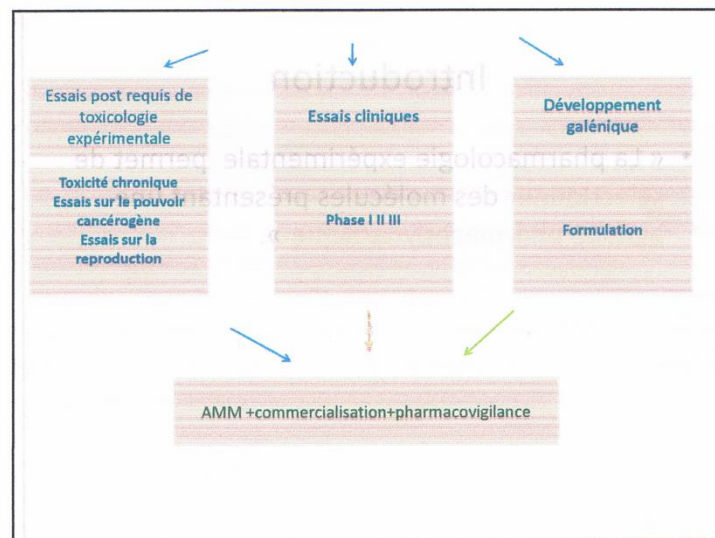
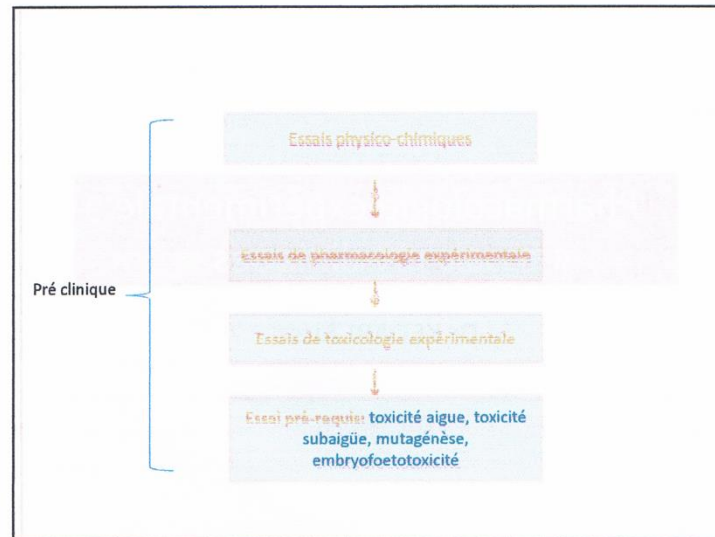


Pharmacologie expérimentale « essais précliniques »

Dr KEDARI Aissa

Introduction

- « La pharmacologie expérimentale permet de **sélectionner** des molécules présentant une **activité pharmacodynamique** ».



2. découverte du médicament

- Naissance d'un médicament:
- Le hasard
- Observation clinique
- Criblage systématique de substances (général)
- Criblage orientée

découverte du médicament

Screening (criblage) :

C'est soumettre à des essais biologiques des substances prises ou non au hasard.

❖ Screening général :

- Couvre toutes les activités biologiques (test appartenant à plusieurs systèmes : cardiovasculaire , digestif etc...).
- Permet de découvrir les têtes de série et constitution de chimiothèques.
- **Mais** : coûteux, rendement faible , caractère aléatoire.

2.découverte du médicament

❖ Screening orienté :

- Limité à quelques activités appartenant à quelques systèmes seulement.
- Ex : recherche de l'activité anti-inflammatoire d'un dérivé non stéroïdien.

Actuellement : robotisation du screening

- criblage à haut débit : nombre élevé de composés soumis à plusieurs tests.
- gain de temps et d'argent.

Méthodologie des essais pharmacodynamiques

- Passe par le choix de modèles expérimentaux

Homogénéité du modèle : qui permet d'assurer la reproductibilité de la réponse pharmacologique.

Transposition des résultats de l'animal à l'homme.

Modèle in vivo

Modèle in vitro

Modèle in vivo

- l'animal : normal ou pathologique, la pathologie peut être induite expérimentalement, exp: fièvre induite chez le lapin par injection de peptone de viande.
- éveillé ou anesthésié,

Exemples de modèle animal utilisé

Psychotrope	Rat , souris
Anesthésique locaux	lapin
Anti pyrétiq	Lapin
Anti ulcéreux	Souris, rat
Cardiovasculaire	Rat ,chien,cobaye



Modèle in vitro

- organe isolé: iléon et trachée du cobaye, oreillette isolé du cobaye, jéjunum du lapin
- essais sur culture cellulaire
- essais sur des espèces infra-mammaliennes
- méthodes in-silico

Evaluation de l'effet : réponse pharmacologique

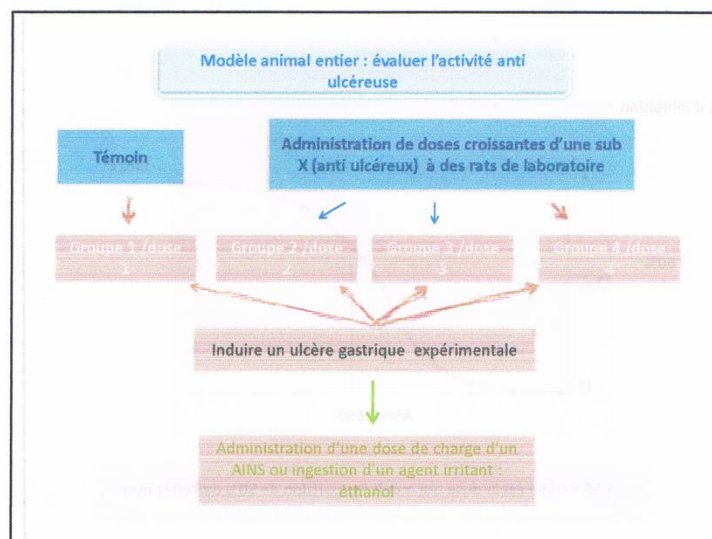
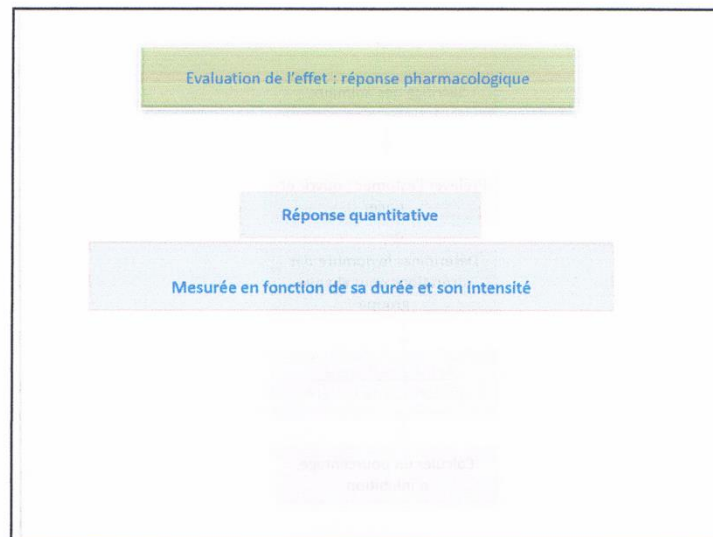
Réponse qualitative

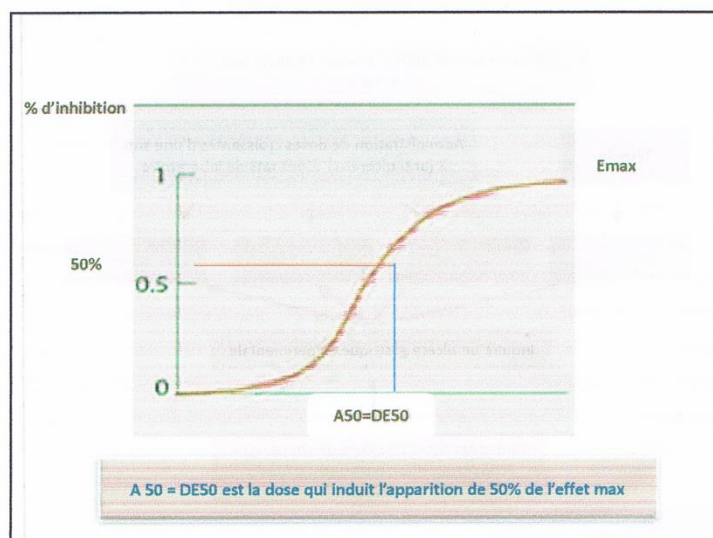
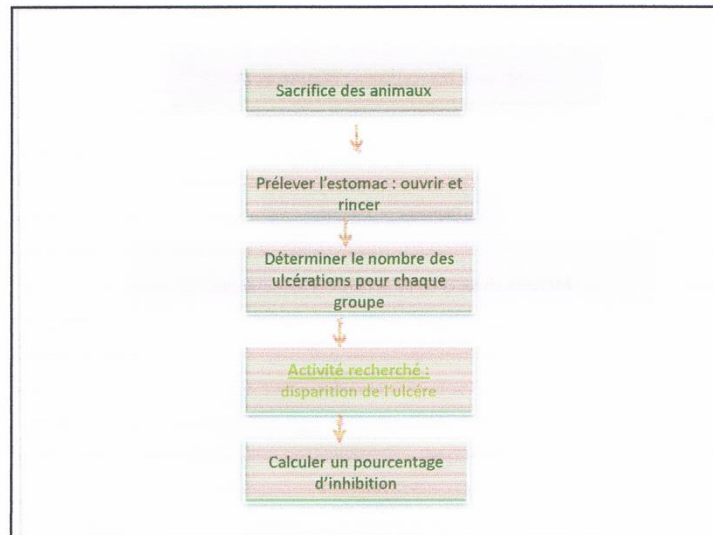
La réponse est évaluée par la présence ou l'absence d'un caractère étudié.

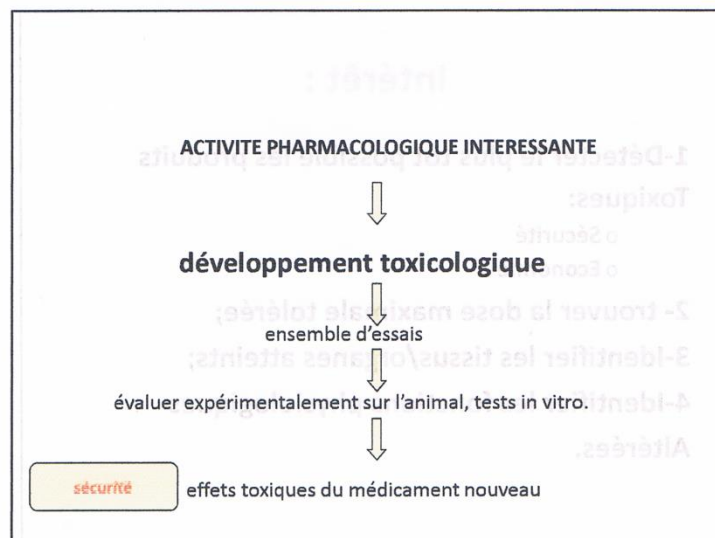
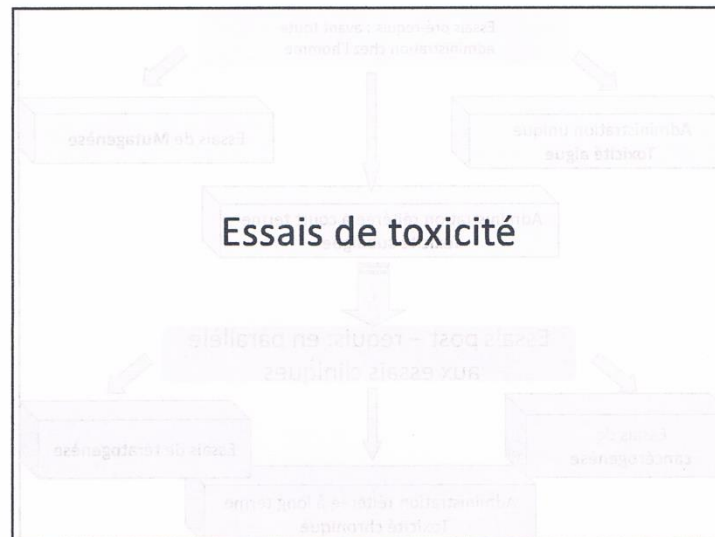
Injection du
pantérazole à des
souris

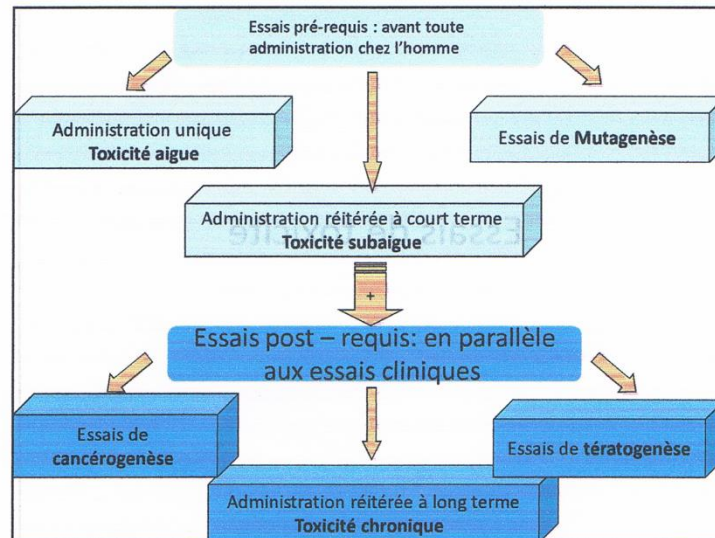
Effet observé :
convulsions

Présence ou absence de
convulsions









Intérêt :

1-Détecter le plus tôt possible les produits

Toxiques:

- o Sécurité
- o Economie

2- trouver la dose maximale tolérée;

3-Identifier les tissus/organes atteints;

4-Identifier les fonctions physiologiques

Altérées.

ESSAIS DE TOXICITE PRE-REQUIS

1. ESSAI DE LA TOXICITE AIGUE
2. ESSAIS DE TOXICITE SUBAIGUE
3. ESSAIS SUR DE MUTAGENESE

21

1-Essai de toxicité par administration unique :ESSAI DE TOXICITE AIGUE

1.1-Intérêt :

- ☐ Premier essai lorsque le potentiel toxique de la molécule n'est pas connu.
- ☐ Évaluation des phénomènes toxiques et leur évolution dans le temps sur le plan :
 - ☐ **qualitatif** : symptômes, temps d'apparition de ces derniers.
 - ☐ **quantitatif** : détermination de la DMM et la DL50.
- ☐ **DMM** : dose minimale mortelle
 - ☐ déterminée par IVL ou Perfusion continue, arrêt cardiaque.
 - ☐ Intérêt : choix des doses pour la détermination de la DL50.
- ☐ **DL50 (Dose Létale 50): sa détermination constitue le but principal de l'essai.**

22

1-Essai de toxicité par administration unique :ESSAI DE TOXICITE AIGUE

1.2- définition de la DL50

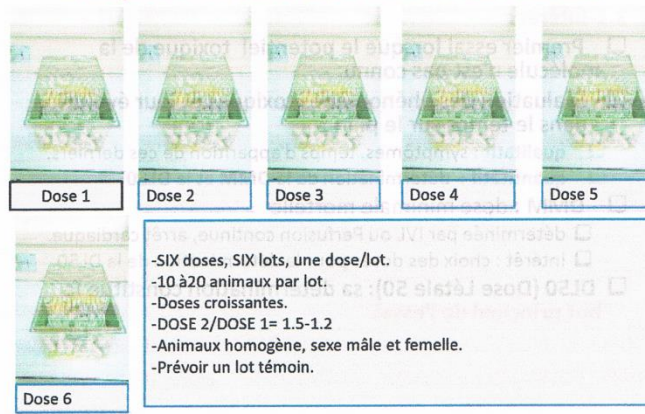
Dose pouvant causer la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions expérimentales précises.

1.3-Protocole : vise à déterminer la DL50

- Espèce animale :souris/rat.
- Sexe :mâle – femelle.
- Doses : plusieurs/lot.
- Nombre d'administrations : unique.
- voie d'administration: celle de l'homme, biodisponibilité 100% IP, IV

13

1-Essai de toxicité par administration unique :ESSAI DE TOXICITE AIGUE



The diagram illustrates the experimental setup for an acute toxicity test. It shows six groups of animals, each receiving a different dose, arranged in a row. Below each group is a label: Dose 1, Dose 2, Dose 3, Dose 4, Dose 5, and Dose 6. To the right of the groups is a box containing the following parameters:

- SIX doses, SIX lots, une dose/lot.
- 10 à 20 animaux par lot.
- Doses croissantes.
- DOSE 2/DOSE 1= 1.5-1.2
- Animaux homogène, sexe mâle et femelle.
- Prévoir un lot témoin.

1-Essai de toxicité par administration unique :ESSAI DE TOXICITE AIGUE

☐ observations: 14 jours

- ☐ **Heure** de la mort
- ☐ **Nombre** de morts
- ☐ **Symptômes**
- ☐ **Autopsie +++** (morts et survivants)
 - ☐ examen *macroscopique* des viscères
 - ☐ examen *histopathologique*

effort de l'animal

dosage de la dose

25

1-Essai de toxicité par administration unique :ESSAI DE TOXICITE AIGUE

1.4-calcul de la DL₅₀

1.4.1-Méthode de Karber et Behrens: mathématique

$$DL_{50} = DL_{100} - (\sum(a \times b) / n)$$

DL₁₀₀ : dose létale donnant 100% de mortalité

a :différence entre deux doses successives.

b: moyenne de morts entre deux doses successives.

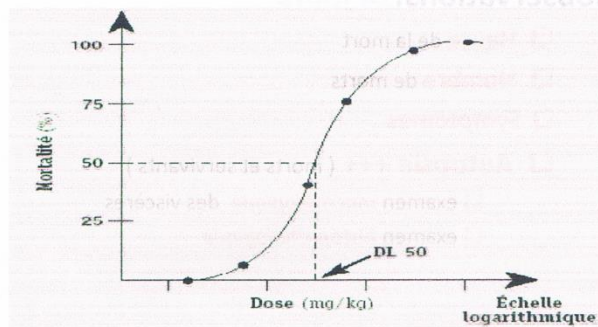
n : nombre d'animaux utilisés par lot.

Graphes représentés (papier log-prob)

26

1-Essai de toxicité par administration unique : ESSAI DE TOXICITE AIGUE

1.4.2- Méthode de Miller et Tainter : graphique



27

Probit

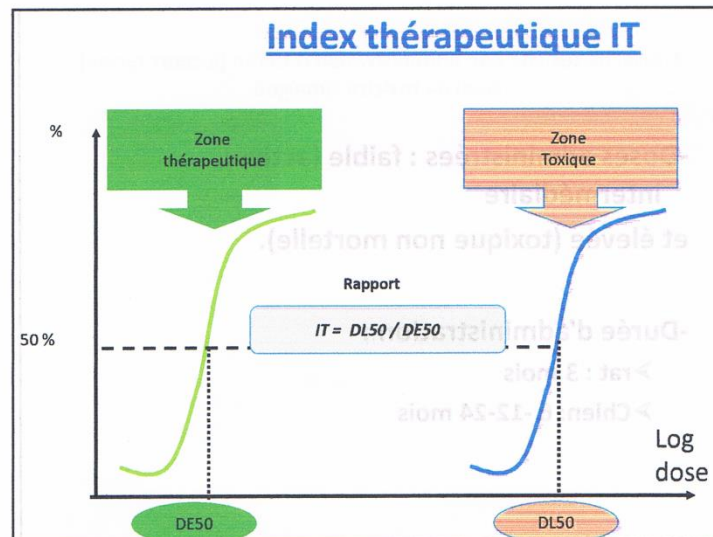
50%

DL50

log dose

Graphique représentant la relation dose/mortalité
(papier log-probit)

28



2-Essai de toxicité par administration réitérée (à court terme) : Essai de toxicité subaiguë

1-Intérêt :

- Evaluation des effets toxiques après exposition répétée.
- Déterminer le niveau « sans effet » de la substance.

2-Protocole :

- Espèce animale : 2 : rongeur (rat) et non Rongeur (chien / singe).
- Sexe : mâle –femelle (nombre égal pour les deux sexes) .

2-Essai de toxicité par administration répétée (à court terme) : Essai de toxicité subaiguë.

-Doses administrées : faible (active),
intermédiaire
et élevée (toxique non mortelle).

-Durée d'administration :

- rat : 3 mois
- Chien: 6 -12-24 mois

10

Évaluation et exploitation des résultats

☐ Dose sans effet observé ou NOEL « No Observed Effect Level » + + +(exploitée en clinique et en toxicologie expérimentale).

☐ Nature des effets toxiques , organes cibles, mortalité.

conclusion

sécurité du médicament

Effets toxiques importants



produit éliminé

Exception :

Intérêt thérapeutique exemple, **les anticancéreux**

3. Essai de mutagenèse

Intérêt :

Identification des agents mutagènes.

☐ Relation étroite

mutagenèse / cancérogenèse

☐ **95 %** des cancers / d'origine mutagène

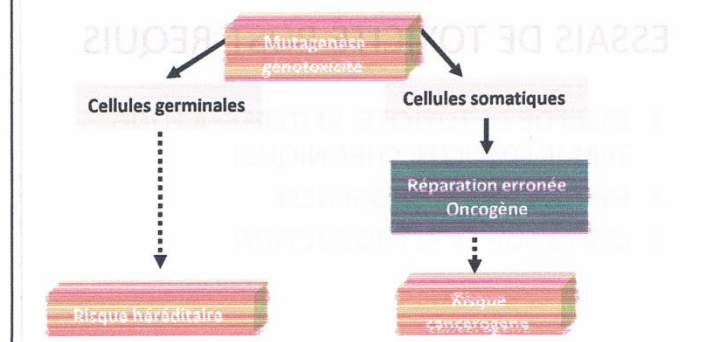
33

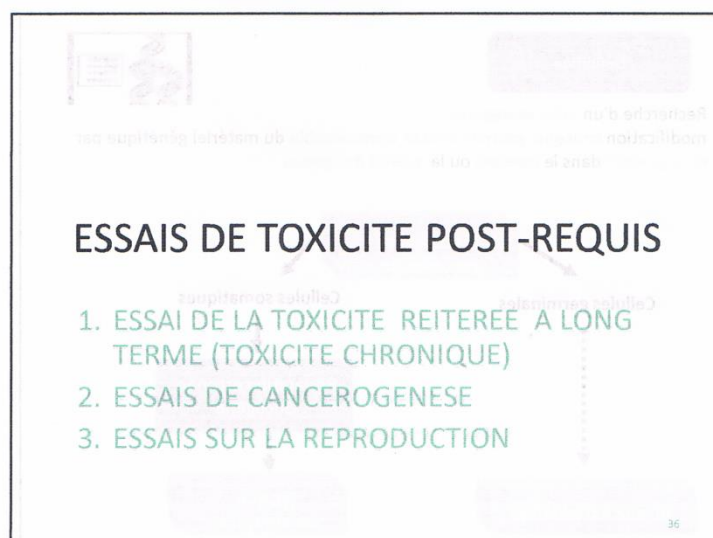
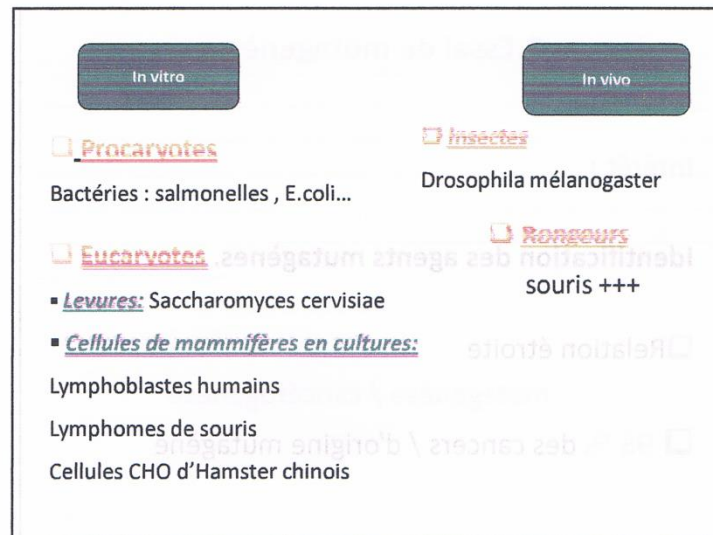
Définition



Recherche d'un **effet mutagène**

modification **brusque, permanente et transmissible** du matériel génétique par **changement** dans le nombre ou la qualité des gènes.





1.essai de la toxicité réitérée a long terme:
(toxicité chronique)

1-Intérêt :

- Affiner ou compléter les informations sur la toxicité du produit.
- Déterminer les organes cibles (altérations fonctionnelles et anatomopathologiques).
- Mise en évidence d'effets réversibles et non réversibles.
- Existence ou non d'effets cumulatifs ou retard.

37

1.essai de la toxicité réitérée a long
terme: (toxicité chronique)

2-protocole :

- Espèce : rat+++/chien++/ singe+.
- Sexe : mâle – femelle (nombre égale pour chaque sexe).
- Durée d'administration :
 - o rat : 2 ans
 - o Chien / singe : 7 ans ou plus
- Doses : selon résultats de la subaigue, usage thérapeutique.

38

2.Essai de cancérogenèse :

But :

-Evaluer le potentiel cancérigène de:

☐molécules administrées en chronique:

Antihypertenseurs.

☐molécules suspectes lors des premiers essais

toxiques.

☐molécules ayant une analogie structurale avec des produits cancérigènes.

2.Essai de cancérogenèse :

2.3.Protocole :

-Espèce animale :Souris / rat /hamster

-Sexe :mâle – femelle.

-Doses : 3 : forte, faible et intermédiaire

- Voie : celle de l'exposition chez l'homme.

2. Essai de cancérogenèse :

-Durée :

- 24 mois : souris/hamster
- 30 mois : rat

-Examens :

- Biologiques
- Cliniques
- Histopathologiques
- Autopsie : Recherche de tumeurs

-Résultat :

Effet du tout ou rien: pas d'effet cancérigène.

41

3. Essai sur la reproduction

Le protocole expérimentale comporte trois niveaux d'investigation : Trois segments.

- Segment I: étude sur la fertilité.
- Segment II : étude d'embryotoxicité et de foetotoxicité.
- Segment III : étude de péri et post natalité.

42

3.Essai sur la reproduction :segment I

Etude de la fertilité:

- Etude de l'impact du produit sur les
- Gamètes(stérilité, malformation).
- Sexe : mâle et femelle
- Animal :souris/singe/rat

43

3.Essai sur la reproduction :segment I

Protocole :

- Traitement pendant toute la durée de la gamétogenèse
- Croisement d'animaux traités avec ceux non traités ou traités.
- Examens:
Observation de la gravidité des femelles
Observation des nouveaux nés à la recherche de malformations.

44

Conclusion : 3. Essai sur la 2e partie II

1-Essais pré-cliniques incontournables :

préalable aux essais cliniques

2-Pharmacologie expérimentale :

Notion de screening

DE 50

3-Toxicologie expérimentale :

Différents essais

DL50

Mais : difficulté d'extrapolation à l'homme: Différences anatomophysiologiques.

47

Conclusion : 3. Essai sur la 2e partie II

1-Essais pré-cliniques incontournables :

préalable aux essais cliniques

-Sexe : femelles gestantes

-Âge : mature

-Animal : rat / souris

-Administration du produit quelques jours avant mise

bas et pendant toute la durée de l'allaitement.

-Recherche d'éventuelles perturbations de la

croissance du fœtus, de la parturition et de la lactation