

ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2006

ZONE NORD

EXERCICE N° 1 (40 points)

ÉNONCÉ

Un médicament a été administré à un patient selon deux voies : intraveineuse et sous-cutanée, à la même dose (500 mg) à une semaine d'intervalle.

Après administration intraveineuse, l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps (exprimé en heure) correspond à la fonction :

$$c \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 8,3 \text{ mg.L}^{-1} \cdot e^{-0,09h^{-1} \cdot t}$$

Après administration sous-cutanée, la fonction qui représente l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps (exprimé en heure) est la suivante :

$$c \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 2,1 \text{ mg.L}^{-1} \cdot e^{-0,02h^{-1} \cdot t} - 2,1 \text{ mg.L}^{-1} \cdot e^{-0,085h^{-1} \cdot t}$$

QUESTION N° 1 : Calculer la clairance d'élimination plasmatique de ce médicament chez ce patient.

QUESTION N° 2 : Calculer le volume apparent de distribution plasmatique.

QUESTION N° 3 : Calculer le coefficient de biodisponibilité absolue par voie sous-cutanée.

QUESTION N° 4 : Calculer les demi-vies de décroissance des concentrations plasmatiques après chaque administration.
Que peut-on en conclure ?

EXERCICE N° 2 (40 points)

ÉNONCÉ

On utilise une colonne de chromatographie de 10 cm offrant 20.000 plateaux/mètre pour séparer deux composés A et B dont les facteurs de capacité (= facteurs de rétention) sont respectivement 4,5 et 5,5.

QUESTION N° 1 : Quelle limite doit-on imposer à la vitesse de la phase mobile pour que la durée de l'analyse soit inférieure à 10 minutes ?

QUESTION N° 2 : Quelle perte de charge doit-on alors imposer à la colonne, sachant que la colonne est garnie de particules de 3 micromètres de diamètre et que son facteur de résistance à l'écoulement est de 1200, la phase mobile ayant une viscosité de $1,0 \cdot 10^{-3}$ Pa.s ?

QUESTION N° 3 : Quelle est la résolution entre les pics des composés A et B ? La séparation est-elle satisfaisante ? Justifier votre réponse.

QUESTION N° 4 : On dose le composé B par étalonnage interne en prenant A comme étalon interne (EI) selon le protocole suivant :

- Étalonnage

Solution de B à 25 mg.L ⁻¹ (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Eau (mL)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Solution d'étalon interne (mL)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aire du pic B		870	1754	2620	3490	4367
Aire du pic d'EI		2595	2560	2600	2580	2605

- Dosage

Simultanément on dose B dans une solution inconnue : on mélange 0,5 mL de solution à doser + 0,5 mL d'eau + 0,5 mL de solution d'EI. L'aire du pic B est 2060, celle du pic d'EI est 2575. Quelle est la concentration en B de la solution à doser ? Expliquer.

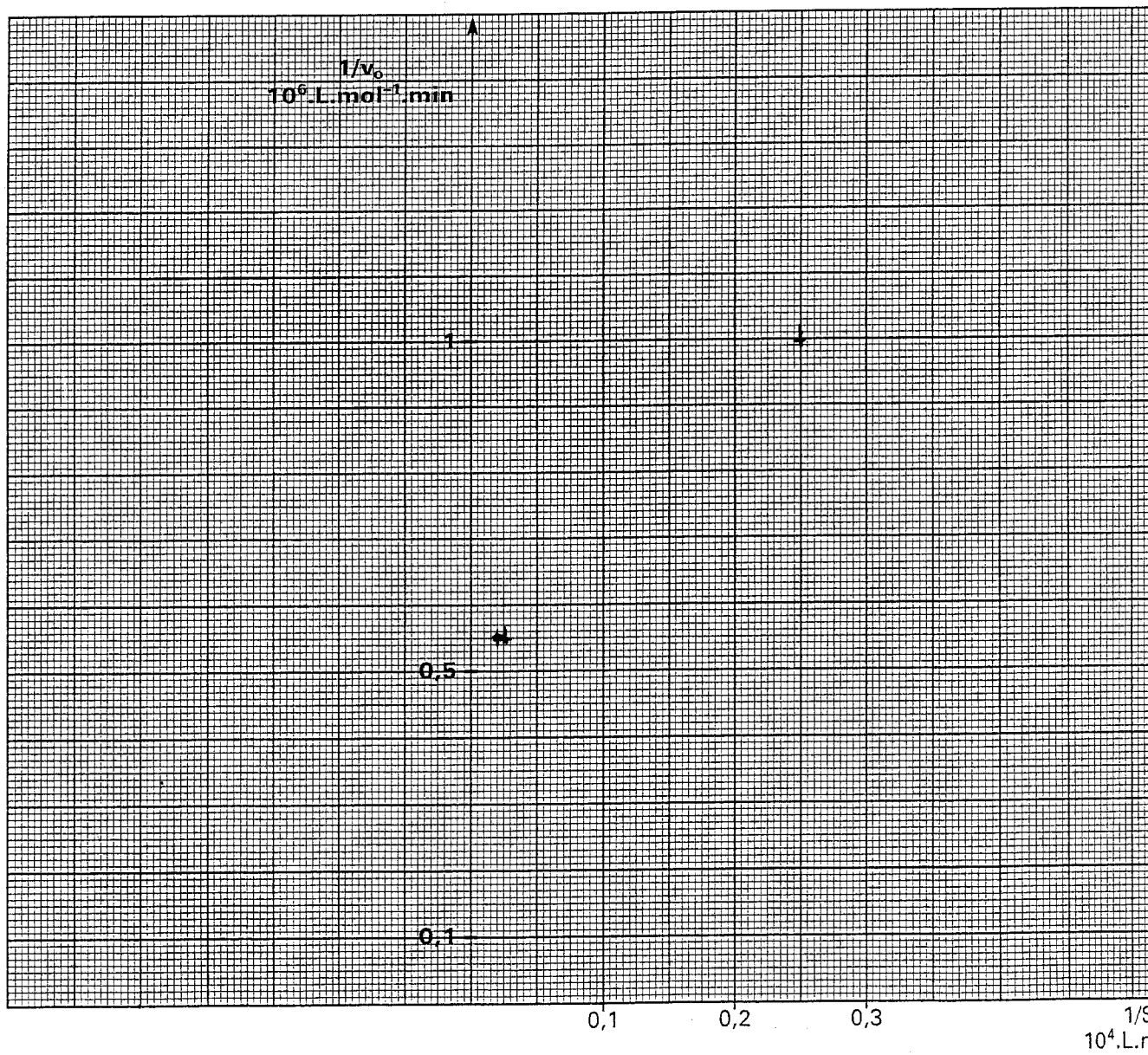
EXERCICE N° 3 (40 points)

ÉNONCÉ

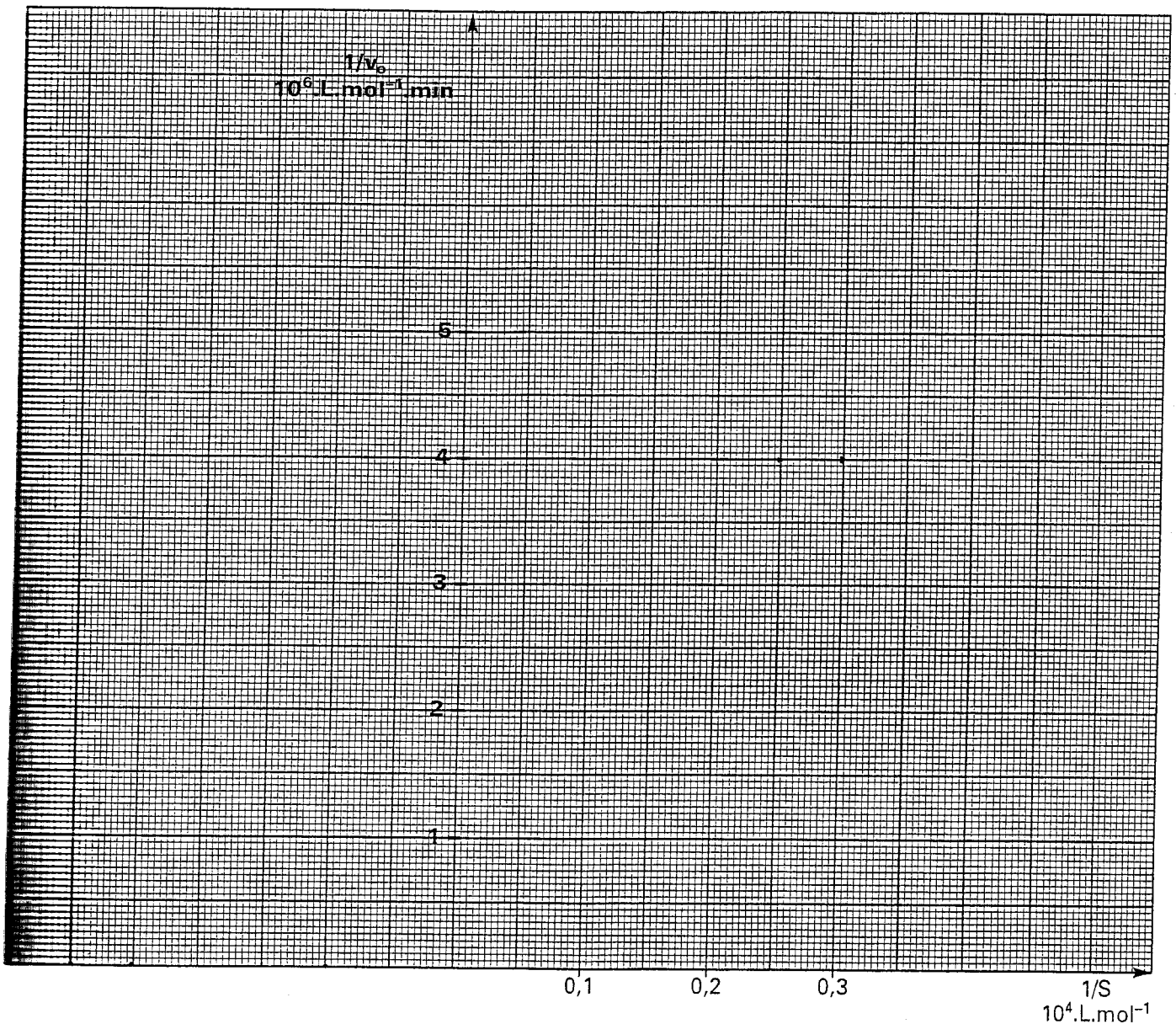
On réalise une étude cinétique de l'activité d'une enzyme dans des conditions bien définies sans inhibiteur (colonne A), et avec un inhibiteur $[I] = 6.10^{-5}M$ (colonne B), on obtient les résultats suivants :

	A	B
Concentration en substrat mol.L ⁻¹	Vitesse initiale v _o mol.L ⁻¹ .min ⁻¹	Vitesse initiale apparente v _{o app} mol.L ⁻¹ .min ⁻¹
4.10 ⁻⁴	1,0.10 ⁻⁶	0,25.10 ⁻⁶
12.10 ⁻⁴	1,5.10 ⁻⁶	0,38.10 ⁻⁶
20.10 ⁻⁴	1,67.10 ⁻⁶	0,42.10 ⁻⁶
28.10 ⁻⁴	1,75.10 ⁻⁶	0,44.10 ⁻⁶
40.10 ⁻⁴	1,82.10 ⁻⁶	0,46.10 ⁻⁶

QUESTION N° 1 : En utilisant la représentation en double-inverse de Lineweaver-Burk, déterminer V_{max} et K_m en l'absence d'inhibiteur.



QUESTION N° 2 : En utilisant la même représentation de Lineweaver-Burk, déterminer V_{\max} et K_m en présence d'inhibiteur. De quel type d'inhibiteur s'agit-il ?



QUESTION N° 3 : Calculer la constante K_i de l'inhibiteur.

QUESTION N° 4 :

- Démontrer la relation mathématique exprimant, en fonction de I et K_i , le pourcentage d'inhibition de la vitesse initiale $\left(\frac{V_0 - V_{0\text{app}}}{V_0} \right) \times 100$, par ce type d'inhibiteur.
- Calculer le pourcentage d'inhibition pour $(S) = K_m$.
- Que devient ce pourcentage pour $(S) = 10 K_m$? Commenter.

EXERCICE N° 4 (40 points)

ÉNONCÉ

Pour tous les tests, choisir un risque égal à 5 %.

QUESTION N° 1 : Afin de tester une substance toxique A, on fait une injection sous-cutanée à 100 souris. On observe l'apparition d'une réaction locale chez 82 souris.

- Déterminer l'intervalle de confiance à 95 % du pourcentage de souris qui présentent une réaction.
- On admet que l'injection est toxique dans 70 % des cas. Le résultat de l'expérience est-il compatible avec cette hypothèse ? Justifier votre réponse.

QUESTION N° 2 : On veut étudier la relation effet-dose de la substance A. Après injection de la substance à la dose x (mg) on mesure la réaction (effet y) selon une échelle arbitraire. Les résultats de l'expérience sont les suivants :

x	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
y	0,6	0,8	1,1	1,4	1,6

- Déterminer l'équation $y = px + y_0$ de la courbe effet-dose.
- Montrer que pour une dose nulle l'effet n'est pas significativement différent de zéro. On donne l'écart-type de l'ordonnée à l'origine $s_{y_0} = 0,049$.
(On rappelle que la variable y_0/s_{y_0} suit une loi de Student à $n-2$ ddl).

QUESTION N° 3 : L'injection de la substance A provoque une élévation de la température. Pour contrôler ce phénomène, on mesure simultanément l'élévation de la température z (°C) au cours des 2 heures qui suivent l'injection et l'effet y sur 20 souris auxquelles la même dose a été administrée. Les résultats obtenus sont les suivants :

$$\sum z = 27,4 \quad \sum y = 15,6 \quad \sum z^2 = 48,81 \quad \sum y^2 = 16,16 \quad \sum zy = 27,65$$

Calculer le coefficient de corrélation linéaire entre z et y .

QUESTION N° 4 : Un expérimentateur veut comparer l'effet d'une substance B dont l'injection ne provoque pas d'élévation de la température, à celui de la substance A. Pour cela il dispose de 20 souris, et fait une injection avec A sur 10 souris et avec B sur les 10 autres. Les résultats sont les suivants :

A	1,1	1,0	1,2	1,3	1,2	1,1	1,3	1,4	1,0	1,2
B	0,9	1,1	0,8	1,2	1,0	1,1	1,2	1,0	0,8	0,9

La substance B est-elle moins toxique (effet moindre) que la substance A ? Justifier votre réponse.

Les conditions d'application du test seront supposées vérifiées.

EXERCICE N° 5 (40 points)

ÉNONCÉ

On veut déterminer le pK_a d'un phénol P par spectrophotométrie en cuve de 1 cm. On sait qu'à 285 nm, les coefficients d'absorption molaires sont respectivement : $610 \text{ L.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$ pour la forme moléculaire et 1620 pour la forme ionisée.

Une solution aqueuse de ce phénol à $50,0 \text{ mg par litre}$ et à $\text{pH} = 9,7$ présente une absorbance égale à $0,682$ à 285 nm .

QUESTION N° 1 : Déterminer le pK_a de ce phénol dont la masse molaire est de 94 g.mol^{-1} .

QUESTION N° 2 : Au point isosbestique à la longueur d'onde de 263 nm le coefficient d'absorption molaire est de $952 \text{ L.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}$. Définir le point isobestique.

QUESTION N° 3 : On cherche à vérifier la pureté d'un lot de ce même phénol P. On effectue une pesée exacte de 47,0 mg que l'on dissout dans 50 mL d'un tampon de $\text{pH} = 10,00$ (soit A cette solution). On mesure l'absorbance à 263 nm et à 285 nm d'une dilution au vingtième dans de l'eau distillée de la solution A. Les absorbances sont : $A_{263} = 0,490$ à 263 nm et $A_{285} = 0,708$ à 285 nm.

Quels sont les pourcentages de pureté mesurés respectivement à 263 et à 285 nm ? Proposer une interprétation.

**ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2006
PROPOSITIONS DE RÉPONSES^(*)**

ZONE NORD

EXERCICE N° 1 (40 points)

QUESTION N° 1 :

$$AUC_{iv} = C_{initiale}/k = 8,3/0,09 = 92,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}$$

$$CL = Dose_{iv}/AUC_{iv} = 500/92,2 = 5,4 \text{ L.h}^{-1}$$

$$NB : C = C_{initiale}.e^{-k.t}$$

QUESTION N° 2 :

$$Vd = Dose/C_{initiale} = 500/8,3 = 60,2 \text{ L}$$

QUESTION N° 3 :

$$AUC_{ss\text{cut}} = B/\beta - A/\alpha = 2,1/0,02 - 2,1/0,085 = 80 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}$$

$$F = (AUC_{ss\text{cut}} \times Dose_{iv}) / (AUC_{iv} \times Dose_{ss\text{cut}}) = 80/92,2 = 87 \%$$

$$NB : C = B.e^{-\beta.t} - A.e^{-\alpha.t}$$

QUESTION N° 4 :

$$\text{Après injection iv : } T_{1/2} = \ln 2/k = 0,693/0,09 = 7,7 \text{ h}$$

$$\text{Après injection sous-cutanée : } T_{1/2} = \ln 2/\beta = 0,693/0,02 = 35 \text{ h}$$

Le fait que la demi-vie de décroissance soit nettement plus longue après injection sous-cutanée qu'après injection iv indique que le processus d'absorption à partir du site d'administration sous-cutanée est plus lent que le processus d'élimination, et que la vitesse d'élimination est limitée par la vitesse d'absorption (phénomène de flip-flop).

EXERCICE N° 2 (40 points)

QUESTION N° 1 :

$$L = 10 \text{ cm} \quad N = 2000 \quad \text{durée de l'analyse} < 10 \text{ min}$$

$$\text{La durée de l'analyse est : } t_{RB} + \omega_{Bt} < 10 \text{ min}$$

$$\text{avec } t_{RB} = t_m (1 + k'_B) = 6,5 t_m \quad \text{et} \quad \omega_{Bt} = \frac{4 t_{RB}}{\sqrt{N}} = \frac{26 t_m}{\sqrt{2000}} = 0,581 t_m$$

***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.

La durée de l'analyse sera $(6,5 + 0,581) t_m$, elle devra être inférieure à 10 min

$$t_m < 1,41 \text{ min.} \quad t_m = L/\mu \quad 10/\mu < 1,41 \text{ min} \quad \mu > 7,08 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$$

μ = vitesse linéaire de la phase mobile.

QUESTION N° 2 :

$$\mu > 7,08 \text{ cm/min (0,118 cm/s)} \quad \Delta P = \mu \cdot \frac{L\eta\phi}{d^2p}$$

$$\Delta P = \frac{0,118 \cdot 10^{-2} \cdot 10^{-1} \cdot 10^{-3} \cdot 1200}{(3 \cdot 10^{-6})^2} = 1,57 \cdot 10^7 \text{ Pa}$$

$$\Delta P = 157 \cdot 10^5 \text{ Pa. (157 bars)}$$

QUESTION N° 3 :

$$k_A = 4,5 \quad , \quad k_B = 5,5 \quad , \quad \alpha = 1,222 \quad , \quad N = 2000 \quad , \quad \bar{k} = 5,0$$

$$R = \frac{\sqrt{N}}{2} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha + 1} \cdot \frac{\bar{k}}{1 + \bar{k}}$$

$$R = \frac{\sqrt{2000}}{2} \cdot \frac{1,222 - 1}{2,22} \cdot \frac{5}{6}$$

$$R = 1,86$$

La résolution est tout à fait satisfaisante.

N.B. – D'autres raisonnements sont envisageables.

QUESTION N° 4 :

Les rapports mesurés Aire B/Aire EI pour la gamme d'étalonnage sont :

0,335 - 0,685 - 1,008 - 1,353 - 1,676

pour le dosage, Aire B/Aire EI = 0,8

L'étalon interne est utilisé en quantité constante.

Dans la gamme d'étalonnage, les quantités sont 5 - 10 - 15 - 20 - 25 μg .

Le rapport Aire B/Aire EI varie de façon linéaire, dans le domaine du 0,8 du dosage on peut prendre une valeur moyenne de 0,338 pour 5 μg .

La solution à doser contient :

$$\frac{0,8 \times 5}{0,338} = 11,83 \mu\text{g dans } 0,5 \text{ mL}$$

Concentration de la solution à doser :

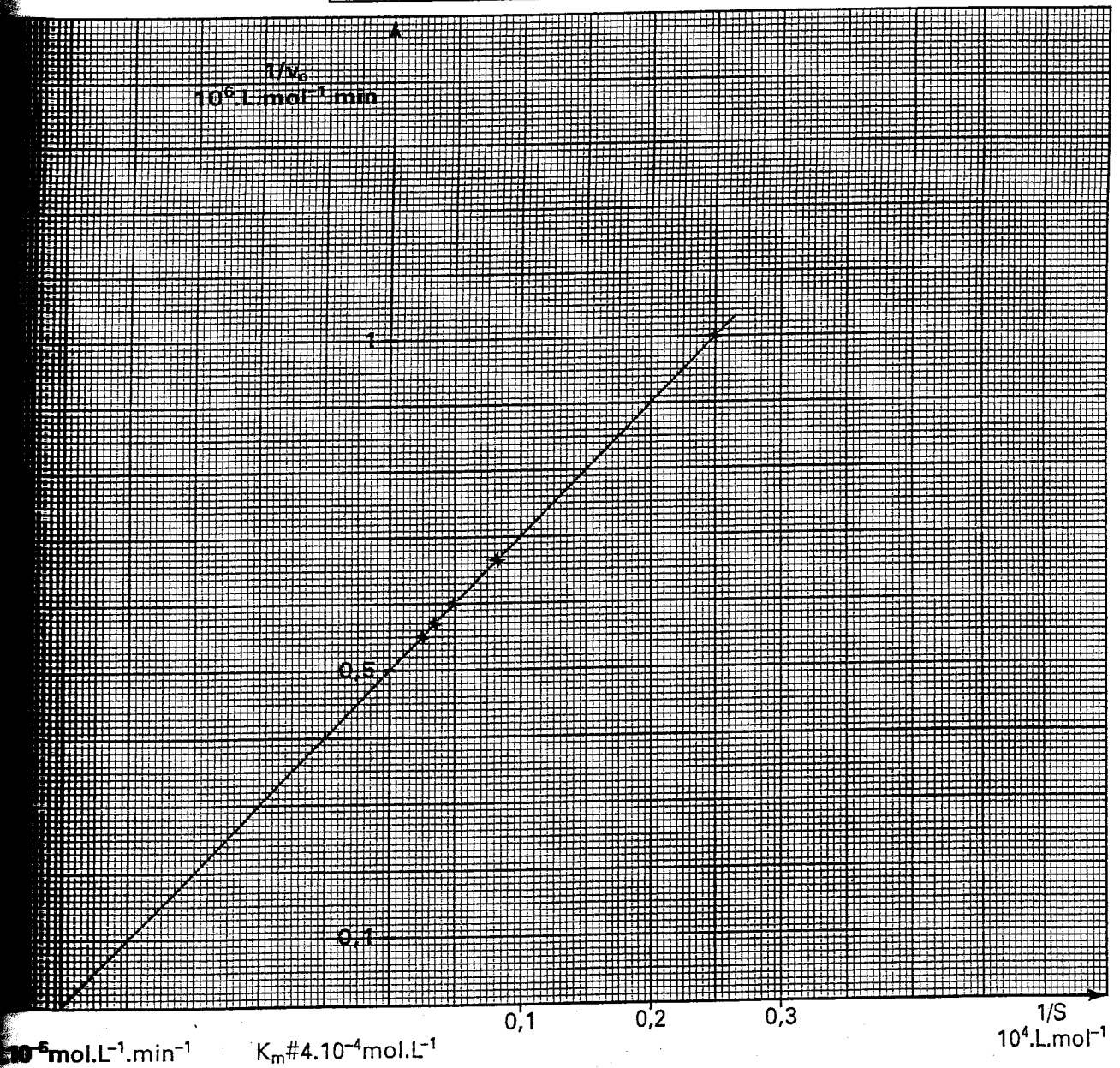
$$23,68 \mu\text{g/mL} - 23,68 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

EXERCICE N° 3 (40 points)

QUESTION N° 1 :

Après représentation des données en double-inverse de Lineweaver-Burk, on peut calculer les valeurs de l'enzyme :

$1/S (\text{L.mol}^{-1})$	$1/v_o (\text{L.mol}^{-1}.\text{min})$
$0,25.10^4$	1.10^6
$0,083.10^4$	$0,66.10^6$
$0,05.10^4$	$0,60.10^6$
$0,036.10^4$	$0,57.10^6$
$0,025.10^4$	$0,55.10^6$



QUESTION N° 2 :

En présence de l'inhibiteur, on va observer les valeurs suivantes :

$1/v_{o\text{ app}} (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{min})$
4.10⁶
2,6.10⁶
2,38.10⁶
2,27.10⁶
2,17.10⁶

$V_{\text{max}} \# 0,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

$K_m \# 4 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Il s'agit donc d'une inhibition non compétitive, puisque seule la V_{max} est modifiée.

