



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mostefa Benboulaïd Batna 2
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie



TRAVAUX DIRIGES DE PHARMACOLOGIE - 3^{ème} Année-

TD N°04 : Évaluation pré clinique des médicaments

Dr. A. Ahmane

2023 - 2024

Objectifs :

- 1- Tracer à partir de données expérimentales les courbes :
 - dose / pourcentage d'effet
 - dose / pourcentage de mortalité sur papier log-probit ;
- 2- Déterminer la DE50 et la DL50 par les deux méthodes graphique et mathématique ;
- 3- Calculer l'index thérapeutique.

I. Bases théoriques

1. Détermination de la DE50

Constitution de six à sept lots d'animaux

Administration de doses progressives de la molécule à étudier ($D_{n+1} > D_n$)

Prévoir un lot témoin recevant uniquement le véhicule

Observation de la réponse

Détermination du pourcentage d'effet par rapport au lot témoin

$$\% \text{effet (atténuation ou disparition des symptômes)} = \frac{\text{symptômes du lot témoin} - \text{symptômes du lot}}{\text{symptômes du lot témoin}} \times 100$$

Établissement de la courbe dose effet et détermination de la dose efficace 50 correspondant à l'inhibition de 50% des effets

2. Détermination de la DL50%

Étude de toxicité aigue

Constitution de six lots de 10 à 20 animaux (souris)

Administration de doses progressives de la molécule à étudier ($D_{n+1} / D_n = 1.2 - 1.5$)

Observation de la mortalité (pendant 14 jours) et détermination du pourcentage de mortalité

Établissement de la courbe dose / effet

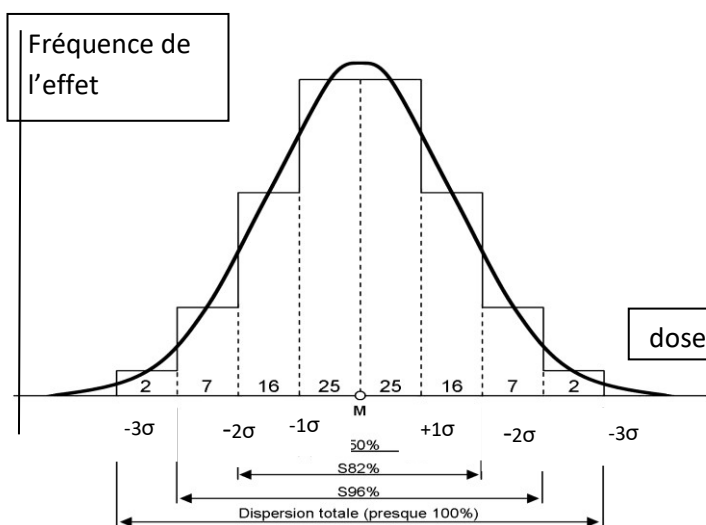
Détermination de la DL50

Autopsie des animaux morts pour déterminer les cibles des lésions

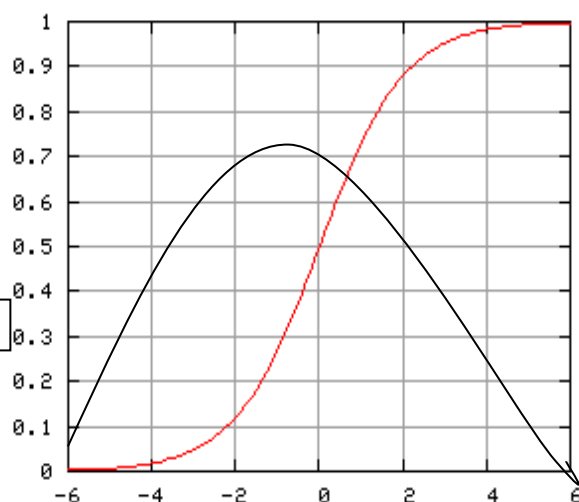
Étudier la réversibilité des phénomènes

2. 1. Méthodes de détermination de la DL50

Distribution de la réponse selon la courbe de GAUSS



Distribution de la réponse selon la



2. 1. 1. Méthode de MILLER et TINTER

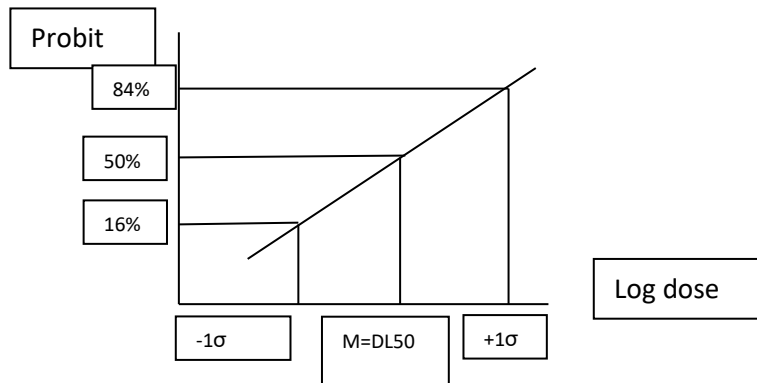
M : moyenne des doses

σ : écart type, à chaque valeur de σ correspond un pourcentage d'effet

-1σ -----16% $+1\sigma$ -----84% -0.5σ -----31% $+0.5\sigma$ -----69%

À partir de cette relation on peut transformer la courbe de fréquence cumulée en une droite exprimant les doses en logarithme et les pourcentages par leurs valeurs en unité d'écart type et pour éviter le maniement des valeurs négatives on utilise la notation « probit » en ajoutant 5 à chaque valeur obtenue

% de réponse	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Valeur de σ	$-\infty$	-1.28	-0.84	-0.52	-0.25	0	+0.25	+0.52	+0.84	+1.28	$+\infty$
Probit	$-\infty$	3.72	4.16	4.48	4.75	5	5.25	5.52	5.88	6.28	$+\infty$



Les valeurs 0% et 100% sont corrigées selon les formules suivantes

0% -----0.5/Nx100

100%------(N-0.5)/N x100 où N est le nombre d'animaux utilisés dans chaque lot

L'écart type $\sigma = \text{DL84\%} - \text{DL16\%} / 2$

Écart à la moyenne $\text{SEM} = 2\sigma / \sqrt{2N}$, où N' est le nombre total d'animaux dans les lots ayant donné des pourcentages de morts entre 7 et 93%

La DL 50 déterminée graphiquement est exprimée comme suit :

$$\text{DL50}_{\text{graph}} \pm \text{SEM}$$

2. 1. 2. Méthode de KARBEL et BEHRENS

$$\text{DL50} = \text{DL100} - \Sigma a \cdot b/n$$

où :

DL100 : est la dose qui a donnée 100% de mortalité

a : différence entre deux doses successives

b : moyenne de morts entre deux doses successives

n : nombre moyen d'animaux par lot

3. Index thérapeutique

Également appelé marge thérapeutique ; il renseigne sur la toxicité du médicament, plus il est étroit plus la substance est toxique

$$\text{IT} = \text{DL50} / \text{DE50}$$

II. Exercice

Afin d'explorer l'activité anti-inflammatoire de l'ibuprofène, la technique de l'épanchement pleural a été réalisée.

Des souris males pesant 30gr sont réparties en 7lots à raison de 10 animaux par lot. Un lot témoin est également prévu.

L'épanchement pleural est provoqué par injection intra pleurale de 0.03mg/k de carragénine chez toutes les souris mises en expérimentation.

Une heure après, chaque lot reçoit une dose d'ibuprofène par voie intra péritonéale alors que le lot témoin ne reçoit que de l'eau physiologique.

Six heures après les animaux sont sacrifiées et le liquide pleural est prélevé pour mesurer son volume. Les résultats sont exprimés par le tableau I

Lot	T	1	2	3	4	5	6	7
Nb d'animaux	10	10	10	10	10	10	10	10
Dose de carragénine(mg/k)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Dose d'ibuprofène (mg/k)	0	0,28	0,36	0,42	0,52	0,66	0,82	0,98
Volume du liquide (ml)	25,0	23,75	21	18	11,75	9	3	1,25

Dans un second temps et afin d'évaluer la toxicité aigüe de l'ibuprofène 7 lots de 10 souris males pesant 20g ont reçu des doses croissantes d'ibuprofène, ils sont mis en observation pendant 14 jours ; le nombre de morts est reporté dans le tableau II

Lot	1	2	3	4	5	6	7
Nb d'animaux	50	50	50	50	50	50	50
Dose d'ibuprofène (mg/k)	3	3,8	4,8	6	7	8,4	10,5
Nb de morts	0	8	18	30	37	44	50

- 1- Tracer les graphes %d'effet en fonction de la dose et % de morts en fonction de la dose sur le même papier log-probit
- 2- Déterminer graphiquement la DE50
- 3- Déterminer la DL50 par les deux méthodes (Miller et Tinter/ Karber et Behrens)
- 4- Déterminer l'index thérapeutique

Feuille de réponse

1- Détermination des pourcentages

N° lot	1	2	3	4	5	6	7
% effet							

N° lot	1	2	3	4	5	6	7
% de morts							

2- Corrections des valeurs de 0% et 100%

0% : 100% :

3- Détermination de la DE50

.....

DE 50 =

4-Détermination graphique de la DL50 DL 50 =

Calcul de l'écart type :

.....

σ =

Calcul de l'écart à la moyenne

.....

SEM =

DL 50 =

5- Détermination mathématique de la DL 50

.DL 100 =

A									
b									
a.b/n									

$\sum a.b/n =$

DL 50 =

6- Calcul de l'index thérapeutique

IT =