{ U/g de A}$$

**QUESTION N° 3 :**

0,8 U correspondent à  $1 \times \frac{0,8}{20} = 0,04 \text{ g de A}$  et à 0,5 g de comprimé donc pour 1 kg de

poudre à comprimer il faut  $\frac{0,04}{0,5} \times 1000 = 80 \text{ g de A}$

**QUESTION N° 4 :**

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

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  $15/16^{\text{e}}$  de  $V_{\max}$  (au lieu de  $7/8^{\text{e}}$  de  $V_{\max}$  précédemment).