

EPREUVES EN TEMPS LIMITE – PHBMR

du jeudi 07 septembre 2023

Cotation 200 points - durée 2 h - 5 exercices

Dossiers Biologiques et Thérapeutiques

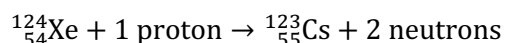
EXERCICE N °1 - Radioactivité /40 points

La thyroïde a pour principale fonction de synthétiser les hormones thyroïdiennes. La première étape de cette synthèse est la captation des iodures à l'aide d'une pompe à iode ; la deuxième étape est l'organification de ces iodures. Il est possible d'explorer cette fonction chez l'homme par la méthode scintigraphique en injectant par voie intraveineuse des iodures radioactifs (^{123}I).

Le taux de captation est déterminé en mesurant la quantité d'iode fixée dans la thyroïde. L'organification est explorée en réalisant un « test de chasse » au perchlorate de potassium. L'administration de perchlorate, isostère de l'iode, 5 heures après l'injection de l'iode 123, ne doit pas chasser de la thyroïde l'iode 123 qui est censé être immobilisé par organification. On admettra donc qu'un déplacement de plus de 50 % de l'iode 123 est le signe d'un déficit de l'organification.

Données : période physique de l'iode 123 : $T = 13$ heures
nombre Avogadro : $N_A = 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$

- **Question 1** : L'iode 123 est un élément radioactif produit dans un cyclotron par irradiation d'une cible de xénon 124 à l'aide de protons ; il se produit la réaction nucléaire suivante :



Le césium 123 ($^{123}_{55}\text{Cs}$) produit se transforme en xénon 123 ($^{123}_{54}\text{Xe}$), qui lui-même se transforme en iode 123 ($^{123}_{53}\text{I}$). Sachant que ni le césium 123, ni le xénon 123 ne sont des émetteurs de rayonnements β^+ ,

- Écrire les réactions de ces transformations.
- Quel est le rayonnement électromagnétique émis lors de ces transformations ?
- **Question 2** : Pour réaliser cet examen scintigraphique, le médecin prescrit une activité de 3,70 MBq d'iode 123. Quelle activité, exprimée en MBq, le pharmacien doit-il prévoir, sachant que la préparation est effectuée 2 heures avant injection ?
- **Question 3** : Au temps t_0 , le patient reçoit l'activité de 3,70 MBq.
 - a) Calculer la masse d'iode 123 injectée au patient, exprimée en picogrammes (pg).
 - b) Au temps $t_0 + 5$ heures, la mesure de la radioactivité dans la thyroïde est réalisée : le résultat est 283 kBq. Calculer le taux de captation par la thyroïde exprimé en pourcentage.
- **Question 4** : Au moment de la scintigraphie (t_0+5 heures), où l'activité mesurée est de 283 kBq, le patient reçoit une dose de perchlorate de potassium. Une nouvelle mesure de la radioactivité est réalisée 2 heures après l'administration de perchlorate. Le médecin conclut à un déficit de l'organification car le déplacement de l'iode a été de 60 %. Quelle est la radioactivité mesurée 2 heures après l'administration de perchlorate ?

EXERCICE N °2 – Chimie Analytique /40 points

Une substance active extrait d'une plante noté b présente un caractère basique faible ($pK_a = 8,2$). Pour son dosage, on réalise une extraction simple d'une phase aqueuse qui contient b par un solvant organique non miscible.

Protocole d'extraction : 20 mL d'une solution de phase aqueuse tamponnée à $pH = 11,0$ sont extraits par 5 mL d'une phase organique non miscible à l'eau. L'absorbance à 243 nm est mesurée dans le solvant organique dans une cuve de 1 cm.

L'absorbance d'une solution organique de b à la concentration de 10 mg/mL est de 0,90.

Solution à examiner : on introduit 50 mg de SA dans 20 mL de la phase aqueuse tamponnée à $pH = 11,0$ et après extraction selon le protocole d'extraction ci-dessus, l'absorbance mesurée à 243 nm dans la phase organique est de 0,81.

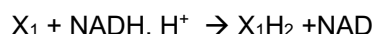
- **Question 1** : Calculer la concentration de b (C_B) dans la phase organique de la solution à examiner.
- **Question 2** : Calculer la quantité de b extraite dans la phase organique (Q_B) pour la solution à examiner.
- **Question 3** : En déduire le rendement d'extraction pour la solution à examiner.
- **Question 4** : En considérant que le rendement d'extraction est optimal à $pH = 11,0$, calculer le coefficient de partage P de b entre le solvant organique et l'eau.
- **Question 5** : Calculer le rendement d'extraction si la solution aqueuse est tamponnée à $pH = 8,2$.

On pèse 80 mg d'une poudre contenant la substance b que l'on introduit dans 20mL d'une solution de phase aqueuse tamponnée à $pH = 11,0$. Après extraction selon le protocole d'extraction ci-dessus et en considérant l'absence d'effet matrice, l'absorbance mesurée à 243 nm dans la phase organique est de 0,65.

- **Question 6** : Calculer la teneur de la poudre en b calculé en % (m/m).

EXERCICE N °3 - Enzymologie /40 points

Une enzyme E catalyse la réduction d'un substrat X_1 selon la réaction suivante :



Pour suivre cette réaction, vous mélangez dans une cuve optique de 1 cm de large, 270 μL d'un tampon T adapté avec 10 μL d'un échantillon biologique contenant l'enzyme E et 20 μL d'une solution de NADH de concentration 2,50 mM, l'ensemble est pré-incubé 5 minutes à 37°C puis la réaction est déclenchée par l'ajout de 20 μL d'une solution de substrat X_1 à la concentration de 160 μM . L'échantillon biologique présente une absorbance à 340 nm de 0,2 lorsqu'il est dilué au 1/50ème dans le tampon T. Le K_m de l'enzyme E pour le substrat X_1 est de 2 μM . La vitesse initiale mesurée dans la cuve est de 275 $\mu\text{mol/L/min}$. Le coefficient molaire d'absorbance du NADH à 340 nm est de 6300 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

- **Question 1** : Calculer l'absorbance du mélange avant l'ajout du substrat X_1 .
- **Question 2** : Calculer la concentration catalytique de l'enzyme E (en U/L) dans l'échantillon biologique.
- **Question 3** : Calculer la V_{max} dans la cuve.
- **Question 4** : Un inhibiteur I est ajouté dans le tampon à la concentration de 1 mM. La vitesse de la réaction dans la cuve en présence de l'inhibiteur I en fonction de la concentration en X_1 donne les résultats suivants :

$V_{\text{O}_{\text{inhib}}}$ $\mu\text{mol/L/min}$	14	35	55	72	81	90	100	109	110
$[X_1]$ μM	0,1	0,35	0,67	1,3	2	3,3	6,5	65	100

Déduisez-en le comportement de l'inhibiteur I pour cette réaction. Vous devez justifier votre réponse.

- **Question 5** : Comment évolue le pourcentage d'inhibition si l'on augmente la concentration en X_1 ?
- **Question 6** : La même enzyme E peut réagir avec un second substrat X_2 dans les mêmes conditions opératoires (mêmes volumes et même concentration en substrat), le K_m du couple (E, X_2) est de 8 μM et la K_{cat} est deux fois plus grande que celle du couple (E, X_1). Comparer l'efficacité enzymatique de l'enzyme E pour X_1 et X_2 .
- **Question 7** : Calculez dans les mêmes conditions opératoires la concentration catalytique (en U/L) dans la cuve pour $[X_2] = 0,04$ mM.

EXERCICE N °4 - Pharmacocinétique /40 points

Un principe actif M dont est administré à la dose de 500 mg à un patient de 60 kg toutes les 8 heures.

L'analyse des concentrations plasmatiques indiquent que les valeurs d'intersection des droites extrapolées sont respectivement de 20, 30 et -50 mg/L. Les constantes de vitesses associées à chacune de ces phases sont respectivement de 0.2, 0.5 et 0.8 h⁻¹.

- **Question 1** : Ecrire l'équation régissant l'évolution des concentrations du principe actif M après une dose unique.
- **Question 2** : Indiquer le nombre de compartiments ainsi que la voie d'administration du principe actif M.
- **Question 3** : Déterminer l'AUC du principe actif M après une administration unique.
- **Question 4** : En déduire la clairance apparente.
- **Question 5** : Sachant que pour être efficace la concentration minimale à l'équilibre ($C_{ss, min}$) doit être > 5 mg/L, la posologie est-elle adaptée ? Si ce n'est pas le cas, quelle posologie pourriez-vous proposer ?

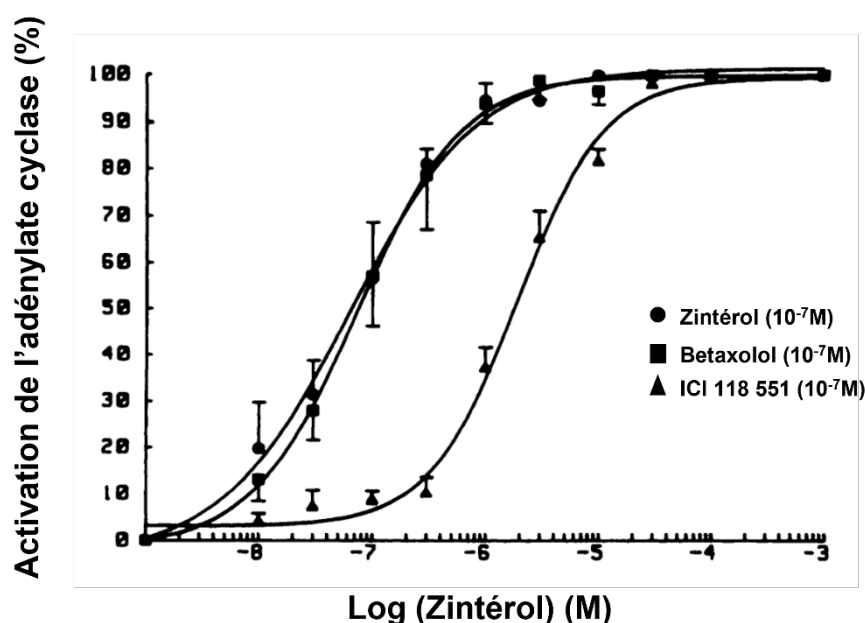
Ce principe actif est ensuite administré par voie IV à la même posologie, et on retrouve une AUC de 122 mg x h/L.

- **Question 6** : Déterminer la clairance totale du principe actif M.

EXERCICE N °5 - Pharmacologie /40 points

Les cellules ventriculaires cardiaques expriment deux sous types de récepteurs β -adrénergiques : les β 1-AR et les β 2-AR. Ces récepteurs régulent l'activité de l'adénylate cyclase (AC). Dans l'insuffisance cardiaque, l'expression des récepteurs β 1-AR est altérée et semble participer à une perte de l'effet inotrope cardiaque. Deux ligands des récepteurs β 1-AR sont étudiés : le betaxolol (10^{-7} M) et l'ICI 118 551 (10^{-7} M). Leur effet sur la réponse au zintérol de l'AC est mesuré sur des cardiomyocytes ventriculaires provenant de tissus sains (Figure 1).

Figure 1 : Effets des différents ligands des β -AR sur la stimulation de l'adénylate cyclase induite par le zintérol.



- **Question 1 :** Comment s'appelle la représentation de la figure 1 ? Définissez les paramètres pharmacologiques pouvant être établis pour le zintérol à partir de la figure 1. Justifier votre réponse.
- **Question 2 :** Citez et définissez le paramètre pharmacologique caractérisant l'activité du betaxolol et l'ICI118 551. Qu'en concluez-vous ?

Dans l'expérience suivante, la densité des β -ARs a été obtenue lors d'une technique expérimentale utilisant un radioligand ICYP, sélectif pour les β -ARs, sur une préparation membranaire de ventricules gauches provenant d'un groupe sain et d'un groupe insuffisant cardiaque. Les résultats sont regroupés dans la figure 2. * $p < 0,05$ (différence significative par rapport au groupe contrôle approprié).

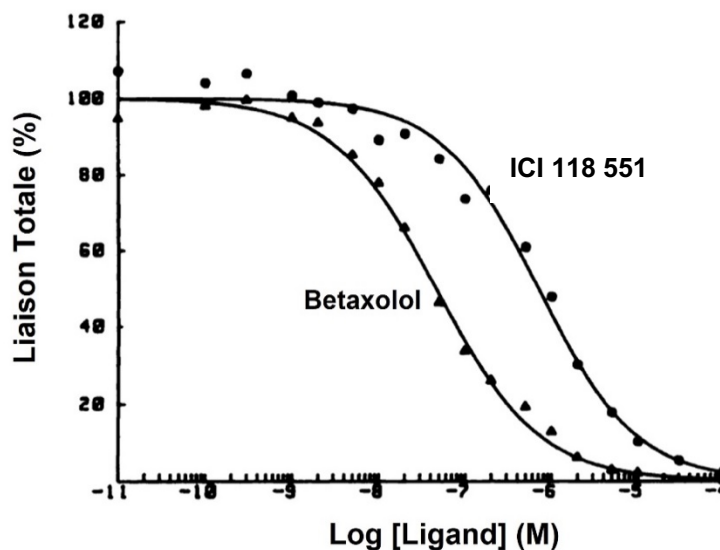
Figure 2 : Densité des récepteurs obtenue par liaison du radio ligand ICYP sur une préparation membranaire de ventricules sains et insuffisants cardiaques.

Groupe	Densité β 1-AR (fmol/mg)	Densité β 2-AR (fmol/mg)
Contrôle	71,9±4,8	16,8±2,2
Insuffisance cardiaque	28,4±7,6*	15,7±1,8

- **Question 3** : De quel type d'étude s'agit-il ? Décrire la méthode expérimentale à l'aide d'un schéma. Citer et définir le deuxième paramètre pharmacologique pouvant être déterminé.
- **Question 4** : Quelle autre méthode permet de calculer ces deux paramètres de façon précise ?
- **Question 5** : Quelle conclusion pouvez-vous faire des résultats obtenus dans la figure 2 ?

Une seconde étude mesure le pourcentage de liaison du radioligand ICYP ($K_D = 11,6 \text{ pM}$) utilisé à une concentration de 100 pM en présence d'un ligand sélectif des β 1-ARs, le betaxolol et d'un ligand sélectif des β 2-ARs, l'ICI 118 551 sur des préparations membranaires obtenues à partir de ventricules sains (Figure 3).

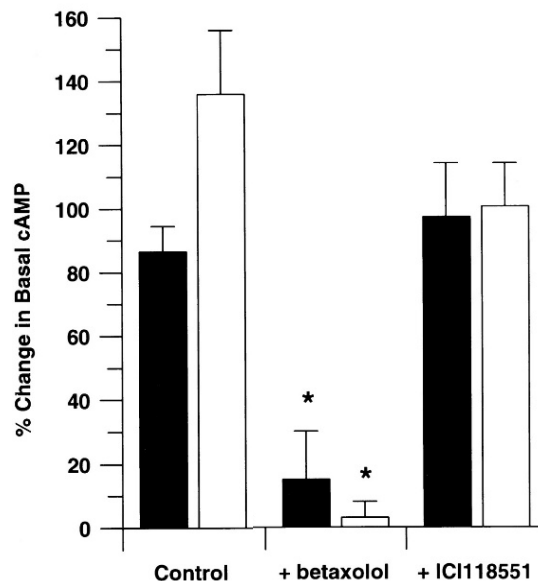
Figure 3 : pourcentage de liaison du radioligand ICYP en présence d'un ligand sélectif des β 1-ARs.



- **Question 6** : De quelle expérience s'agit-t-il ? Quels paramètres pharmacologiques peut-on déterminer à partir de ce graphique ? Calculer ce paramètre pour chacun des ligands. Que pouvez-vous en conclure sur la sélectivité des ligands pour les β -AR.

Les effets des ligands β -AR, dont le betaxolol et l'ICI 118 551, sur l'une augmentation de la production d'AMPc, induite par le bucindolol (en noir) et le xameterol (en blanc), ont été étudiés sur des cardiomyocytes de rats neonates. Les résultats sont présentés dans la figure 4. *p < 0,01.

Figure 4 : Effets des différents ligands sur la production d'AMPc.



- **Question 7** : Commentez les résultats présentés dans la figure 4. Que pouvez-vous conclure sur les effets du betaxolol et de l'ICI 118 551 sur l'activité de l'AC ?
- **Question 8** : Complétez le schéma ci-dessous de la voie de signalisation conduisant à l'effet inotrope cardiaque de la stimulation des β -AR ?

