BU bibliothèque Lyon 1

ANNALES DE PHARMACIE

Le présent recueil peut comporter des lacunes : la bibliothèque ne met à disposition de ses usagers que les sujets d'examens qui lui sont communiqués.

Sujets d'examens de pharmacie

UELC 2023-2024

Annales de l'Université Lyon 1

Faculté de pharmacie

Année universitaire 2023-2024

Université Lyon 1
Faculté de Pharmacie

UELC

Session Automne

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *UELC Actualités de la pharmacie d'officine (niv.1)* **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE DFASP1
UELC ACTUALITES DE LA PHARMACIE D'OFFICINE (NIV.1)
Année 2023 / 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n°1 :

TOXICOLOGIE DES PLANTES ET CHAMPIGNONS

(D. Blaha, I. Kerzaon)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 h (4 fascicules)

Ce fascicule n° 1 comprend :

7 QROC

Calculatrice : NON autorisée
Documents : NON autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

UELC Actualités de la pharmacie d'officine (niv.1)
Responsable : Valérie Siranyan
Module : Toxicologie des plantes et champignons
Intervenants : D. Blaha, I. Kerzaon

TOXICITE DES CHAMPIGNONS

Question n° 1 : Le syndrome phalloïdien : symptômes, prise en charge du patient et citez le champignon principalement impliqués dans ce syndrome

Question n° 2 : Concernant les intoxications avec les champignons, donnez les définitions des 2 sortes de toxicités possibles (acquise et spécifique)

Question n° 3 : Concernant la prévention des risques d'intoxication, en tant que pharmacien, donnez 3 conseils important à indiquer aux ramasseurs

<u>Question n°4</u> : **Confusion plantes toxiques / plantes comestibles.**

Décrire un cas de **confusion** courant impliquant la digitale pourpre (*Digitalis purpurea*, Plantaginacées), en donnant :

1- La(les) plante(s) avec laquelle(lesquelles), elle peut être confondue (préciser : noms français et latin, famille botanique).
2- Dans quelle(s) **circonstance(s)** a lieu ce type de confusion ?
3- Quels sont les critères botaniques permettant de distinguer ces plantes de la digitale pourpre ?
4- Pour la digitale pourpre :
    a. Quelle(s) est(sont) la(les) partie(s) de la plante qui est(sont) toxique(s) ?
    b. Quelles sont les substances incriminées ?
    c. Et enfin, quels sont les symptômes d'intoxication à la digitale pourpre ?

Question n°5 :

Au mois de septembre, une patiente arrive à l'officine avec son enfant qui a mangé quelques fruits lors d'une promenade à la campagne et qui a vomi à plusieurs reprises. Vous devez identifier la plante incriminée et contacter un centre antipoison. La personne vous a apporté un échantillon de la plante que son enfant a goûté : il s'agit d'une plante herbacée grimpante avec des vrilles, des feuilles palmatilobées, des fleurs à 5 pétales blanchâtres et qui porte des fruits sphériques rouge mat. En ouvrant plusieurs fruits, vous constatez qu'il s'agit de baies contenant 5 graines ovoïdes aplaties.

1. **De quelle plante s'agit-il ? Donnez son nom français, son nom latin et sa famille.**

2. **Quelles sont les substances toxiques contenues dans cette espèce végétale ?**

Question n°6 :

Classez les plantes toxiques suivantes dans le tableau ci-dessous en fonction de leur **degré de dangerosité** potentielle. Pour cela, placez leur **lettre** dans la case correspondante du tableau.

A- La douce-amère, *Solanum dulcamara* (Solanacées).

B- Le cotoneaster, *Cotoneaster horizontalis* (Rosacées).

C- L'aconit napel, *Aconitum napellus* (Renonculacées).

D- Le pommier d'amour, *Solanum pseudocapsicum* (Solanacées).

E- Le sureau yèble, *Sambuscus ebulus* (Adoxacées).

F- Le vérâtre, *Veratrum album* (Mélanthiacées).

G- Le chèvrefeuille des bois, *Lonicera periclymenum* (Caprifoliacées).

H- Le gouet, *Arum italicum* (Aracées).

I- La belladone, *Atropa belladonna* (Solanacées).

J- L'if, *Taxus baccata* (Taxacées).

 **Plante très toxique, pouvant être mortelle**	
 **Plante dangereuse**	
 **Plante réputée dangereuse, non comestible**	

Question n°7 :

Classez les plantes toxiques suivantes dans le tableau ci-dessous suivant le port de la plante et les caractéristiques de leur fruit. Pour cela, placez leur lettre dans la case correspondante du tableau.

A- Le laurier cerise, *Prunus laurocerasus* (Rosacées).

B- Le phytolaque, *Phytolacca americana* (Phytolaccacées).

C- La salsepareille, *Smilax aspera* (Smilacacées).

D- Le muguet, *Convallaria majalis* (Asparagacées).

E- Le sureau hièble, *Sambuscus ebulus* (Adoxacées)

F- Le buisson ardent, *Pyracantha coccinea* (Rosacées)

G- Le lierre grimpant, *Hedera helix* (Araliacées)

H- La symphorine, *Symphoricarpos alba*, (Caprifoliacées)

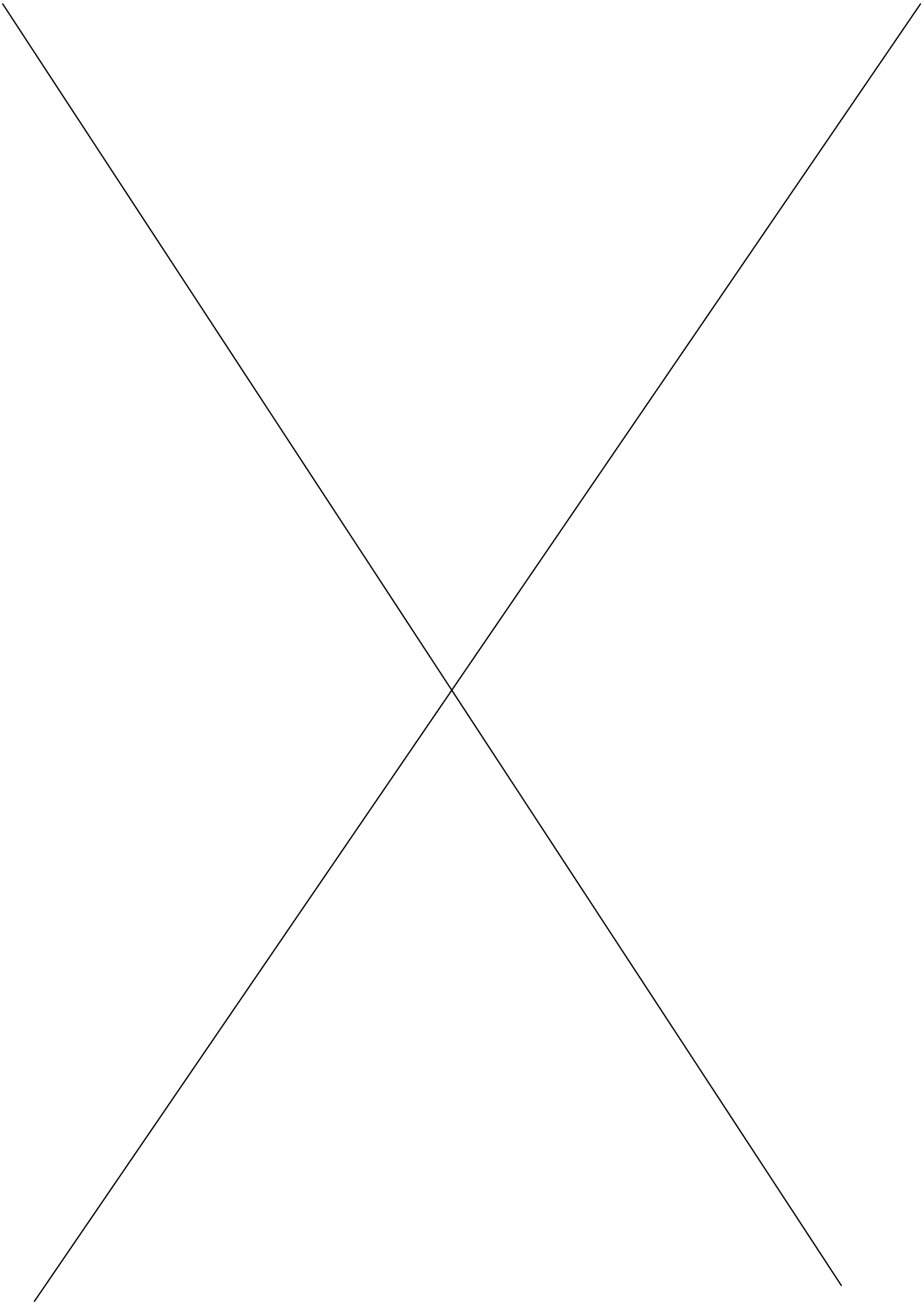
I- Le gouet, *Arum italicum* (Aracées)

J- Le daphné garou, *Daphne gnidium* (Thyméléacées)

K- Le sceau de Salomon, *Polygonatum odoratum* (Asparagacées)

L- La jusquiame noire, *Hyosciamus niger* (Solanacées)

		Fruits charnus			**Fruits secs**
		Noir	**Rouge**	**Blanc**	
Port de la plante	**Arbres, arbustes, arbrisseaux**				
	Plantes herbacées dressées				
	Plantes grimpantes				



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Module Thérapeutiques Alternatives*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE

DFASP1
UELC ACTUALITES DE LA PHARMACIE D'OFFICINE
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 2 – THERAPEUTIQUES ALTERNATIVES PHYTOTHERAPIE

Durée de l'épreuve : 1h (4 fascicules)

Ce fascicule n°2 comprend :

- 3 QROCs

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule n°2 comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Module Thérapeutiques Alternatives - Phytothérapie
S. Michalet

a) **Concernant les drogues végétales, quelle distinction fait-on entre une monographie publiée à l'EMA et une monographie publiée à la Pharmacopée (française ou européenne). Illustrer en donnant 3 exemples d'informations que l'on peut retrouver dans chacun de ces documents**

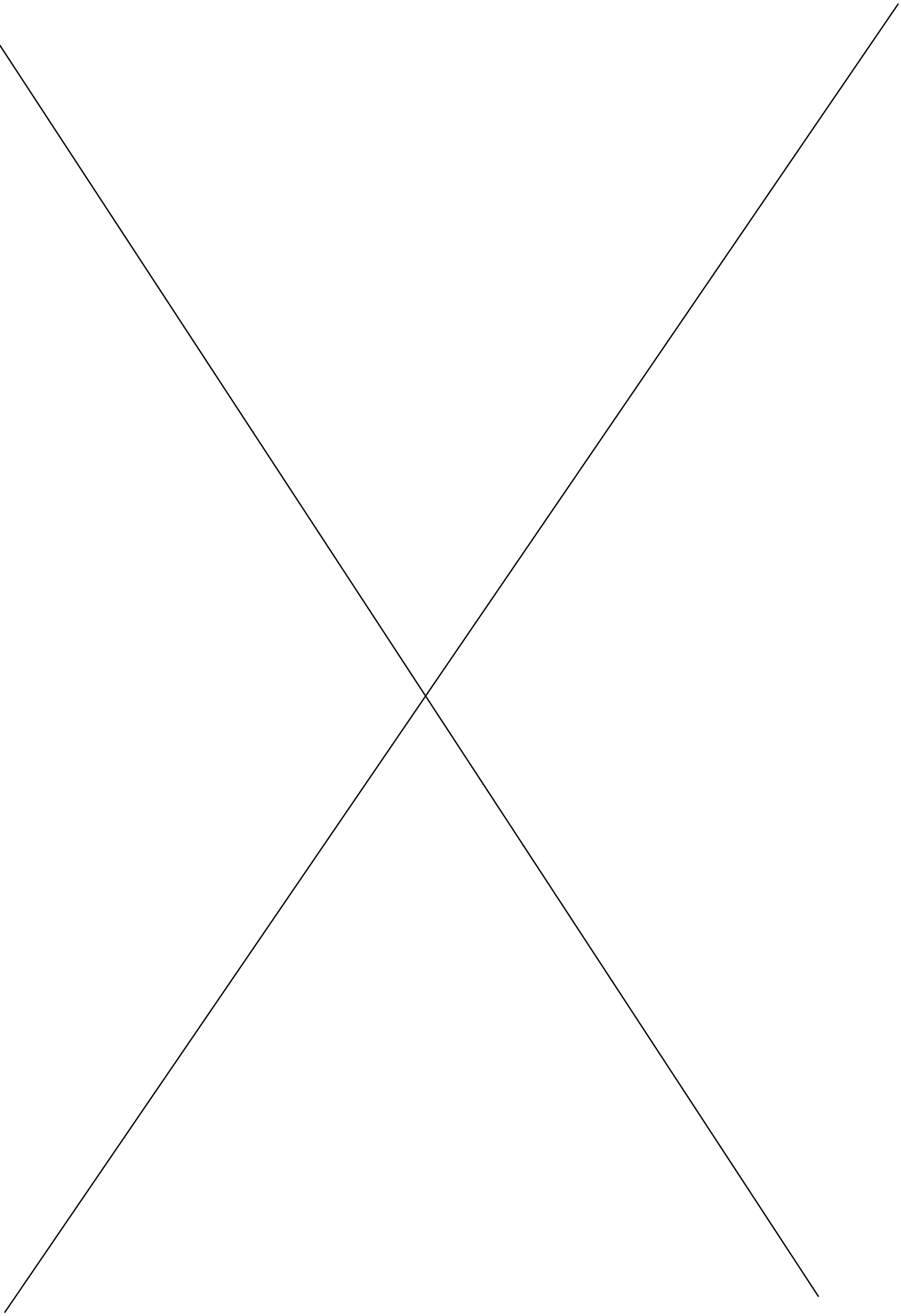
b) **Voici la composition de deux spécialités contenant de l'Aubépine :**

Spécialité 1 : Pour une gélule : Aubépine (sommité fleurie) : 350 mg de poudre totale.

Spécialité 2 : Pour une gélule : Aubépine (extrait hydroalcoolique sec de sommité fleurie) : 200 mg

Donner les principales différences entre ces spécialités en termes d'obtention, de posologies, d'absorption, de profils d'effets indésirables et de contre-indications éventuelles

c) Que signifie le terme EPS® ? Donner la signification, le procédé d'obtention, les principaux avantages et inconvénients de ce type de forme galénique



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Module Thérapeutiques Alternatives*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE

DFASP1
UELC ACTUALITES DE LA PHARMACIE D'OFFICINE
Année 2023/2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 3 – THERAPEUTIQUES ALTERNATIVES AROMATHERAPIE

Durée de l'épreuve : 1h (4 fascicules)

Ce fascicule n°3 comprend :

- 3 QROCs

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule n°3 comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Module Thérapeutiques Alternatives - Aromathérapie
L. Montreuil, M. Jullien

Question 1 :

Complétez la carte d'identité de l'huile essentielle de **votre choix d'après celles vues en cours**

-Dénomination binomiale :

-Organe – Partie distillé :

-Familles biochimiques (« principes actifs ») :

-Propriétés thérapeutiques :

-Indications :

-Contre-indications et précautions d'emploi :

-Un bénéfice :

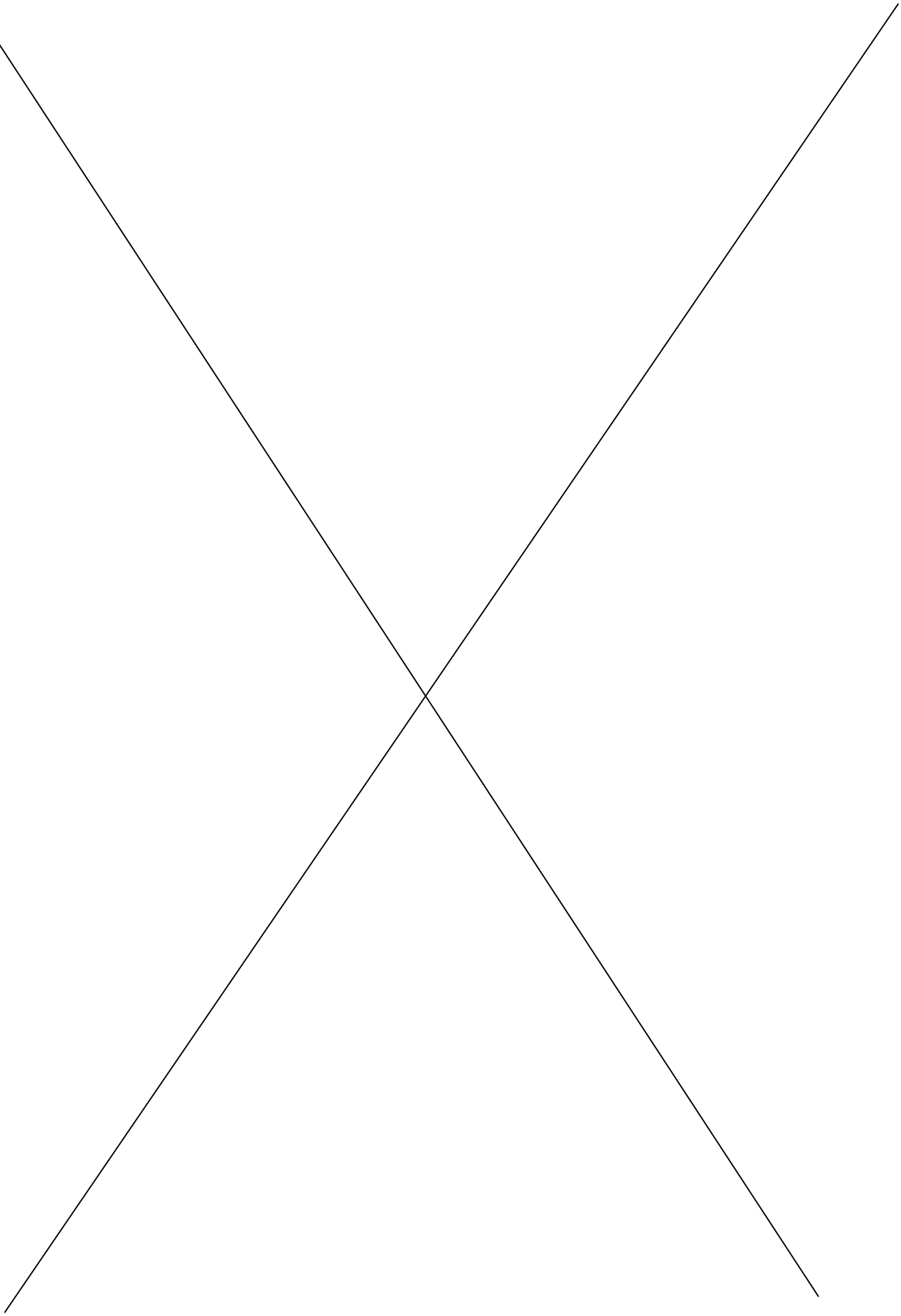
-Un risque

Question 2 :

Citez 3 risques de toxicité liés à l'usage des huiles essentielles, à court ou à long terme, en précisant le type de toxicité ainsi que la famille de molécules responsables de cet effet et une huile essentielle en contenant

Question 3 :

Citez deux domaines au comptoir, dans lesquels l'aromathérapie apporte un bénéfice



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *UELC Actualités de l'officine niv 1* **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Actualités de l'officine niveau 1*

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 4

DUREE DE L'EPREUVE : une heure, comprenant 4 fascicules

HOMEOPATHIE

Ce fascicule n°4 comprend :

- **4 QROC**

Note

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

UELC Actualités de l'officine niveau 1
M-L. ROUX

Question 1 :

Comment procède-t-on pour effectuer une dilution Hahnemanienne ?

Question 2 :

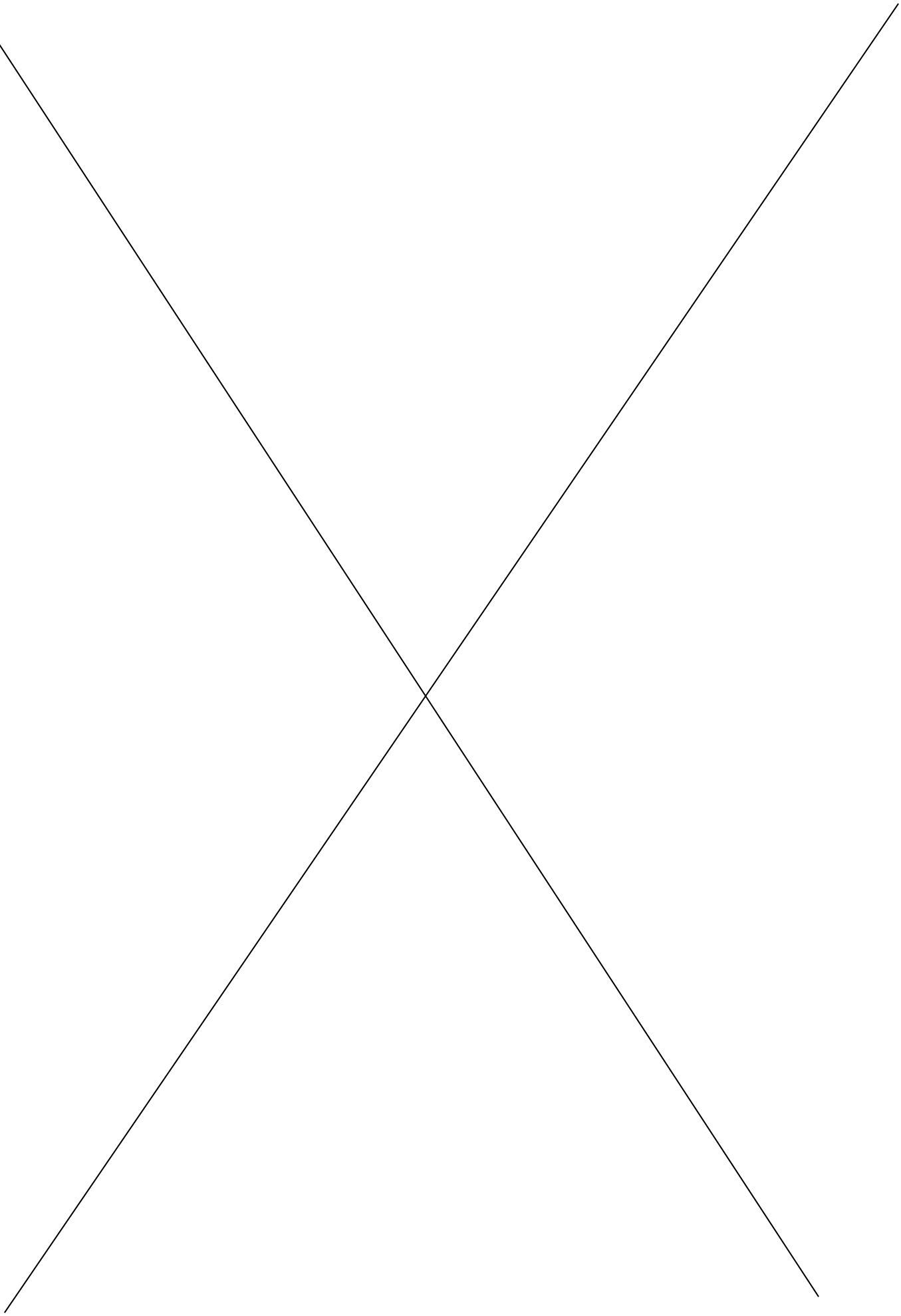
Quels sont les deux principes fondamentaux de l'Homéopathie ? En donner l'explication pour chacun.

Question 3 :

Qu’est-ce que la pathogénésie ? comment est-elle obtenue ? quelles sont les différentes classifications qui en découle ?

Question 4 :

Comment choisissez-vous la dilution d'une souche homéopathique ? citez un exemple



Néphrologie & Thérapeutique 17 (2021) 422–427

Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

Article original

Prise en charge de l'hyperkaliémie récidivante et utilisation des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone : analyse des données françaises de l'étude multinationale européenne PROKALE

Recurrent hyperkalaemia management and use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors: Analysis of French data from the PROKALE multinational European study

Patrick Rossignol *pour les investigateurs de PROKALE

Université de Lorraine, Inserm, Centre d'Investigations Cliniques – Plurithématique 14-33, and Inserm U1116, CHRU Nancy, F-CRIN INI-CRCT (Cardiovascular and Renal Clinical Trialists), Nancy, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :
Reçu le 23 octobre 2020
Reçu sous la forme révisée le 30 novembre 2020
Accepté le 5 janvier 2021

Mots clés :
Hyperkaliémie
Inhibiteur du système Rénine-angiotensine-aldostérone
Insuffisance cardiaque
Insuffisance rénale chronique
Syndrome cardio-rénal
Pronostic

RÉSUMÉ

Introduction. – L'hyperkaliémie récidivante peut conduire à une sous-utilisation des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone. Nous présentons une analyse des données françaises de l'étude PROKALE, qui a évalué la prise en charge de l'hyperkaliémie dans cinq pays européens.
Patients et méthodes. – Un examen rétrospectif des dossiers de patients adultes non dialysés ayant présenté au moins deux épisodes d'hyperkaliémie $\geq$ 5,5 mEq/L sur une période de 12 mois a été effectué.
Résultats. – En France, 115 médecins (57 néphrologues et 58 cardiologues) ont participé à l'étude, et 295 patients ont été étudiés. L'âge moyen était de 68 ans ; 212 patients (71,9 %) avaient une insuffisance rénale chronique, 108 (36,6 %) une insuffisance cardiaque chronique et 102 (34,6 %) un diabète sucré. Le nombre moyen d'épisodes hyperkaliémiques rapportés était de 2,3. Sur 90 hospitalisations, 24 (26,7 %) étaient directement liées à un épisode d'hyperkaliémie. Les traitements utilisés dans la prise en charge de l'hyperkaliémie lors du premier épisode étaient les diurétiques de l'anse (144 patients [48,8 %]), les résines échangeuses de cations (135 [45,8 %]), un régime pauvre en potassium (31 [10,5 %]) ou le bicarbonate de sodium (31 [10,5 %]). Entre les deux épisodes d'hyperkaliémie consécutifs documentés, la proportion des patients traités par des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone a diminué de 42,4 % à 34,6 %.
Conclusion. – Des interruptions du traitement par les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone sont observées en contexte d'hyperkaliémie récidivante. L'hyperkaliémie récidivante représente une cause majeure d'hospitalisation. Des stratégies de prise en charge plus efficaces sont nécessaires.
© 2021 Publié par Elsevier Masson SAS au nom de Société francophone de néphrologie, dialyse et transplantation.

Keywords:
Cardiorenal syndrome
Chronic kidney disease
Heart failure
Hyperkalaemia
Prognosis
Renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors

ABSTRACT

Introduction. – Recurrent hyperkalaemia may result in underutilisation of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors. We report an analysis of French data from the PROKALE retrospective study, which assessed the management of recurrent hyperkalaemia in five European countries.
Patients and methods. – A retrospective chart review including patients not on dialysis with two or more hyperkalaemia episodes $\geq$ 5.5 mEq/L documented within a 12-month observation period was performed.

* Auteur correspondant. Centre d'Investigations Cliniques-INSERM CHRU de Nancy, Institut lorrain du Cœur et des Vaisseaux Louis Mathieu, 4, rue du Morvan, 54500 Vandoeuvre Lès Nancy, France
Adresse e-mail : p.rossignol@chru-nancy.fr.

https://doi.org/10.1016/j.nephro.2021.01.004
1769-7255/© 2021 Publié par Elsevier Masson SAS au nom de Société francophone de néphrologie, dialyse et transplantation.

Results. – In France, 115 physicians (57 nephrologists et 58 cardiologists) participated in the study and 295 patients were studied in this analysis. Mean age was 68 years; 212 patients (71.9%) had chronic kidney disease, 108 (36.6%) had chronic heart failure and 102 (34.6%) had diabetes mellitus. The mean number of documented hyperkalaemic episodes was 2.3. A total of 90 hospitalizations occurred during the observation period, of which 24 (26.7%) were directly related to a hyperkalaemic episode. At the time of the first documented hyperkalaemic episode, measures used for the management of hyperkalaemia included loop diuretics (144 patients [48.8%]), sodium/calcium polystyrene sulphonate (135 patients [45.8%]), a low-potassium diet (31 patients [10.5%]) and sodium bicarbonate (31 patients [10.5%]). Between the two consecutive hyperkalaemic episodes documented, the proportion of patients on renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors treatment decreased from 42.4% to 34.6%.
Conclusion. – Renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors treatment interruptions were observed in the setting of recurrent hyperkalaemic episodes. Recurrent hyperkalaemia is a major cause of hospitalizations. More effective strategies for the prevention of recurrent hyperkalaemia are needed.
© 2021 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société francophone de néphrologie, dialyse et transplantation.

Abréviations

ARM	antagonistes du récepteur minéralo-corticoïde
ARA2	antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2
FEVG	fraction d'éjection ventriculaire gauche
iSRAA	inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone
IEC	inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
NYHA	*New York Heart Failure Association*

1. Introduction

L'hyperkaliémie est une anomalie hydroélectrolytique dont une étiologie fréquente est l'altération de l'excrétion de potassium chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique ou d'autres affections chroniques telles que l'insuffisance cardiaque chronique ou le diabète sucré [1,2]. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone (iSRAA) sont la clé de voûte du traitement de ces patients, car ces molécules peuvent améliorer le pronostic cardiovasculaire et rénal en diminuant la mortalité ainsi que les hospitalisations [3,4], en particulier chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque avec diminution de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) [1,5].

Le mécanisme d'action des iSRAA expose de faction inhérente au risque d'hyperkaliémie [1]. Celle-ci peut avoir des conséquences cliniques importantes, comme la survenue d'arythmies graves ou une mort subite ; elle est par ailleurs associée à un risque accru de mortalité toutes causes confondues [1], et à une sous-utilisation et un sous-dosage des iSRAA [6]. L'hyperkaliémie se présente souvent sous forme chronique ou récidivante, ce qui rend nécessaire une prise en charge au long cours. Ainsi, une analyse rétrospective des données d'une cohorte nationale américaine de patients ayant eu au moins une hospitalisation et au moins une mesure de potassium a montré que, parmi les 33 637 patients ayant présenté une hyperkaliémie $\geq$ 5,5 mEq/L, près de la moitié (47 %) avait eu deux épisodes d'hyperkaliémie ou davantage au cours de l'année considérée [7].

La prise en charge thérapeutique de l'hyperkaliémie récidivante est en cours d'évolution, avec l'approbation récente de deux nouveaux chélateurs du potassium en Europe et aux États-Unis [8]. Encore récemment, il était recommandé de restreindre les apports alimentaires en potassium, d'éviter la supplémentation potassique ainsi que les médicaments altérant la fonction rénale, et enfin de mettre en œuvre un traitement diurétique non épargneur potassique ou d'en augmenter la dose s'il était déjà prescrit [9].

L'étude rétrospective PROKALE décrit la gestion contemporaine de l'hyperkaliémie récidivante et l'utilisation afférente de ressources de soins de santé en pratique clinique de routine dans cinq pays européens (Allemagne, Espagne, France, Grande-Bretagne et Italie) [10], préalablement à la mise à disposition de nouveaux chélateurs du potassium dans ces pays. L'objectif de ce rapport est de fournir une analyse détaillée des données françaises de cette étude.

2. Méthodes

2.1. Médecins et patients éligibles

Les médecins hospitaliers et de ville qui ont participé à cette étude entre juin et septembre 2016 devaient avoir au moins 3 ans de pratique en néphrologie ou en cardiologie, et voir en consultation ou dans leur service au moins cinq patients hyperkaliémiques par mois en moyenne. Un examen rétrospectif des dossiers de patients adultes non dialysés ayant présenté au moins deux épisodes d'hyperkaliémie (concentration plasmatique de potassium $\geq$ 5,5 mmol/L et $<$ 7 mmol/L) au cours d'une période d'observation de 12 mois datant de moins de 5 ans a été effectué.

2.2. Données collectées

Les médecins éligibles ont été invités à saisir dans des formulaires électroniques les données anonymisées extraites des dossiers médicaux (trois au maximum par médecin). Les données collectées comprenaient les informations démographiques, les comorbidités, les mesures datées de la concentration plasmatique de potassium, d'autres résultats de tests sanguins, les évaluations de la fraction d'éjection ventriculaire gauche, les traitements reçus et les hospitalisations (dates, durées et causes).

L'approche thérapeutique de l'hyperkaliémie et l'utilisation des iSRAA ont été évaluées spécifiquement, et les observations recueillies lors de deux épisodes consécutifs d'hyperkaliémie ont été comparées.

2.3. Analyses statistiques

Toutes les analyses étaient exploratoires et descriptives. En raison de la nature rétrospective de l'analyse, certaines valeurs n'étaient pas disponibles. Les valeurs manquantes n'ont pas été imputées, mais les patients correspondants n'ont pas été exclus de l'analyse. Tous les patients documentés ont été inclus dans la base

de données. Les données sont présentées en valeur moyenne (écart-type), en valeur médiane (étendue) en cas de distribution asymétrique, en valeur absolue ou en pourcentage.

Les données collectées ont été analysées pour l'ensemble des patients inclus ainsi que pour trois sous-groupes :

- les patients ayant une FEVG documentée inférieure ou égale à 40 % ;
- les patients atteints d'insuffisance rénale chronique ;
- les patients ayant à la fois une insuffisance cardiaque chronique de stade NYHA (*New York Heart Failure Association*) I à III et une insuffisance rénale chronique de classe 3 ou 4.

3. Résultats

Sur 161 médecins ayant répondu au questionnaire de sélection en France, 115 (57 néphrologues et 58 cardiologues) étaient éligibles et ont participé à l'étude. Au total, 295 patients, dont 144 suivis par un néphrologue et 151 par un cardiologue, ont été inclus dans l'analyse.

L'âge moyen des patients était de 68 (±12,5) ans. Les comorbidités étaient fréquentes. Notamment, 212 patients (71,9 %) avaient une insuffisance rénale chronique, 108 (36,6 %) une insuffisance cardiaque chronique et 102 (34,6 %) un diabète sucré. Une prescription d'iSRAA était documentée pour 42,4 % des patients (Tableau 1).

Le nombre moyen d'épisodes hyperkaliémiques rapportés sur une période de 12 mois était de 2,3 (± 0,78). Au total, 90 hospitalisations sont survenues au cours de la période d'observation, dont 24 (26,7) directement liées à un épisode d'hyperkaliémie, et 30 (33 %) pour causes cardiovasculaires.

Les traitements le plus fréquemment utilisés dans la prise en charge de l'hyperkaliémie lors du premier épisode documenté étaient les diurétiques de l'anse (144 patients [48,8 %]) et les résines échangeuses de cations (135 patients [45,8 %]). Plus rarement, le médecin traitant recommandait un régime pauvre en potassium (31 patients [10,5 %]) ou prescrivait du bicarbonate de sodium (31 patients [10,5 %]) (Tableau 2).

Entre les deux épisodes d'hyperkaliémie consécutifs documentés, la proportion des patients traités par des iSRAA a diminué de 42,4 % à 34,6 % (Tableau 2 et Fig. 1). Le nombre de patients traités par le ramipril et la spironolactone, l'inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) et l'antagoniste du récepteur minéralocorticoïde (ARM) les plus prescrits, est passé de 40 (13,6 %) à 32 (10,8 %) et de 12 (4,1 %) à 2 (0,7 %), respectivement.

3.1. Patients avec insuffisance rénale chronique

Près de deux tiers des patients insuffisants rénaux chroniques (63,8 %) avaient une insuffisance rénale modérée ou sévère (stade 3 ou 4). De plus, 145/212 (68,4 %) ne présentaient pas d'insuffisance cardiaque chronique concomitante. Plus de la moitié avaient une concentration plasmatique de potassium supérieure ou égale à 6 mmol/L lors du premier épisode d'hyperkaliémie observé et 22 (10,4 %) ont été hospitalisés en raison d'un épisode d'hyperkaliémie au cours de la période d'observation. Entre les deux épisodes d'hyperkaliémie consécutifs documentés, la proportion des patients traités par des iSRAA est passée de 34,4 % à 26,9 % pour les IEC, de 13,7 % à 9,9 % pour les antagonistes des

Tableau 1
Caractéristiques des patients lors du premier épisode d'hyperkaliémie documenté (HK1).

	Néphrologues	Cardiologues	Total
Nombre de patients	144	151	295
Âge, année, moyenne (écart-type)	66,2 (12,5)	69,7 (12,3)	68,0 (12,47)
Sexe masculin, n (%)	92 (63,9)	92 (60,9)	184 (62,4)
Concentration plasmatique de potassium, mmol/L			
Nombre de patients (données disponibles)	142	145	287
Moyenne (écart-type)	5,97 (0,44)	5,74 (0,91)	5,85 (0,73)
Pathologies			
Insuffisance rénale chronique, *n* (%)	121 (84,0)	91 (60,3)	212 (71,9)
Stade 1, *n* (%)	5 (4,2)	9 (9,9)	14 (6,6)
Stade 2, *n* (%)	15 (12,5)	38 (41,8)	53 (25,1)
Stade 3, *n* (%)	59 (49,2)	34 (37,4)	93 (44,1)
Stade 4, *n* (%)	33 (27,5)	9 (9,9)	42 (19,9)
Stade 5 (non dialysé), *n* (%)	8 (6,7)	1 (1,1)	9 (4,3)
Hypertension artérielle	105 (72,9)	99 (65,6)	204 (69,2)
Maladie coronarienne	46 (31,9)	56 (37,1)	102 (34,6)
Insuffisance cardiaque chronique, *n* (%)	28 (19,4)	80 (53,0)	108 (36,6)
Stade NYHA I	3 (10,7)	3 (3,8)	6 (5,6)
Stade NYHA II	13 (46,4)	40 (50,0)	53 (49,1)
Stade NYHA III	12 (42,9)	34 (42,5)	46 (42,6)
Stade NYHA IV	0 (0,0)	3 (3,8)	3 (2,8)
Hyperlipidémie	57 (39,6)	41 (27,2)	98 (33,2)
Fibrillation atriale	28 (19,4)	45 (29,8)	73 (24,7)
Antécédent d'infarctus du myocarde	21 (14,6)	27 (17,9)	48 (16,3)
Diabète sucré, *n* (%)	56 (38,9)	46 (30,5)	102 (34,6)
Néphropathie diabétique, *n* (%)	19 (13,2)	10 (6,6)	29 (9,8)
Traitements médicamenteux			
Inhibiteurs du SRAA, *n* (%)	53 (36,8)	72 (47,7)	125 (42,4)
IEC, *n* (%)	38 (26,4)	54 (35,8)	92 (31,2)
ARA2, *n* (%)	19 (13,2)	19 (12,6)	38 (12,9)
ARM, *n* (%)	2 (1,4)	15 (9,9)	17 (5,8)

ARA2 : antagoniste des récepteurs de l'angiotensine 2 ; ARM : antagoniste du récepteur minéralo-corticoïde ; IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ; NYHA : *New York Heart Association* ; SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone.

Tableau 2
Concentration plasmatique de potassium, utilisation des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone et prise en charge de l'hyperkaliémie lors du premier (HK1) et du deuxième (HK2) épisodes d'hyperkaliémie documentés.

	Néphrologues		Cardiologues		Total	
	HK1	HK2	HK1	HK2	HK1	HK2
Nombre de patients	144		151		295	
Concentration plasmatique de potassium, mmol/L						
Nombre de patients (données disponibles)	142	135	145	144	287	279
Moyenne (écart type)	5,97 (0,44)	5,81 (0,77)	5,74 (0,91)	5,52 (1,00)	5,85 (0,73)	5,66 (0,90)
Inhibiteurs du SRAA, *n* (%)	53 (36,8)	45 (31,3)	72 (47,7)	57 (37,7)	125 (42,4)	102 (34,6)
IEC, *n* (%)	38 (26,4)	27 (18,8)	54 (35,8)	45 (29,8)	92 (31,2)	72 (24,4)
ARA2, *n* (%)	19 (13,2)	18 (12,5)	19 (12,6)	14 (9,3)	38 (12,9)	32 (10,8)
ARM, *n* (%)	2 (1,4)	2 (1,4)	15 (9,9)	6 (4,0)	17 (5,8)	8 (2,7)
Prise en charge de l'hyperkaliémie						
Régime pauvre en potassium recommandé, *n* (%)	7 (4,9)	6 (4,2)	24 (15,9)	18 (11,9)	31 (10,5)	24 (8,1)
Diurétiques de l'anse, *n* (%)	63 (43,8)	38 (26,4)	81 (53,6)	70 (46,4)	144 (48,8)	108 (36,6)
Polystyrène sulfonate de sodium, *n* (%)	59 (41,0)	50 (34,7)	49 (32,5)	49 (32,5)	108 (36,6)	99 (33,6)
Polystyrène sulfonate de calcium, *n* (%)	19 (13,2)	15 (10,4)	8 (5,3)	3 (2,0)	27 (9,2)	18 (6,1)
Bicarbonate de sodium, *n* (%)	21 (14,6)	26 (18,1)	10 (6,6)	8 (5,3)	31 (10,5)	34 (11,5)

ARA2 : antagoniste des récepteurs de l'angiotensine 2 ; ARM : antagoniste du récepteur minéralo-corticoïde ; IEC : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ; SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone.

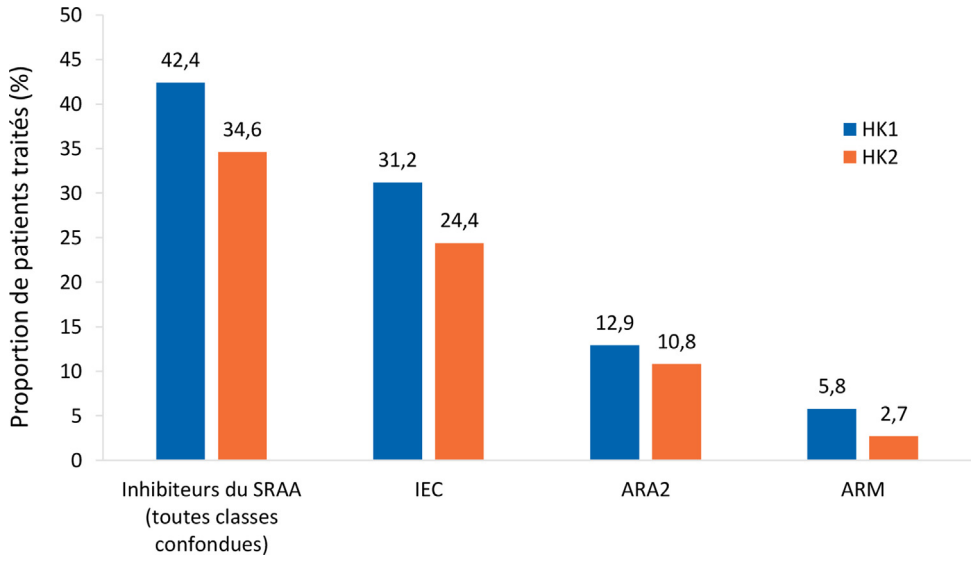


Fig. 1. Utilisation des inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone lors du premier (HK1) et du deuxième (HK2) épisode d'hyperkaliémie documentés. ARA2 : antagoniste des récepteurs de l'angiotensine 2 ; ARM : antagoniste du récepteur minéralo-corticoïde ; IEC : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ; iSRAA : inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone.

récepteurs de l'angiotensine 2 (ARA2), et de 4,7 % à 2,8 % pour les ARM.

3.2. Patients avec insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite

Parmi les patients ayant une insuffisance cardiaque chronique, 61 (25,1 %) avaient une FEVG documentée inférieure ou égale à 40 %. L'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection réduite était associée à une utilisation plus fréquente des iSRAA (52,5 % contre 42,4 % pour l'ensemble des patients). L'incidence des hospitalisations liées à un épisode d'hyperkaliémie était également plus élevée dans ce sous-groupe (8 [13,1 %] contre 24 [8,1 %] pour l'ensemble des patients). Lors du deuxième épisode d'hyperkaliémie, le nombre de patients recevant un traitement par iSRAA avait fortement diminué, passant de 32 (52,5 %) à 22 (36,1 %).

3.3. Patients avec insuffisance cardiaque chronique de stade NYHA I à III et insuffisance rénale chronique de classe 3 ou 4

Le sous-groupe constitué des patients ayant à la fois une insuffisance cardiaque chronique de stade NYHA I à III et une insuffisance rénale chronique de classe 3 ou 4 était au nombre de 38 (12,9 %). Ces patients étaient âgés en moyenne de 71,8 (± 10,8) ans et présentaient plus de comorbidités cardiovasculaires. Au cours de la période d'observation, 4 patients (10,5 %) ont été hospitalisés en raison d'un épisode d'hyperkaliémie. Entre les deux épisodes

d'hyperkaliémie consécutifs documentés, la proportion des patients traités par iSRAA a sensiblement diminué : de 47,4 % à 34,2 % pour les IEC, de 7,9 % à 5,3 % pour les ARA2, et de 7,9 % à 0 % pour les ARM.

4. Discussion

Les données françaises de l'étude PROKALE apparaissent en pleine cohérence avec les résultats globaux de cette étude observationnelle conduite dans 5 pays, avec la mise en évidence d'une diminution de l'utilisation des iSRAA en contexte d'hyperkaliémie récurrente, tandis que l'hyperkaliémie est associée à plus du quart des hospitalisations observées sur la période d'étude. Les données françaises rapportées ici permettent d'obtenir davantage de granularité que le rapport de l'étude globale, avec des analyses de sous-groupes de patients polymorbides (par exemple, les insuffisants cardiaques avec insuffisance rénale), pleinement consistantes avec les résultats globaux.

En France et en Europe, les stratégies de contrôle de l'hyperkaliémie comportent une variété d'interventions (diététique, médicamenteuses, dont l'arrêt ou la diminution de posologie des iSRAA et le recours aux résines chélatrices de potassium, particulièrement en France) [10,11]. Ces approches sont manifestement insuffisantes pour parvenir à éviter la récidive de l'hyperkaliémie.

La prise en charge de l'hyperkaliémie de l'adulte est particulièrement importante, la normalisation de la concentration plasmatique de potassium après un épisode hyperkaliémique étant, d'après des données observationnelles dans l'insuffisance cardiaque, associée à une réduction de la mortalité [12]. Des études observationnelles récentes sur des patients ayant une insuffisance cardiaque chronique indiquent que l'association de l'hyperkaliémie avec une mortalité accrue pourrait être médiée par les interruptions de traitement par iSRAA, ainsi qu'à l'utilisation de doses suboptimales consécutives à des épisodes d'hyperkaliémie [6,13].

Le développement de nouveaux chélateurs du potassium, le patiromer et le cyclosilicate de zirconium sodique, évalués dans des essais cliniques ayant duré jusqu'à un an, et qui sont désormais approuvés en Europe et aux États-Unis pour le traitement de l'hyperkaliémie, peut désormais modifier l'approche thérapeutique de l'hyperkaliémie. Celle-ci pourrait permettre une utilisation plus optimale des iSRAA chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque et/ou d'insuffisance rénale chronique, comme des données d'essais randomisés l'ont déjà montré avec le patiromer [2,14–16].

Cette étude présente des limites. Il s'agit d'une étude observationnelle, et donc ne pouvant en aucun cas évaluer des liens de causalité. Les conditions de dosage de la kaliémie n'étaient pas colligées dans le cadre de ce recueil rétrospectif. Le questionnaire utilisé n'était pas spécifiquement conçu pour évaluer les changements dans la prescription d'iSRAA, les modifications de dose ou les interruptions de traitement, en particulier après le premier épisode d'hyperkaliémie. Les facteurs déclenchants de l'hyperkaliémie n'étaient pas colligés dans cette population à haut risque d'hyperkaliémie. De plus, l'échantillon de médecins et de patients pouvait ne pas être représentatif. Afin de minimiser le biais potentiel, un grand nombre de médecins/centres a été invité à participer, qui ne pouvaient colliger les données que de trois patients au maximum. Enfin, les caractéristiques des épisodes d'hyperkaliémie qui ont conduit à des hospitalisations n'ont pas été comparées avec celles des épisodes d'hyperkaliémie qui n'ont pas conduit à des hospitalisations.

Ce type de collecte de données présente néanmoins des avantages, car les dossiers reflètent la situation réelle de la pratique clinique de routine, y compris chez des patients ayant un éventail d'âge et de comorbidités plus large que ceux qui sont habituellement inclus dans les essais cliniques.

5. Conclusion

Cette étude rétrospective met en évidence une diminution de l'utilisation des iSRAA en contexte d'hyperkaliémie récurrente. L'hyperkaliémie récidivante représente également une cause majeure d'hospitalisation. Des stratégies plus efficaces pour la prévention des récidives d'hyperkaliémie apparaissent donc nécessaires.

Points essentiels

- Nous présentons l'analyse des données françaises d'une étude qui a évalué la prise en charge de l'hyperkaliémie récidivante dans cinq pays européens.
- L'hyperkaliémie récurrente est une cause majeure d'hospitalisation.
- Les stratégies actuellement utilisées dans la prise en charge de l'hyperkaliémie sont diurétiques de l'anse, les résines échangeuses de cations, un régime pauvre en potassium et le bicarbonate de sodium.
- Des interruptions du traitement par les inhibiteurs du système rénine-angiotensine-aldostérone sont observées en contexte d'hyperkaliémie récidivante.
- Des stratégies plus efficaces pour la prévention des récidives d'hyperkaliémie sont nécessaires.

Source de financement

Étude développée et financée par le laboratoire Vifor.

Les résultats de cette analyse des données françaises ont été présentés (e-poster) lors du Congrès de la SFNDT en octobre 2020.

Déclaration de liens d'intérêts

Participation de PR à divers boards organisés par Vifor et Relypsa.

Honoraires (consulting) de Idorsia et G3P, honoraires de AstraZeneca, Bayer, Boehringer-Ingelheim, CVRx, Fresenius, Grunenthal, KBP, Novartis, NovoNordisk, Sequana Medical, Sanofi, Servier, Stealth Peptides, Ablative Solutions, Corvidia, Relypsa, Vifor et Vifor Fresenius Medical Care Renal Pharma, en dehors de ce travail ; co-fondateur de CardioRenal.

Références

[1] Collins AJ, Pitt B, Reaven N, Funk S, McGaughey K, Wilson D, et al. Association of serum potassium with all-cause mortality in patients with and without heart failure, chronic kidney disease, and/or diabetes. Am J Nephrol 2017;46:213–21.

[2] Tamargo J, Caballero R, Delpón E. New therapeutic approaches for the treatment of hyperkalemia in patients treated with renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors. Cardiovasc Drugs Ther 2018;32:99–119.

[3] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. Kidney Int Suppl 2013;3:1–150.

[4] National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Chronic kidney disease in adults: assessment and management. Clinical guideline (CG182); 2015, https://www.nice.org.uk/guidance/cg182.

[5] Consensus Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). N Engl J Med 1987;316:1429–35.

[6] Rossignol P, Lainscak M, Crespo-Leiro MG, Laroche C, Piepoli MF, Filippatos G, et al. Unravelling the interplay between hyperkalaemia, renin-angiotensin-aldosterone inhibitor use and clinical outcomes. Data from 9222 chronic heart failure patients of the ESC-HFA-EORP Heart Failure Long-Term Registry. Eur J Heart Fail 2020. http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.1793.
[7] Einhorn LM, Zhan M, Hsu VD, Walker LD, Moen MF, Seliger SL, et al. The frequency of hyperkalemia and its significance in chronic kidney disease. Arch Intern Med 2009;169:1156–62.
[8] Rossignol P. A new area for the management of hyperkalaemia with potassium binders: clinical use in nephrology. Eur Heart J Suppl 2019;21:A48–54.
[9] Kovesdy CP. Management of hyperkalemia: an update for the internist. Am J Med 2015;128:1281–7.
[10] Rossignol P, Ruilope LM, Cupisti A, Ketteler M, Wheeler DC, Pignot M, et al. Recurrent hyperkalaemia management and use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors: a European multi-national targeted chart review. Clin Kidney J 2020;13:714–9.
[11] Abensur Vuillaume L, Rossignol P, Lamiral Z, Girerd N, Boivin JM. Hyperkalaemia and hypokalaemia outpatient management: a survey of 500 French general practitioners. ESC Heart Fail 2020;7:2042–50.
[12] Núñez J, Bayés-Genís A, Zannad F, Rossignol P, Núñez E, Bodí V, et al. Long-term potassium monitoring and dynamics in heart failure and risk of mortality. Circulation 2018;137:1320–30.
[13] Martens P, Kooij J, Maessen L, Dauw J, Dupont M, Mullens W. The importance of developing hyperkalaemia in heart failure during long-term follow-up. Acta Cardiol 2020;1–9. http://dx.doi.org/10.1080/00015385.2020.1748346.
[14] Pitt B, Anker SD, Bushinsky DA, Kitzman DW, Zannad F, Huang IZ. Evaluation of the efficacy and safety of RLY5016, a polymeric potassium binder, in a double-blind, placebo-controlled study in patients with chronic heart failure (the PEARL-HF) trial. Eur Heart J 2011;32:820–8.
[15] Weir MR, Bakris GL, Bushinsky DA, Mayo MR, Garza D, Stasiv Y, et al. Patiromer in patients with kidney disease and hyperkalemia receiving RAAS inhibitors. N Engl J Med 2015;372:211–21.
[16] Agarwal R, Rossignol P, Romero A, Garza D, Mayo MR, Warren S, et al. Patiromer versus placebo to enable spironolactone use in patients with resistant hypertension and chronic kidney disease (AMBER): a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2019;394:1540–50.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC complémentaire de M1 (M1-1)*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 1)

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 1 fascicule et un article

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule (QROC)

Note

Calculatrice: La calculatrice n'est pas autorisée
Les stabilos sont autorisés.

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 9 pages numérotées de 1 à 9

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté(s) de 1 à 1

UELC complémentaire de M1 (M1-1)
Christelle MOUCHOUX

Question 1 : Quelles sont les étiologies fréquentes de l'hyperkaliémie ? Quelles sont les conséquences cliniques les plus importantes d'une hyperkaliémie ?

Question 2 : Quel est l'objectif principal de l'étude PROKALE ?

Question 3 : Quelle méthodologie a été mise en œuvre dans l'étude PROKALE ?

Question 4 : Quels sont les critères des patients inclus dans cette étude ?

Question 5 : Combien de médecins étaient éligibles à l'étude ? Quelle est la répartition des spécialités médicales ?

Question 6 : Combien de patients ont été inclus dans l'étude ? Quelles sont les caractéristiques de ces patients ?

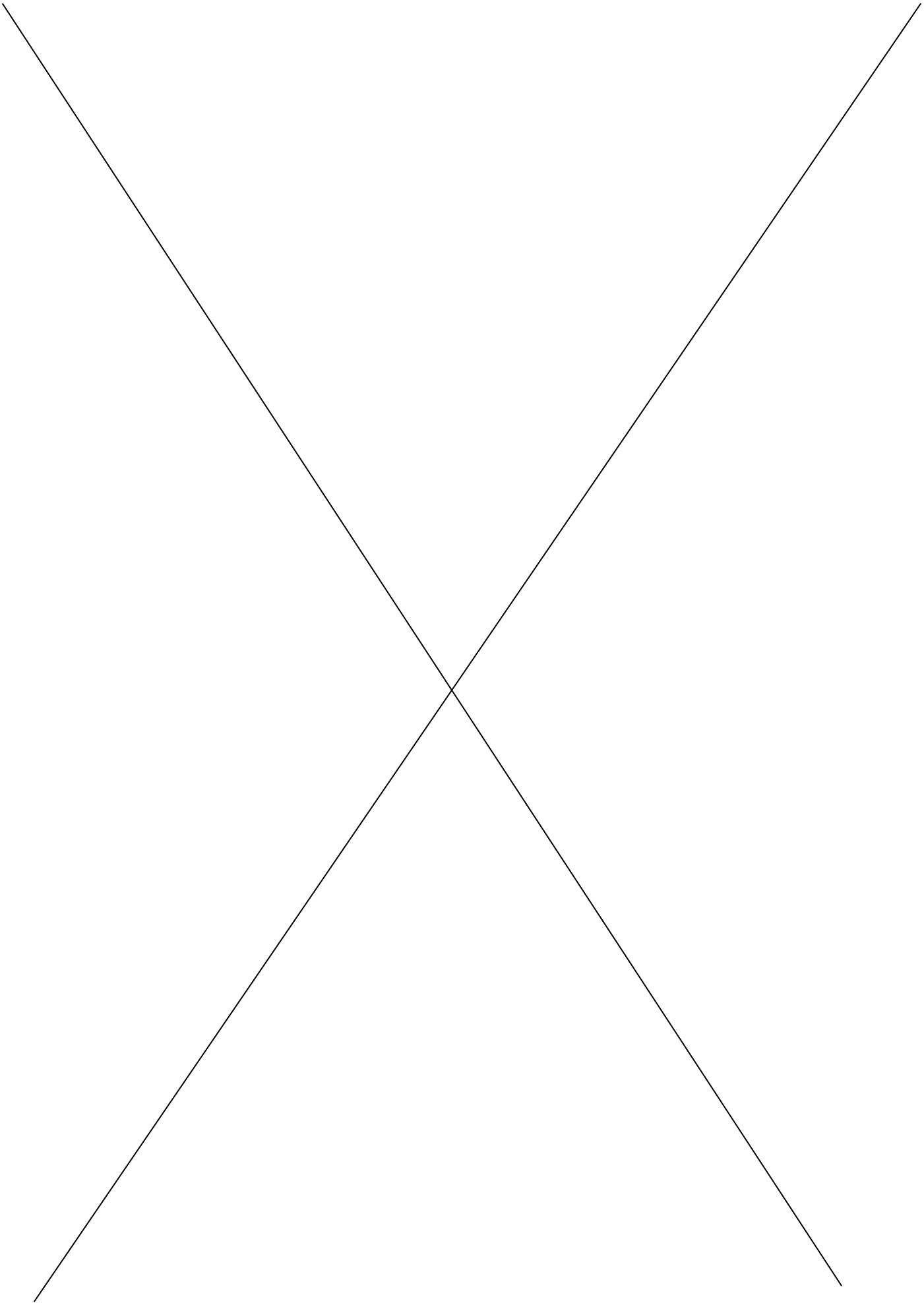
Question 7: Les patients ont-ils tous été traités avec iSRAA lors du premier épisode d'hyperkaliémie ? Quelle était la classe d'iSRAA la plus utilisée chez ces patients étudiés ?

Question 8 : Quels sont les traitements les plus fréquemment utilisés dans la prise en charge de l'hyperkaliémie lors du premier épisode ?

Question 9 : Quelles sont les cinq pathologies les plus fréquentes dans les patients étudiés ?

Question 10 : Les patients ayant une insuffisance cardiaque chronique étaient-ils plus souvent associés à une utilisation des iSRAA par rapport aux patients ayant une insuffisance rénale chronique ?

Question 11 : Les données françaises sont-elles très différentes des données globales obtenues dans les 5 pays européens ? Dans quelles mesures ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC complémentaire de M1 (M1-1)*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 1)

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 1 fascicule et un article

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule (QROC)

Note

Calculatrice: La calculatrice n'est pas autorisée
Les stabilos sont autorisés.

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 9 pages numérotées de 1 à 9

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté(s) de 1 à 1

UELC complémentaire de M1 (M1-1)
Christelle MOUCHOUX

Question 1 : Quelles sont les étiologies fréquentes de l'hyperkaliémie ? Quelles sont les conséquences cliniques les plus importantes d'une hyperkaliémie ?

Question 2 : Quel est l'objectif principal de l'étude PROKALE ?

Question 3 : Quelle méthodologie a été mise en œuvre dans l'étude PROKALE ?

Question 4 : Quels sont les critères des patients inclus dans cette étude ?

Question 5 : Combien de médecins étaient éligibles à l'étude ? Quelle est la répartition des spécialités médicales ?

Question 6 : Combien de patients ont été inclus dans l'étude ? Quelles sont les caractéristiques de ces patients ?

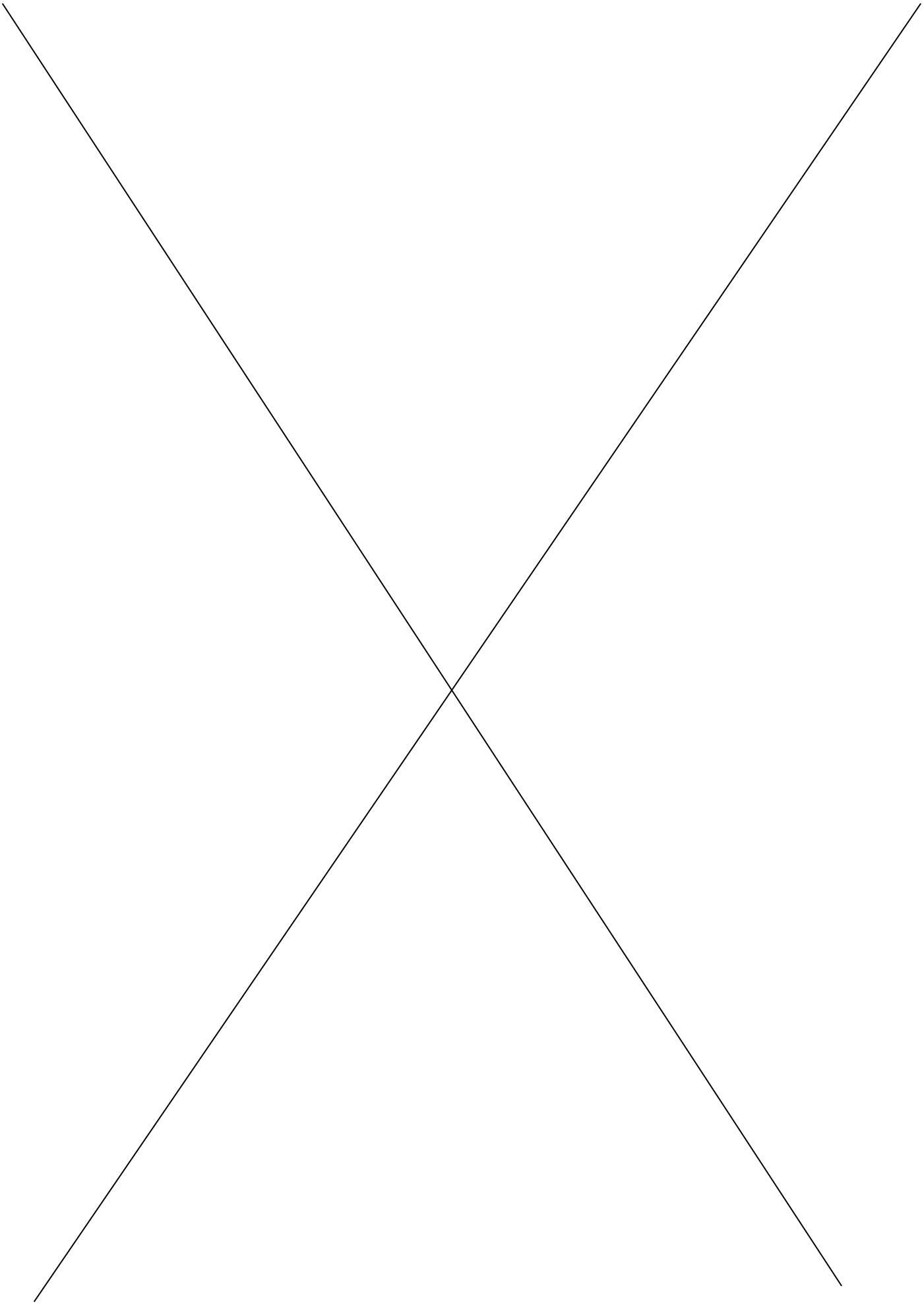
Question 7: Les patients ont-ils tous été traités avec iSRAA lors du premier épisode d'hyperkaliémie ? Quelle était la classe d'iSRAA la plus utilisée chez ces patients étudiés ?

Question 8 : Quels sont les traitements les plus fréquemment utilisés dans la prise en charge de l'hyperkaliémie lors du premier épisode ?

Question 9 : Quelles sont les cinq pathologies les plus fréquentes dans les patients étudiés ?

Question 10 : Les patients ayant une insuffisance cardiaque chronique étaient-ils plus souvent associés à une utilisation des iSRAA par rapport aux patients ayant une insuffisance rénale chronique ?

Question 11 : Les données françaises sont-elles très différentes des données globales obtenues dans les 5 pays européens ? Dans quelles mesures ?



1. Introduction

P. falciparum, the causative organism of malaria, is the most virulent form of the parasite responsible for a maximum number of malaria-related deaths, worldwide [1]. According to WHO report 2018, there was a substantial reduction in malaria burden from 2010 to 2015 with number of cases falling from 239 million to 214 million, globally. However, the reversed progress in countries with the highest malaria burden has obstructed the global progress in malaria-controlling programs. The year 2017 witnessed 435,000 malaria deaths, affecting mostly children below the age of 5 years [2,3].

Several heterocyclic compounds *viz.* 4-aminoquinoline, 8-aminoquinoline, acridine-dione, pyridine, quinolone-tetroxane, indole, imidazolopiperazine and methoxy-thiazinoquinone derivatives have recently emerged as potential antimalarials [4,5]. Among these, quinoline is considered as one of the core heterocycles for the treatment of malaria, being present in a number of antimalarial drugs as well as clinical candidates *viz.* Chloroquine (CQ), Mefloquine, Amopyroquine, Amodiaquine, Primaquine, Pyronaridine, Isoquine, *tert*-butylisoquine, Ferroquine, Piperaquine and Tafenoquine as shown in Fig. 1 [4]. Chloroquine was the main-stay in the treatment of malaria for decades, however, the extensive use of CQ has resulted in the development of resistance in Southeast Asia, Oceania, and South America in the late 1950s and early 1960s [6]. Since then, CQ resistance has spread to nearly all parts of the world and paved the way for the development of Artemisinin Combination Therapy (ACT) [7]. The primary advantage of using ACT is the expeditious reduction in the majority of malaria parasites by Artemisinin while the partner drug clears the remaining parasites [8] However, the emergence of resistance to Artemisinin in the South-East Asian region has not only placed greater demand on the partner drugs but also jeopardized their future efficacy [9].

Despite the emergence of resistance, CQ still remains the first line treatment in countries endemic for uncomplicated *P. vivax* malaria [10] and is an excellent scaffold with restricted host toxicity, affordability and synthetic vulnerability [11]. The conjugation of 4-aminoquinoline with biologically active pharmacophores is considered a significant strategy which has propelled the scientific community for developing new aminoquinoline scaffolds with better activity and low incidence of resistance [12–15].

1,3-dioxoisoindolines are nitrogen-containing heterocycles with extensive pharmacological properties including; anti-convulsant, analgesic, anti-inflammatory, hypolipidemic and immunomodulatory, antiplasmodial, antitubercular and anticancer activities [16]. A series of 1,3-dioxoisoindolines functionalized with cyclic amines have shown to possess antiplasmodial activities with the compound possessing a piperidinopiperidine moiety exhibiting an IC_{50} of 1.16 μM [17]. Recently, we introduced a functionalized dioxoisoindoline ring in the side chain of 4-aminoquinoline in order to acess their anti-plasmodial activities. The compound with a tetrabromo substituted dioxoisoindoline was a promising candidate with an IC_{50} of 0.10 μM against CQ-resistance strain (W2) of *P. falciparum* [18].

In view of the above and in continuation of our effort to develop new antimalarials [19], the present manuscript encompasses the synthesis of substituted 1,3-dioxoindoline-4-aminoquinolines having an

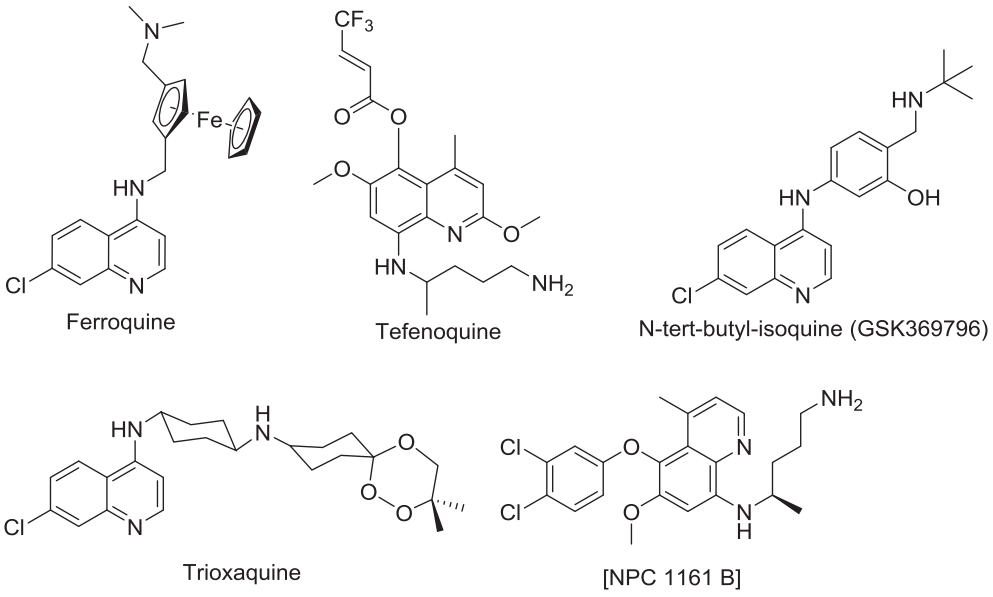


Fig. 1. Structures of 4-aminoquinoline and 8-aminoquinoline based molecules under clinical trials.

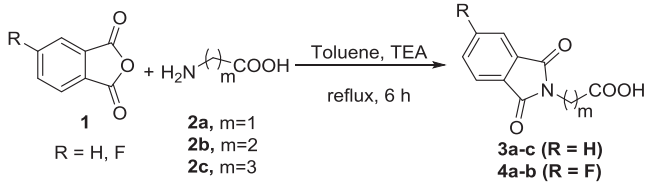
amide core between the two pharmacophores along with varied secondary amines at the C-5 position of dioxoindoline ring. The inclusion of amide-core has reported to enhance the anti-plasmodial activities against both CQ sensitive and the resistant strains of *P. falciparum* [20].

2. Results and discussion

2.1. Synthetic chemistry

For the synthesis of the desired 1,3-dioxoisoindoline-4-aminoquinolines, amide coupling was attempted to connect two pharmacophores followed by microwave heating to substitute fluoro at C-5 position with different secondary amines.

The one-set of precursor *viz.* 1,3-dioxoisoindolin-2-yl based carboxylic acids **3a-c** and **4a-b** were synthesized *via* heating substituted phthalic anhydrides with various amino acids in dry toluene using triethylamine as a base for 6 h. The synthesized acids *viz.* **3a-c** and **4a-b** were used in subsequent steps without further purification **(**Scheme 1**).** For the synthesis of conjugates **6a-l**, amide coupling of the precursors' **3a-c** with 7-chloroquinoline based diamines **5** [21] was attempted using EDC and HOBt in the presence of *N,N*-diisopropylethylamine (DIEA) in dry DMF at room temperature. Similar protocol was employed for the synthesis of **6m-r** having a fluoro-substtuent at C-5 position of dioxoisoindolines (Scheme 2). The structure to the synthesized dioxoisoindoline-4-aminoquinoline based amides were assigned on the basis of spectral data and analytical evidenced. For example, compound **6a** exhibited a molecular ion peak at 409.1041 in its high resolution mass spectrum (HRMS). The noteworthy features of its ^{1}H NMR spectrum included the presence of singlet at δ 3.31 because of ethylene (NH-CH_2-CH_2-NH); singlet at 4.18 because of glycine (CH_2) protons, two triplets at 7.33 (J = 5.0 Hz) and 8.45 (J = 5.6 Hz) because of −NH, a doublet of quinoline ring proton at 6.50 (J = 5.4 Hz) and a multiplet of four protons of dioxoisoindoline ring at 7.82–7.88. The presence of signals at δ 167.2 corresponding to carbonyl carbons and 168.0 because of amide carbonyl in the ^{13}C NMR spectrum along with methylenes at δ 37.9, 40.7 and glycine carbon at δ 42.3, as confirmed by the ^{13}C NMR (DEPT) spectrum, further validated the assigned structure.



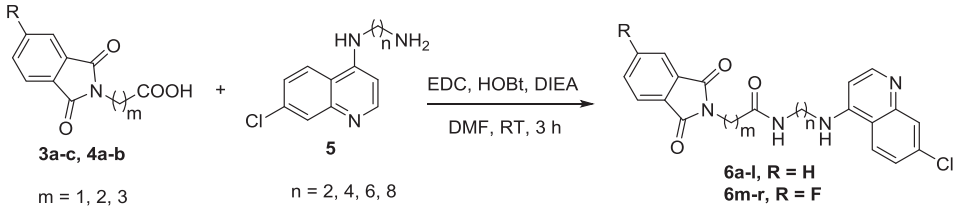
Scheme 1. Synthesis of unsubstituted **(3a-c)** and C-5 fluoro-substituted **(4a-b)** 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetic acid/3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanoic acid/4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)butanoic acid.

The synthesized conjugates **6m-r** were employed as precursors for affording the conjugates **7a-r** having a secondary amino functionality at C-5 position of dioxoisoindoline ring. Thus, the microwave heating of **6m-r** with various secondary amine in dry NMP at 160 °C for 5 min led to the synthesis of **7a-r** in moderate to good yields (Scheme 3). The synthesized conjugates **7a-r** were characterized using spectral and analytical techniques. For example, the compound **7j** showed a molecular ion peak at 494.1902 $[M+H]^+$ in its High-Resolution Mass Spectrum (HRMS). The salient features of its ^{1}H NMR spectrum included the appearance of triplet because of two methyl at δ 1.05 (J = 7.0 Hz) and multiplet at 3.22–3.26 corresponding to methylene protons of diethylamine, doublet at 2.37 (J = 7.3 Hz) and 3.69 (J = 7.3 Hz) because of methylene protons of dioxoisoindoline linked β-alanine, two doublet at 6.45 (J = 5.4 Hz) and 8.35 (J = 5.0 Hz) corresponding to quinoline ring protons along with two triplets at 7.29 (J = 5.4 Hz) and 8.23 (J = 5.3 Hz) because of the −NH protons. Its ^{13}C NMR spectrum revealed the appearance of signals at δ 168.0 and 168.6, corresponding to dioxoisoindoline carbonyls, a signal at 170.0 of amide carbonyl along with methylene carbons at δ 25.4, 27.5, 34.6, 37.7, 39.7, 42.7, 44.7 40.6 and 47.4 and diethylamine carbons at δ 12.6 and 53.2, as confirmed by ^{13}C NMR (DEPT) spectrum.

2.2. In vitro anti-plasmodial evaluation

The synthesized scaffolds were assayed against CQ-resistance and mefloquine-sensitive W2 strain of *P. falciparum* and the observed activities are given in Table 1. Evidently, most of the synthesized scaffolds displayed good antiplasmodial activities with some of them have either comparable or better activities than standard drug, Chloroquine (CQ). Analyzing the activity data revealed an interesting Structure-Activity Relationships (SARs) among the synthesized compounds with activity showing dependence both on the nature of substituent at the dioxoindoline ring along with the length of alkyl chain (m, n) introduced as linker between two pharmacophores.

Among compounds **6a-l** (R = H); the activity increases with an increase in chain length as apparent from glycyl and β-alanyl linked



Scheme 2. Synthesis of unsubstituted **(6a-l)** and C-5 fluoro-substituted **(6m-r)** *N*-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)alkyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)alkylamides.

compounds **6d** (n = 8, 0.24 μM) and **6h** (n = 8, 0.15 μM), respectively. The introduction of butyric acid, however reduced the antiplasmodial activity except for compound **6i** (n = 2); which exhibited IC_{50} values of 0.28 μM. Introducing a fluoro substituent at the C-5 position of dioxoisoindolines resulted in the reduction of antiplasmodial efficacy in case of glycine linked scaffolds (**6m-o**) while the activity improved considerably with the introduction of *β*-alanine at shorter chain lengths as evident by **6p** (0.36 μM) and **6q** (0.22 μM). Introducing different secondary amines (morpholine, diethylamine, 2-hydroxyethylpiperazine) at C-5 of dioxoisoindoline (**7a-r**) substantially improved the activity profiles presumably because of direct co-relation between the basicity and activity. The increase in basicity of the compound results in its better accumulation inside the acidic food vacuole of the parasite. Among the glycine tethered hybrids having a secondary amine at the C-5 position **(7a-c, 7g-l, 7m-o)**, the reduction in activity was observed even at longer alkyl chain lengths except for **7n** and **7o** having 2-hydroxyethylpiperazine, which exhibited IC_{50} values of 0.86 and 0.46 μM, respectively. The presence of alanine between the dioxoisoindoline core and amide linkage among hybrids, **7d-f, 7j-l** and **7p-r** improved the antiplasmodial activities in general with few of the conjugates exhibiting comparable or better activity profiles than the standard drug CQ. Cytotoxic studies of all the synthesized compounds were also carried out on mammalian Vero cells so as to confirm whether the observed activities were because of their inherent anti-plasmodial efficacy or cytotoxicity **(**Table 1**).** Analyzing the cytotoxicity of the synthesized conjugates revealed that most of the compounds were found to be non-cytotoxic (Table 1).

Comparing the activity and cytotoxicity profiles of the presently synthesized compounds with our previous report [18], the introduction of an amide linkage although did not improve the antiplasmodial activity but resulted in the reduction of the cytotoxicity as evident by compound **I** and **6h** (Fig. 2). Among fluoro substituted dioxoisoindoline-4-aminoquionolines, the introduction of amide core resulted in an improvement in antiplasmodial activity as apparent on comparing **II** and **6q.** The replacement of fluoro with secondary amine resulted in substantial improvement in both activity as well as cytotoxicity as shown by compound **7j**.

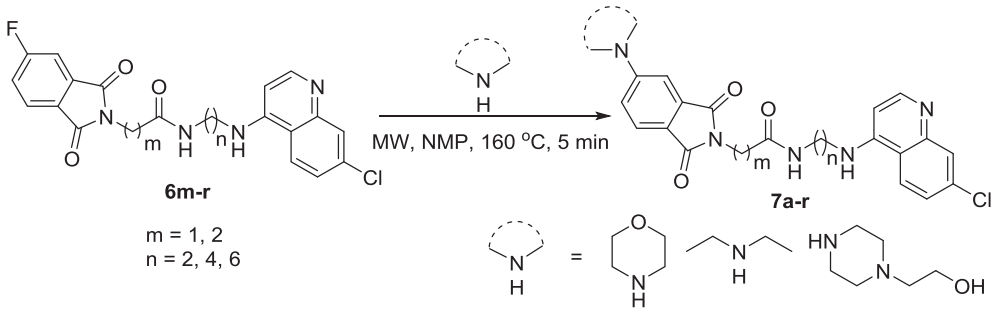
The ClogP value of chloroquine is reported to be 5.06 while the calculated ClogP values of the promising compounds were found to be 3.20, 4.10, and 3.15 respectively. Further, the protonation of secondary amino group of the synthesized compound is feasible under physiological condition. The ClogP values of protonated **7d**, **7j** and **7q** were calculated to be 0.04, 0.35 and −0.01 which are quite appropriate from the perspective of bioavailability [22]. The generalized antiplasmodial structure activity relationship/cytotoxicity and plausible antiplasmodial mechanism of the synthesized 5-secondary amino substituted 1,3-dioxoisoindoline-4-aminoquinolines tethered *via* amide bond is elucidated in Fig. 3.

In conclusion, a series of C-5 substituted 1,3-dioxoisoindoline-4-aminoquinolines has been urbanized with the aim of studying their structure–activity relationship against *P. falciparum*. Almost all of the synthesized scaffolds exhibited promising antiplasmodial activity and good selectivity index. The antiplasmodial activities were substantially enhanced with introduction of secondary amine at C-5 position of dioxoisoindoline ring while the inclusion of amide as spacer improved their cytotoxic profiles.

3. Experimental section

3.1. General

All starting materials and reagents were purchased from Sigma-Aldrich and Merck. Thin-layer chromatography was performed on a film of silica gel that contained a fluorescent indicator F_{254} supported on an aluminum sheet (Merck). Veego Precision Digital Melting Point apparatus (MP-D) was used for the determination of melting points which are uncorrected. ^{1}H NMR spectra were recorded in deuterated chloroform ($CDCl_3$) using Bruker 500 (500 MHz) and Jeol 400 (400 MHz) spectrometers while TMS is used as internal standard. Microwave reactions were performed in a Biotage® Initiator + instrument using sealed 2–5 mL process vials. Reaction times refer to irradiation time at the target temperature, not the total irradiation time. The temperature was measured with an IR sensor. Chemical shift values are specified as parts per million (ppm) downfield from TMS while coupling constant (*J*) values are in Hertz. Patterns of Splitting are designated as s: singlet, d: doublet, t: triplet, dd: double doublet, m: multiplet, ddd: doublet of a doublet of a doublet, and br: broad peak. ^{13}C NMR spectra were recorded on Bruker 125 MHz and Jeol 100 MHz spectrometers in DMSO-d_6. Elemental analyses were performed on Heraus CHN-O-Rapid Elemental Analyzer. High-Resolution Mass Spectra (HRMS) were recorded on a Bruker-micrOTOF-Q II spectrometer using ESI as the ion source.



Scheme 3. Synthesis of C-5 amine substituted 1,3-dioxoisoindolines linked with 4-aminoquinolines *via* amide spacer **7a-r.**

Table 1
In vitro antiplasmodial activity of synthesized compounds (**6a-r, 7a-r)** against CQ resistant W2 strains of *P. falciparum* with cytotoxicity evaluation on mammalian Vero cells and their Selectivity index.

Code	R	m	n	% Yield	IC_{50} (μM) ± SD	IC_{50} (μM) (cytotoxicity)	SI	ClogP[a]
6a	H	1	2	82	5.65 ± 0.6	> 245	–	3.00
6b	H	1	4	81	3.66 ± 0.03	> 229.2	–	3.54
6c	H	1	6	85	3.35 ± 0.1	247.7	73.94	4.55
6d	H	1	8	76	0.24 ± 0.04	> 203.1	–	5.57
6e	H	2	2	81	0.30 ± 0.01	> 236.9	–	3.27
6f	H	2	4	77	0.41 ± 0.01	> 222.1	–	3.81
6g	H	2	6	79	0.29 ± 0.02	87.5	301.7	4.83
6h	H	2	8	70	0.15 ± 0.03	> 197.5	–	5.84
6i	H	3	2	83	0.28 ± 0.02	> 229.2	–	3.54
6j	H	3	4	74	0.84 ± 0.03	> 215.4	–	4.09
6k	H	3	6	76	1.57 ± 0.6	> 203.1	–	5.10
6l	H	3	8	78	0.58 ± 0.07	101.7	175.3	6.11
6m	5-F	1	2	82	1.99 ± 0.8	> 234.7	–	2.17
6n	5-F	1	4	85	1.05 ± 0.01	> 220.2	–	2.71
6o	5-F	1	6	84	1.49 ± 0.1	> 207.4	–	3.72
6p	5-F	2	2	81	0.36 ± 0.02	93.16	258.7	2.44
6q	5-F	2	4	76	0.22 ± 0.004	109.8	499.0	2.98
6r	5-F	2	6	77	0.66 ± 0.2	57.2	86.66	3.99
7a	5-Morpholinyl	1	2	76	3.21 ± 0.9	> 202.7	–	2.93
7b	5-Morpholinyl	1	4	79	1.28 ± 0.1	> 191.8	–	3.47
7c	5-Morpholinyl	1	6	81	1.78 ± 0.8	20.16	11.3	4.48
7d	5-Morpholinyl	2	2	76	0.13 ± 0.003	26.46	203.5	3.20
7e	5-Morpholinyl	2	4	82	0.22 ± 0.004	135.5	615.9	3.74
7f	5-Morpholinyl	2	6	78	0.64 ± 0.02	> 177.5	–	4.75
7g	5-(diethylamino)	1	2	79	1.14 ± 0.3	44.41	38.9	3.83
7h	5-(diethylamino)	1	4	78	1.17 ± 0.05	46.88	40.0	4.38
7i	5-(diethylamino)	1	6	79	1.22 ± 0.03	> 186.8	–	5.38
7j	5-(diethylamino)	2	2	70	**0.097 ± 0.006**	**202.7**	**2089**	**4.10**
7k	5-(diethylamino)	2	4	72	0.26 ± 0.01	84.41	324.6	4.65
7l	5-(diethylamino)	2	6	68	0.53 ± 0.004	> 182	–	5.66
7m	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	1	2	75	1.04 ± 0.004	> 186.5	–	2.34
7n	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	1	4	83	0.86 ± 0.2	> 177.2	–	2.88
7o	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	1	6	75	0.46 ± 0.07	> 168.8	–	3.89
7p	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	2	2	71	0.28 ± 0.05	ND	–	2.61
7q	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	2	4	68	0.14 ± 0.01	168.8	1205.7	3.15
7r	5-(2-(piperazin-1-yl)ethan-1-ol)	2	6	65	0.18 ± 0.006	> 164.9	–	4.16
CQ					0.23 ± 0.07			5.00

[a] ClogP calculated from molinspiration.

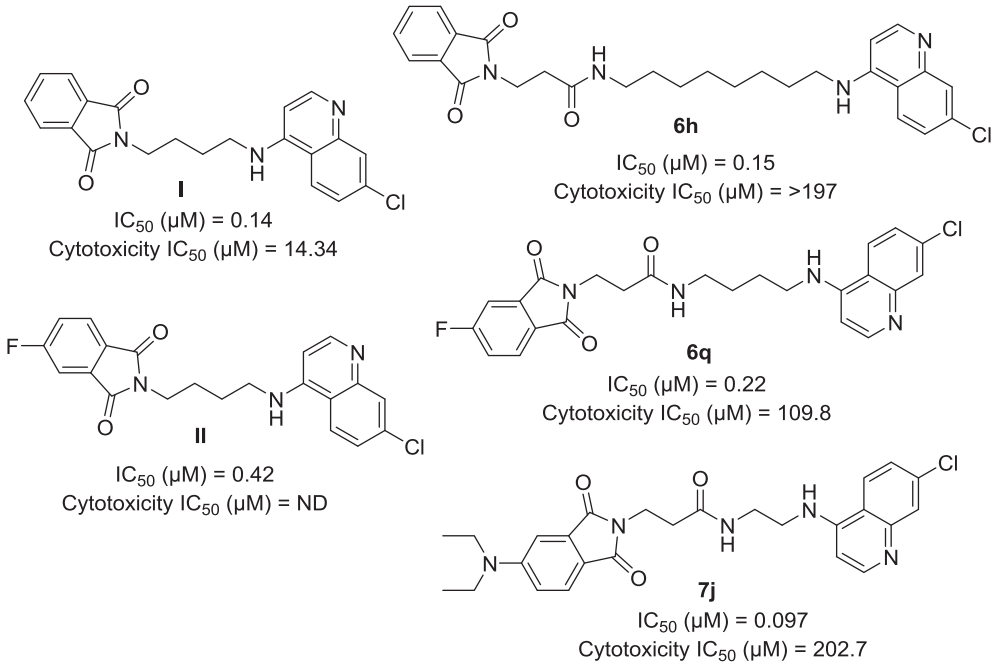


Fig. 2. Comparison of activity/cytotoxicity of **6h, 6q, 7j** with previously reported scaffolds **I** and **II**.

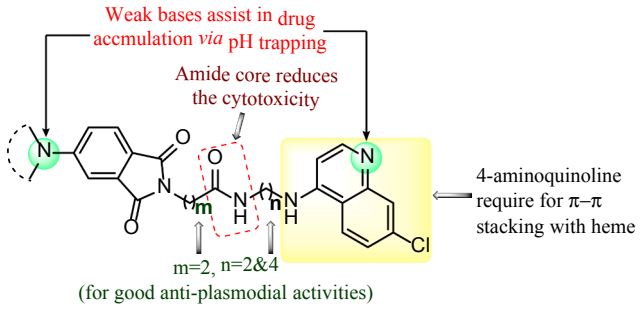


Fig. 3. Structure Activity Relationship (SAR) of 4-aminoquinoline based molecules.

3.2. General procedure for the synthesis of amide-linked substituted 1,3-dioxoisoindoline-4-aminoquinolines ***(6a-r, 7a-r)***

Synthesis of C-5 substituted 2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetic acid/3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanoic acid/4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl) butanoic acid **(3a-c, 4a-b):**

Substituted Phthalic anhydrides (1 mmol), amino acids (1.2 mmol) and triethylamine (Et_3N) (1.2 mmol) were mixed in toluene and the reaction mixture was refluxed for 6 h. The progress of the reaction was monitored by thin layer chromatography (TLC). Toluene was evaporated under reduced pressure and the solid residue was stirred with 1 *N*-HCl in ice-cold water. The resulted white powder was filtered, dried and used for subsequent step without any purification.

Synthesis of C-5 substituted *N*-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino) alkyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)alkylamides **(6a-r):**

1.0 mmol of (1,3-dioxoisoindolin-2-yl) acid, *N*-ethyl-*N*-dimethylaminopropyl carbodiimide (EDC) (1.1 mmol), hydroxybenzotriazole (HOBt) (1.2 mmol) and *N*,*N*-Diisopropylethylamine (2.0 mmol) were mixed in minimum DMF and the obtained mixture was stirred for 5 min. Then, 4-aminoquinoline-diamines (1.0 mmol) was added to the reaction mixture and the stirring was continued for 5 h. The reaction end was proved by thin layer chromatography (TLC). Then, DMF was evaporated using rotary evaporator and cold water (20 mL) was added, and solid precipitates obtained were filtered and washed with cold water. The crude product was recrystallized in absolute ethanol.

3.2.1. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide ***(6a)***

White solid; mp 189–190 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 3.31 (s, 4H, 2x-**CH_2-**); 4.18 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.50 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.33 (t, J = 5.0 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.38 (dd, J = 1.8, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.74 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.82–7.88 (m, 4H, Ar-H); 8.11 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.36 (d, J = 5.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.45 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 37.9, 40.7, 42.3, 99.1, 117.9, 123.7, 124.4, 124.6, 128.0, 132.2, 133.9, 135.1, 149.5, 150.5, 152.4, 167.2, 168.0. HRMS Calcd for $C_{21}H_{17}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 409.1023 found 409.1041. Anal Calcd (%): C, 61.69; H, 4.19; N, 13.70. found: C, 61.54; H, 4.27; N,13.62

3.2.2. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide ***(6b)***

White solid; mp 129–130 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 0.96–1.29 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.08–3.15 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.25–3.29 (m, 2H, −**CH_2**−); 4.16 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.46 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.33 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.42 (dd, J = 2.4, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.76 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.83–7.90 (m, 4H, Ar-H); 8.20–8.30 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 8.37 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 25.4, 27.2, 37.2, 40.2, 42.1, 99.2, 117.8, 123.7, 124.3, 124.7, 128.1, 132.2, 133.8, 135.2, 149.4, 150.4, 152.5, 167.0, 168.1. HRMS Calcd for $C_{23}H_{21}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 437.1336 found 437.1323. Anal Calcd (%): C, 63.23; H, 4.85; N, 12.82. found: C, 63.35; H, 4.79; N,12.88.

3.2.3. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide ***(6c)***

White solid; mp 110–111 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.32–1.41 (m, 6H, 3x-**CH_2-**); 1.57–1.64 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.00–3.05 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.20–3.25 (m, 2H, −**CH_2**−); 4.13 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.44 (d, J = 5.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.38–7.42 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 7.74 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.80–7.86 (m, 4H, Ar-H); 8.16 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.25 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.34 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.5, 26.7, 28.2, 29.4, 39.1, 40.6, 42.9, 99.1, 117.8, 123.6, 124.7, 127.8, 132.3, 134.2, 135.0, 148.8, 150.9, 151.7, 166.3, 168.1. HRMS Calcd for $C_{25}H_{25}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 465.1649 found 465.1629. Anal Calcd (%): C, 64.58; H, 5.42; N, 12.05. found: C, 64.67; H, 5.49; N, 12.13.

3.2.4. N-(8-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)octyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide ***(6d)***

White solid; mp 101–102 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.22–1.41 (m, 12H, 6x-**CH_2-**); 3.03–3.07 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.22–3.26 (m, 2H, −**CH_2**−); 4.17 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.45 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.29 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.43 (dd, J = 2.3, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.84–7.90 (m, 4H, Ar-H); 8.18 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.27 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.38 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 26.4, 26.6, 28.2, 28.4, 29.3, 29.6, 37.8, 40.6, 42.8, 99.2, 117.9, 123.4, 124.3, 127.9, 132.1, 134.2, 135.2, 148.7, 150.6, 151.4, 166.1, 168.0. HRMS Calcd for $C_{27}H_{29}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 493.1962 found 493.1956. Anal Calcd (%): C, 65.78; H, 5.93; N, 11.36; found: C, 65.65; H, 5.99; N, 11.41.

3.2.5. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide ***(6e)***

White solid; mp 182–183 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 2.42 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 2.25–2.30 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.75 (t, J = 7.4 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.56 (d, J = 5.8 Hz, 1H, Ar-H); 7.45 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.70–7.74 (m, 4H, Ar-H); 7.79 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.93 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.17 (d, J = 9.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.29 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.40 (t, J = 5.8 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 34.6, 34.9, 37.6, 42.9, 99.0, 117.2, 123.4, 124.8, 125.4, 126.7, 132.0, 134.7, 135.3, 146.2, 149.6, 152.2, 168.1, 170.9. HRMS Calcd for $C_{22}H_{19}ClN_4O_3$ $[M]^+$ 423.1179 found 423.1161. Anal Calcd (%): C, 62.49; H, 4.53; N, 13.25; found: C, 62.51; H, 4.45; N, 13.17.

3.2.6. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide ***(6f)***

White solid; mp 172–173 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.23–1.33 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 2.41 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.05–3.14 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.22–3.27 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.73 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.45 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.32 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.43 (dd, J = 2.2, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.74 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.83–7.91 (m, 4H, Ar-H); 8.19–8.28 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 8.38 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 25.4, 27.1, 34.6, 38.2, 40.8, 42.2, 99.2, 117.5, 123.6, 124.3, 124.8, 128.3 132.5, 133.7, 135.2, 149.6, 150.2, 152.6, 168.1, 170.8. HRMS Calcd for $C_{24}H_{23}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 451.1492 found 451.1466. Anal Calcd (%): C, 63.93; H, 5.14; N, 12.43; found: C, 63.81; H, 5.08; N, 12.38.

3.2.7. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide ***(6g)***

White solid; mp 122–123 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) 1.29–1.40 (m, 6H, 3x-**CH_2-**); 1.55–1.63 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.40 (t,

J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.01–3.07 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.21–3.27 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.72 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.44 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.30 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.42 (dd, J = 2.2, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.73 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.83–7.92 (m, 4H, Ar-H); 8.20–8.29 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 8.35 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.4, 26.7, 28.3, 29.1, 34.6, 39.4, 40.8, 42.2, 99.1, 117.7, 123.6, 124.2, 124.8, 128.4 132.4, 133.7, 135.1, 149.5, 150.1, 152.3, 168.1, 170.7. HRMS Calcd for $C_{26}H_{27}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 479.1805 found 479.1814. Anal Calcd (%): C, 65.20; H, 5.68; N, 11.70; found: C, 65.13; H, 5.51; N, 11.61.

*3.2.8. N-(8-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)octyl)-3-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(6h)***

White solid; mp 85–86 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) 1.20–1.40 (m, 12H, 6x-**CH_2**-); 2.41 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.02–3.07 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.21–3.26 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.71 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.43 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.31 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.41 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.75 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.85–7.94 (m, 4H, Ar-H); 8.20–8.30 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 8.34 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.2, 26.6, 28.2, 28.5, 29.1, 29.5, 34.6, 37.8, 40.5, 42.2, 99.2, 117.5, 123.8, 124.2, 124.9, 128.5 132.4, 133.9, 135.0, 149.5, 150.0, 152.5, 168.3, 170.9. HRMS Calcd for $C_{28}H_{31}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 507.2118 found 507.2129. Anal Calcd (%): C, 66.33; H, 6.16; N, 11.05; found: C, 66.44; H, 6.26; N, 11.17.

*3.2.9. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)butanamide **(6i)***

White solid; mp 177–178 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.77–1.83 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.12 (t, J = 7.5 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.32 (t, J = 6.0 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.52–3.57 (m, 4H, 2x-**CH_2**-); 6.89 (d, J = 7.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (dd, J = 2.2, 9.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.81–7.86 (m, 4H, Ar-H); 8.00 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.16 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.53–8.57 (m, 2H, Ar-H); 9.54 (t, J = 5.9 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 24.3, 33.1, 37.5, 37.6, 43.2, 98.9, 115.9, 119.4, 123.4, 126.1, 127.3, 132.0, 134.8, 138.4, 138.9, 143.3, 156.1, 168.3, 172.6. HRMS Calcd for $C_{23}H_{21}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 437.1336 found 437.1321. Anal Calcd (%): C, 63.23; H, 4.85; N, 12.82; found: C, 63.44; H, 4.89; N, 12.77.

*3.2.10. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)butanamide **(6j)***

White solid; mp 145–146 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.22–1.34 (m, 4H, 2x-**CH_2**-); 1.76–1.83 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.11 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.08–3.15 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.25–3.29 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.56 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.85 (d, J = 7.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.76 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.80–7.86 (m, 4H, Ar-H); 8.01 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.14 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.54–8.59 (m, 2H, Ar-H); 8.85 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 24.4, 25.3, 27.5, 33.4, 37.6, 40.9, 43.2, 99.1, 115.7, 119.3, 123.4, 126.4, 127.3, 132.1, 134.8, 138.5, 138.8, 143.4, 156.1, 168.2, 172.4. HRMS Calcd for $C_{25}H_{25}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 465.1649 found 465.1633. Anal Calcd (%): C, 64.58; H, 5.42; N, 12.05; found: C, 64.41; H, 5.31; N, 12.19.

*3.2.11. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)butanamide **(6k)***

White solid; mp 158–159 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.18–1.25 (m, 2H, −**CH_2**−); 1.27–1.40 (m, 4H, 2x-**CH_2**-); 1.61–1.67 (m, 2H, −**CH_2**−); 1.78–1.85 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.06–2.10 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.91–2.99 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.23–3.27 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.57 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.46 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.32 (t, J = 5.55 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.44 (dd, J = 2.1, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.71 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.76 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.81–7.86 (m, 4H, Ar-H); 8.28 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.38 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 24.5, 26.4, 26.9, 28.2, 29.7, 33.5, 38.4, 40.4, 43.5, 99.2, 115.6, 119.3, 123.5, 126.4, 127.2, 132.0, 134.9, 138.5, 138.9, 143.3, 156.2, 168.1, 172.2. HRMS Calcd for $C_{27}H_{29}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 493.1962 found 4931951. Anal Calcd (%): C, 65.78; H, 5.93; N, 11.36; found: C, 65.65; H, 5.82; N, 11.44.

*3.2.12. N-(8-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)octyl)-4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)butanamide **(6l)***

White solid; mp 152–153 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.20–1.39 (m, 12H, 6x-**CH_2**-); 1.75–1.84 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.07–2.11 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.02–3.06 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.20–3.25 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.54 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 6.44 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.28 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.44 (dd, J = 2.2, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.75 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.83–7.90 (m, 4H, Ar-H); 8.19 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 8.27 (d, J = 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 8.40 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 24.5, 26.4, 26.7, 28.1, 28.5, 29.4, 29.8, 33.3, 37.8, 40.5, 43.4, 99.1, 115.9, 119.34, 123.4, 126.6, 127.2, 132.1, 134.6, 138.7, 138.8, 143.3, 156.3, 168.2, 172.6. HRMS Calcd for $C_{29}H_{33}ClN_4O_3$ $[M+H]^+$ 521.2275 found 521.2258. Anal Calcd (%): C, 66.85; H, 6.38; N, 10.75; found: C, 66.79; H, 6.49; N, 10.61.

*3.2.13. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(6m)***

White solid; mp 192–193 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz): 3.31 (s, 4H, 2x-**CH_2**-); 4.17 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.51 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.37–7.42 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 7.64–7.69 (m, 1H, Ar-H); 7.75 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.77–7.80 (m, 1H, Ar-H); 7.93–7.96 (m, 1H, Ar-H); 8.13 (d, J = 9.0 Hz, Ar-H); 8.37 (d, J = 5.5 Hz, Ar-H); 8.45 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 36.7, 41.3, 42.5, 99.1, 111.3 (d, J = 22.9 Hz), 117.8, 121.5 (d, J = 23.7 Hz), 124.8, 125.1, 126.7 (d, J = 9.6 Hz), 127.9, 128.5 (d, J = 1.9 Hz), 133.4, 135.1 (d, J = 9.4 Hz), 149.7, 150.6, 152.5, 166.2 (d, J = 252.3 Hz), 166.7 (d, J = 2.3 Hz), 167.3, 169.7. HRMS Calcd for $C_{21}H_{16}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 427.0929 found 427.0935. Anal Calcd (%): C, 59.09; H, 3.78; N, 13.13; found: C, 59.22; H, 3.68; N, 13.33.

*3.2.14. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-2-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(6n)***

White solid; mp 140–141 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz): 1.50–1.56 (m, 2H, −**CH_2**−); 1.62–1.68 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.11–3.15 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.27–3.31 (m, 2H, −**CH_2**−); 4.18 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.50 (d, J = 5.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.45–7.47 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 7.68–7.72 (m, 1H, Ar-H); 7.78 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.81–7.83 (m, 1H, Ar-H); 7.97–7.99 (m, 1H, Ar-H); 8.25 (t, J = 5.7 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 8.29 (d, J = 9.0 Hz, Ar-H); 8.39 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 25.7, 26.8, 35,2, 39.3, 42.9, 99.0, 111.7 (d, J = 23.3 Hz), 117.7, 121.5 (d, J = 23.4 Hz), 124.4, 124.8, 126.6 (d, J = 9.6 Hz), 127.9, 128.3 (d, J = 1.8 Hz), 133.9, 135.2 (d, J = 9.4 Hz), 149.1, 150.4, 152.2, 166.1 (d, J = 251.6 Hz), 166.9 (d, J = 2.3 Hz), 167.4, 169.8. HRMS Calcd for $C_{23}H_{20}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 455.1242 found 455.1265. Anal Calcd (%): C, 60.73; H, 4.43; N, 12.32; found: C, 60.59; H, 4.38; N, 12.21.

*3.2.15. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-2-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(6o)***

White solid; mp 131–132 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): 1.36–1.44 (m, 4H, 2x-**CH_2**-); 1.54–1.62 (m, 4H, 2x-**CH_2**-); 3.01–3.07 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.22–3.25 (m, 2H, −**CH_2**−); 4.17 (s, 2H, −**CH_2**−); 6.39 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.30 (t, J = 5.4 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 7.35 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.54–7.59 (m, 1H, Ar-H); 7.69–7.74 (m, 2H, Ar-H); 7.88–7.90 (m, 1H, Ar-H); 7.96 (t, J = 5.5 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 8.22 (d, J = 9.0 Hz, Ar-H);

8.31 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.5, 26.9, 28.5, 29.6, 39.5, 40.9, 42.5, 99.1, 111.4 (d, J = 23.7 Hz), 117.7, 121.9 (d, J = 23.7 Hz), 124.9, 125.4, 126.5 (d, J = 9.7 Hz), 127.8, 128.2 (d, J = 1.9 Hz), 133.7, 135.1 (d, J = 9.7 Hz), 149.6, 150.7, 152.3, 166.0 (d, J = 252.3 Hz), 166.8 (d, J = 2.4 Hz), 167.2, 169.6. HRMS Calcd for $C_{25}H_{24}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 483.1555 found 483.1561. Anal Calcd (%): C, 62.18; H, 5.01; N, 11.60; found: C, 62.33; H, 5.12; N, 11.51.

*3.2.16. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-3-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(6p)***

White solid; mp 183–184 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): 2.40 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 3.00–3.09 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 3.73 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 6.41 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.29 (t, J = 5.5 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 7.41 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.56–7.62 (m, 1H, Ar-H); 7.70–7.74 (m, 2H, Ar-H); 7.84–7.88 (m, 1H, Ar-H); 7.99 (t, J = 5.4 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 8.22 (d, J = 9.1 Hz, Ar-H); 8.35 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 34.5, 37.9, 40.8, 42.4, 99.2, 111.3 (d, J = 23.2 Hz), 117.5, 121.2 (d, J = 23.4 Hz), 124.4, 124.8, 126.5 (d, J = 9.5 Hz), 127.8, 128.2 (d, J = 1.8 Hz), 133.7, 135.0 (d, J = 9.5 Hz), 149.6, 150.3, 152.2, 166.1 (d, J = 251.9 Hz), 166.5 (d, J = 2.3 Hz), 167.1, 169.9. HRMS Calcd for $C_{27}H_{29}ClN_4O_3$ $[M]^+$ 492.1928 found 4921941. HRMS Calcd for $C_{22}H_{18}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 441.1085 found 441.1097. Anal Calcd (%): C, 59.94; H, 4.12; N, 12.71; found: C, 59.77; H, 4.41; N, 12.59.

*3.2.17. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-3-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(6q)***

White solid; mp 177–178 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): 1.38–1.45 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 1.51–1.58 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 2.38 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 2.98–3.03 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.15–3.20 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.72 (t, J = 7.3 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 6.39 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.28 (t, J = 5.4 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 7.39 (dd, J = 2.3, 9.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.54–7.59 (m, 1H, Ar-H); 7.69–7.72 (m, 2H, Ar-H); 7.85–7.88 (m, 1H, Ar-H); 7.98 (t, J = 5.5 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 8.21 (d, J = 9.0 Hz, Ar-H); 8.33 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 25.6, 27.1, 34.4, 35.1, 38.6, 42.5, 99.1, 111.4 (d, J = 23.5 Hz), 117.9, 121.5 (d, J = 23.5 Hz), 124.5, 124.6, 126.2 (d, J = 9.6 Hz), 127.8, 128.3 (d, J = 1.7 Hz), 133.9, 135.1 (d, J = 9.5 Hz), 149.4, 150.6, 152.3, 166.2 (d, J = 251.7 Hz), 166.8 (d, J = 2.4 Hz), 167.2, 169.8. HRMS Calcd for $C_{24}H_{22}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 469.1398 found 469.1387. Anal Calcd (%): C, 61.47; H, 4.73; N, 11.95; found: C, 61.55; H, 4.88; N, 11.87.

*3.2.18. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-3-(5-fluoro-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(6r)***

White solid; mp 138–139 °C; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 400 MHz): 1.32–1.39 (m, 6H, 3x-**CH$_2$**-); 1.54–1.63 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 2.39 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 3.00–3.05 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.19–3.24 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.71 (t, J = 7.2 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 6.38 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.29 (t, J = 5.4 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 7.37 (dd, J = 2.2, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.53–7.59 (m, 1H, Ar-H); 7.68–7.73 (m, 2H, Ar-H); 7.86–7.89 (m, 1H, Ar-H); 7.95 (t, J = 5.4 Hz, NH-exchangeable with D_2O); 8.20 (d, J = 9.1 Hz, Ar-H); 8.32 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.7, 26.9, 28.3, 29.5, 34.1, 39.3, 40.7, 42.4, 99.0, 111.5 (d, J = 23.4 Hz), 117.5, 121.8 (d, J = 23.7 Hz), 124.8, 125.3, 126.1 (d, J = 9.7 Hz), 127.9, 128.2 (d, J = 1.9 Hz), 133.8, 135.0 (d, J = 9.7 Hz), 149.5, 150.5, 152.2, 166.1 (d, J = 251.6 Hz), 166.9 (d, J = 2.5 Hz), 167.3, 169.7. HRMS Calcd for $C_{26}H_{26}ClFN_4O_3$ $[M+H]^+$ 497.1711 found 497.1723. Anal Calcd (%): C, 62.84; H, 5.27; N, 11.27; found: C, 62.77; H, 5.33; N, 11.16.

General procedure for synthesis of C-5 secondary amine substituted *N*-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)alkyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)alkylamides (7a-r): In a microwave reaction vial was added a solution of C-5 fluoro substituted *N*-(7-chloroquinolin-4-yl) amino)alkyl)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)alkylamide **6m-l** (1.0 mmol) in 0.5 mL of NMP (*N*-Methylpyrrolidin-2-one) and secondary amines (1.2 mmol). After sealing with a PTFE cap, the vessel was heated to 160 ^{0}C for 5 min in the microwave reactor and the completion was ascertained using TLC. After completion, the contents were poured in water (20 mL) resulting in the precipitation of the desired product. The yellow product obtained was filtered and re-crystallized using absolute ethanol.

*3.2.19. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7a)***

Yellow solid; mp 216–217 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 3.30–3.32 (m, 6H, 3x-**CH$_2$**-); 3.59–3.63 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.74–3.76 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 4.12 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.90 (d, J = 7.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.25 (dd, J = 2.3, 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.32 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.05 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.55–8.57 (m, 3H, Ar-H); 9.55 (t, J = 5.9 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 39.1, 42.7, 47.6, 48.8, 66.5, 99.1, 108.3, 117.8, 118.1, 120.2, 124.5, 124.6, 125.1, 127.9, 133.5, 134.6, 149.4, 150.5, 152.3, 155.7, 166.4, 167.7, 168.4, 174.1. HRMS Calcd for $C_{25}H_{24}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 494.1550 found 494.1564. Anal Calcd (%): C, 60.79; H, 4.90; N, 14.18; found: C, 60.83; H, 4.79; N, 14.31.

*3.2.20. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-2-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7b)***

Yellow solid; mp 174–175 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.51–1.56 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 1.63–1.69 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.07–3.011 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.25–3.28 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.39–3.42 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 3.70–3.74 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 4.15 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.46 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.25 (dd, J = 2.2, 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.28 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.31 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.45 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.68 (d, J = 8.8 Hz, 1H, Ar-H); 7.79 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.16 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.27 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.39 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 25.4, 27.6, 37.9, 40.6, 42.7, 47.4, 66.3, 99.1, 108.5, 117.7, 118.2, 120.3, 124.5, 124.7, 125.2, 127.7, 133.9, 134.5, 149.6, 150.5, 152.7, 155.6, 166.4, 167.9, 168.2, 174.1. HRMS Calcd for $C_{27}H_{28}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 522.1863 found 522.1878. Anal Calcd (%): C, 62.13; H, 5.41; N, 13.42; found: C, 62.31; H, 5.33; N, 13.53.

*3.2.21. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-2-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7c)***

Yellow solid; mp 160–161 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.30–1.45 (m, 6H, 3x-**CH$_2$**-); 1.64–1.67 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.04–3.09 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.23–3.27 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.36–3.39 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 3.72–3.75 (m, 4H, 2x-**CH$_2$**-); 4.12 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.45 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.22 (dd, J = 2.4, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.27 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.32 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.42 (dd, J = 2.3, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.66 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 8.15 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.26 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.38 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 26.4, 26.7, 28.1, 29.4, 39.0, 42.7, 47.5, 48.9, 66.2, 99.0, 108.2, 117.9, 118.0, 120.1, 124.4, 124.5, 125.0, 127.9, 133.7, 134.7, 149.5, 150.5, 152.4, 155.7, 166.5, 167.8, 168.3, 174.2. HRMS Calcd for $C_{29}H_{32}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 550.2176 found 550.2188. Anal Calcd (%): C, 63.32; H, 5.86; N, 12.73; found: C, 63.51; H, 5.65; N, 12.68.

*3.2.22. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-3-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7d)***

Yellow solid; mp 208–209 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 2.38 (t, J = 7.3 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 3.20–3.28 (m, 8H, 4x-**CH$_2$**-); 3.67–3.73 (m, 6H, 3x-**CH$_2$**-); 6.44 (d, J = 5.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.06 (dd, J = 2.3, 8.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.16 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.25 (t, J = 5.1 Hz, 1H, N-H-

exchangeable with D_2O); 7.36 (dd, J = 2.3, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.50 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.73 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 8.02 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.24 (t, J = 5.5 Hz, 1H, N-H-exchangeable with D_2O); 8.35 (d, J = 5.1 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 34.7, 34.8, 37.7, 42.8, 47.4, 66.2, 99.0, 108.0, 117.7, 117.8, 119.9, 124.2, 124.5, 124.7, 127.9, 133.8, 134.4, 149.4, 150.4, 152.3, 155.5, 168.0, 168.3, 170.9. HRMS Calcd for $C_{26}H_{26}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 508.1707 found 508.1716. Anal Calcd (%): C, 61.48; H, 5.16; N, 13.79; found: C, 61.55; H, 5.26; N, 13.88.

*3.2.23. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-3-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7e)***

Yellow solid; mp 158–159 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.52–1.57 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 1.61–1.67 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 2.36 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 3.19–3.28 (m, 8H, 4x-**CH$_2$-**); 3.65–3.71 (m, 6H, 3x-**CH$_2$-**); 6.42 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.04 (dd, J = 2.2, 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.14 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.23 (t, J = 5.3 Hz, 1H, N-H-exchangeable with D_2O); 7.32 (dd, J = 2.2, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.51 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.71 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 8.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.25 (t, J = 5.4 Hz, 1H, N-H-exchangeable with D_2O); 8.33 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 25.5, 27.4, 34.6, 34.9, 37.9, 42.9, 47.7, 66.1, 99.1, 108.2, 117.5, 117.9, 119.4, 124.1, 124.6, 124.8, 127.7, 133.6, 134.2, 149.1, 150.2, 152.1, 155.6, 168.1, 168.2, 170.7. HRMS Calcd for $C_{28}H_{30}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 536.2020 found 536.2009. Anal Calcd (%): C, 62.74; H, 5.64; N, 13.07; found: C, 62.87; H, 5.55; N, 13.20.

*3.2.24. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-3-(5-morpholino-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7f)***

Yellow solid; mp 126–127 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.31–1.46 (m, 6H, 3x-**CH$_2$-**); 1.53–1.56 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 2.35 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH$_2$**−); 3.05–3.09 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.23–3.27 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.35–3.39 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 3.66–3.73 (m, 6H, 3x-**CH$_2$-**); 6.41 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.03 (dd, J = 2.1, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.15 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.25 (t, J = 5.2 Hz, 1H, N-H-exchangeable with D_2O); 7.33 (dd, J = 2.0, 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 7.53 (d, J = 8.8 Hz, 1H, Ar-H); 7.73 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.03 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.26 (t, J = 5.3 Hz, 1H, N-H-exchangeable with D_2O); 8.34 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 26.5, 26.9, 28.1, 29.5, 34.6, 38.2, 40.1, 42.8, 47.6, 66.2, 99.2, 108.1, 117.6, 117.8, 119.3, 124.2, 124.7, 124.8, 127.6, 133.7, 134.1, 149.3, 150.1, 152.4, 155.5, 168.1, 168.3, 170.5 HRMS Calcd for $C_{30}H_{34}ClN_5O_4$ $[M+H]^+$ 564.2333 found 564.2326. Anal Calcd (%): C, 63.88; H, 6.08; N, 12.42; found: C, 63.97; H, 6.19; N, 12.33.

*3.2.25. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7g)***

Yellow solid; mp 197–198 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.10 (t, 6H, 2x-**CH$_3$**); 3.22–3.27 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 3.36–3.41 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 4.11 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.52 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 6.91 (d, J = 8.8 Hz, 1H, Ar-H); 6.97 (s, 1H, Ar-H), 7.46–7.50 (m, 2H, Ar-H, NH-exchangeable with D_2O); 7.56 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (s, 1H, Ar-H), 8.16 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.28 (d, J = 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 8.38 (d, J = 5.6 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.4, 37.6, 40.8, 42.6, 44.7, 99.0, 105.3, 114.7, 116.2, 117.8, 124.4, 124.6, 125.5, 127.2, 127.7, 134.1, 135.5, 150.7, 151.7, 152.2, 166.6, 167.6, 168.9 HRMS Calcd for $C_{25}H_{26}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 480.1758 found 480.1743. Anal Calcd (%): C, 62.56; H, 5.46; N, 14.59; found: C, 62.65; H, 5.39; N, 14.67.

*3.2.26. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-2-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7h)***

Yellow solid; mp 173–174 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.13 (t, 6H, 2x-**CH$_3$**); 1.50–1.57 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 1.62–1.68 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.10–3.14 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.27–3.31 (m, 2H, 2x-**CH$_2$-**); 3.39–3.43 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 4.10 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.51 (d, J = 5.6 Hz, 1H, Ar-H); 6.92 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 6.99 (s, 1H, Ar-H), 7.44–7.50 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.78 (s, 1H, Ar-H), 8.18 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.29 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.39 (d, J = 5.7 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.5, 25.5, 27.1, 38.8, 41.5, 42.5, 44.8, 99.1, 105.2, 114.8, 116.3, 117.7, 124.5, 124.6, 125.4, 127.1, 127.4, 134.2, 135.3, 150.9, 151.6, 152.3, 166.7, 167.9, 168.6 HRMS Calcd for $C_{27}H_{30}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 508.2071 found 508.2079. Anal Calcd (%): C, 63.84; H, 5.95; N, 13.79; found: C, 63.72; H, 5.80; N, 13.66.

*3.2.27. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-2-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7i)***

Yellow solid; mp 158–159 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.12 (t, 6H, 2x-**CH$_3$**); 1.32–1.44 (m, 6H, 3x-**CH$_2$-**); 1.63–1.67 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.07–3.10 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.25–3.30 (m, 2H, 2x-**CH$_2$-**); 3.37–3.41 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 4.11 (s, 2H, −**CH$_2$**−); 6.50 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 6.90 (dd, J = 2.2, 8.8 Hz, 1H, Ar-H); 6.98 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.43–7.50 (m, 2H, Ar-H + NH-exchangeable with D_2O); 7.54 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.75 (d J = 2.2 Hz 1H, Ar-H), 8.20 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.27 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.37 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H);^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.4, 26.3, 26.9, 28.2, 29.5, 39.2, 41.3, 42.9, 44.6, 99.2, 105.1, 114.8, 116.3, 117.6, 124.7, 124.9, 125.4, 127.3, 127.7, 134.3, 135.3, 150.8, 151.6, 152.4, 166.6, 167.8, 168.7 HRMS Calcd for $C_{29}H_{34}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 536.2384 found 536.2371. Anal Calcd (%): C, 64.98; H, 6.39; N, 13.06; found: C, 64.80; H, 6.49; N, 13.18.

*3.2.28. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-3-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7j)***

Yellow solid; mp 189–190 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.05 (t, J = 7.0 Hz, 6H, 2x-**CH$_3$**); 2.37 (t, J = 7.3 Hz, 2H, **–CH$_2$**); 3.22–3.26 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 3.38–3.42 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 3.69 (t, J = 7.3 Hz, 2H, **–CH$_3$**); 6.45 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 6.76 (dd, J = 2.6, 8.8 Hz, 1H, Ar-H); 6.85 (d, J = 2.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.37 (dd, J = 2.2, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.44 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.73 (d, J = 2.4 Hz 1H, Ar-H), 8.05 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.23 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.35 (d, J = 5.0 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.6, 34.6, 37.7, 41.1, 42.7, 44.8, 99.0, 105.0, 114.6, 116.2, 117.8, 124.3, 124.5, 124.6, 125.2, 127.8, 133.9, 135.0, 149.3, 150.5, 152.2, 168.1, 168.6, 170.9 HRMS Calcd for $C_{26}H_{28}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 494.1914 found 494.1902. Anal Calcd (%): C, 63.22; H, 5.71; N, 14.18; found: C, 63.32; H, 5.66; N, 14.27.

*3.2.29. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-3-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7k)***

Yellow solid; mp 161–162 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.04 (t, J = 7.1 Hz, 6H, 2x-**CH$_3$**); 1.52–1.57 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 1.60–1.67 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 2.35 (t, J = 7.2 Hz, 2H, **–CH$_3$**); 3.11–3.15 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.25–3.30 (m, 2H, −**CH$_2$**−); 3.37–3.41 (m, 4H, 2x-**CH$_2$-**); 3.67 (t, J = 7.2 Hz, 2H, **–CH$_3$**); 6.43 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); 6.77 (dd, J = 2.4, 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 6.84 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.37 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.45 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.75 (d, J = 2.2 Hz 1H, Ar-H), 8.07 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.25 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.36 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.6, 25.4, 27.5, 34.6, 37.7, 39.7, 42.7, 44.7, 99.1, 105.2, 114.3, 116.1, 117.8, 124.2, 124.5, 124.7, 125.4, 127.9, 133.7, 135.1, 149.3, 150.6, 152.4, 168.1, 168.5, 170.7 HRMS Calcd for $C_{28}H_{32}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 522.2227 found 522.2239. Anal Calcd (%): C, 64.42; H, 6.18; N, 13.42; found: C, 64.36; H, 6.27; N, 13.39.

*3.2.30. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-3-(5-(diethylamino)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7l)***

Yellow solid; mp 142–143 °C; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1.08

(t, J = 7.3 Hz, 6H, 2x-**CH_3**); 1.35–1.45 (m, 6H, 3x-**CH_2-**); 1.61–1.66 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.37 (t, J = 7.2 Hz, 2H, –**CH_3**); 3.10–3.14 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.24–3.30 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.36–3.41 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.68 (t, J = 7.2 Hz, 2H, –**CH_3**); 6.42 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); 6.75 (dd, J = 2.2, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 6.85 (d, J = 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.26 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.37 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.47 (d, J = 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (d, J = 2.2 Hz 1H, Ar-H), 8.06 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.26 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.38 (d, J = 5.2 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ 12.6, 26.4, 26.9, 28.5, 29.8, 34.6, 39.5, 41.1, 42.7, 44.5, 99.1, 105.3, 114.4, 116.1, 117.9, 124.2, 124.6, 124.8, 125.4, 127.8, 133.8, 135.2, 149.4, 150.7, 152.5, 168.1, 168.7, 170.6 HRMS Calcd for $C_{30}H_{36}ClN_5O_3$ $[M+H]^+$ 550.2540 found 550.2521. Anal Calcd (%): C, 65.50; H, 6.60; N, 12.73; found: C, 65.55; H, 6.52; N, 12.65.

*3.2.31. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-2-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7m)***

Yellow solid; mp 218–219 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 2.45 (t, J = 6.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 2.54 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.11–3.15 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.26–3.29 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.42 (t, J = 4.5 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.53 (t, J = 6.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.10 (s, 2H, −**CH_2**−); 4.48 (s, 1H, −OH); 6.47 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.21 (dd, J = 1.5, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.30 (d, J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.35 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.45 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.66 (d, J = 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.78 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.18 (t, J = 5.7 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.29 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.39 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 38.7, 42.4, 47.5, 49.1, 53.3, 59.1, 60.6, 99.0, 108.1, 117.3, 117.8, 119.4, 124.3, 124.6, 125.1, 127.9, 133.7, 134.7, 149.5, 150.6, 152.2, 155.5, 166.7, 167.8, 168.2 HRMS Calcd for $C_{27}H_{29}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 537.1972 found 537.1961. Anal Calcd (%): C, 60.39; H, 5.44; N, 15.65; found: C, 60.49; H, 5.38; N, 15.77.

*3.2.32. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-2-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7n)***

Yellow solid; mp 151–152 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.50–1.55 (m, 2H, −**CH_2**−); 1.62–1.68 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.44 (t, J = 6.1 Hz 2H, −**CH_2**−); 2.55 (t, J = 4.9 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.10–3.14 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.25–3.29 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.54 (t, J = 6.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.11 (s, 2H, −**CH_2**−); 4.49 (s, 1H, −OH); 6.48 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.22 (dd, J = 1.5, 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.31 (d, J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.34 (t, J = 5.6 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.43 (dd, J = 2.2, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.65 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.19 (t, J = 5.7 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.27 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.38 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 25.5, 27.1, 38.8, 42.5, 47.3, 49.0, 53.2, 59.0, 60.5, 99.1, 108.2, 117.8, 117.9, 119.4, 124.4, 124.5, 125.0, 127.8, 133.8, 134.7, 149.4, 150.5, 152.2, 155.5, 166.6, 167.8, 168.3 HRMS Calcd for $C_{29}H_{33}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 565.2285 found 565.2268. Anal Calcd (%): C, 61.64; H, 5.89; N, 14.87; found: C, 61.58; H, 5.79; N, 14.79.

*3.2.33. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-2-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)acetamide **(7o)***

Yellow solid; mp 118–119 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.31–1.45 (m, 6H, 3x-**CH_2-**); 1.62–1.67 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.46 (t, J = 6.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 2.54 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.07–3.11 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.20–3.27 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.40 (t, J = 4.7 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.55 (t, J = 6.2 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.10 (s, 2H, −**CH_2**−); 4.48 (s, 1H, −OH); 6.47 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.20 (dd, J = 1.6, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.30 (d, J = 1.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.34 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.44 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.64 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.75 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.16 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.25 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.36 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 26.1, 26.8, 28.1, 29.4, 39.5, 42.9, 47.5, 49.1, 53.5, 59.1, 60.4, 99.0, 108.1, 117.9, 118.1, 119.3, 124.5, 124.8, 125.1, 127.9, 133.7, 134.6, 149.3, 150.6, 152.1, 155.7, 166.6, 167.7, 168.2 HRMS Calcd for $C_{31}H_{37}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 593.2598 found 593.2604. Anal Calcd (%): C, 62.78; H, 6.29; N, 14.17; found: C, 62.70; H, 6.33; N, 14.24.

*3.2.34. N-(2-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)ethyl)-3-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7p)***

Yellow solid; mp 211–212 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 2.42–2.45 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 2.53 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.26–3.31 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.33–3.35 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.52–3.55 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.76 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.47 (s, 1H, OH); 6.49 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.11 (dd, J = 2.3, 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.19 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 7.28 (t, J = 5.2 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.40 (dd, J = 2.2, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.77 (d, J = 2.3 Hz, 1H, Ar-H); 8.08 (d, J = 8.9 Hz, 1H, Ar-H); 8.25 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.39 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 34.7, 34.8, 37.7, 42.7, 47.2, 53.2, 59.0, 60.5, 99.0, 107.9, 117.7, 117.8, 119.2, 124.2, 124.5, 124.8, 127.9, 133.8, 134.5, 149.4, 150.4, 152.3, 153.3, 168.0, 168.4, 170.9. HRMS Calcd for $C_{28}H_{31}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 551.2129 found 551.2141. Anal Calcd (%): C, 61.03; H, 5.67; N, 15.25; found: C, 61.17; H, 5.78; N, 15.16.

*3.2.35. N-(4-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)butyl)-3-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7q)***

Yellow solid; mp 162–163 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.50–1.55 (m, 2H, −**CH_2**−); 1.62–1.68 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.41–2.47 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 2.55 (t, J = 5.0 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.13–3.16 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.27–3.31 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.54 (t, J = 6.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.75 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.48 (s, 1H, OH); 6.47 (d, J = 5.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.10 (dd, J = 2.2, 8.6 Hz, 1H, Ar-H); 7.18 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 7.27 (t, J = 5.3 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.41 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.52 (d, J = 8.5 Hz, 1H, Ar-H); 7.78 (d, J = 2.2 Hz, 1H, Ar-H); 8.05 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.27 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.40 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 25.4, 27.9, 34.6, 37.9, 39.1, 42.7, 47.8, 53.1, 59.1, 60.6, 99.1, 107.8, 117.4, 117.9, 119.1, 124.3, 124.5, 124.9, 127.8, 133.9, 134.6, 149.6, 150.3, 152.5, 153.5, 168.1, 168.7, 170.6. HRMS Calcd for $C_{30}H_{35}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 579.2442 found 579.2457. Anal Calcd (%): C, 62.22; H, 6.09; N, 14.51; found: C, 62.32; H, 6.19; N, 14.43.

*3.2.36. N-(6-((7-chloroquinolin-4-yl)amino)hexyl)-3-(5-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-1,3-dioxoisoindolin-2-yl)propanamide **(7r)***

Yellow solid; mp 102–103 °C; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 1.32–1.44 (m, 6H, 3x-**CH_2-**); 1.63–1.68 (m, 2H, −**CH_2**−); 2.42–2.48 (m, 4H, 2x-**CH_2-**); 2.54 (t, J = 5.0 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.11–3.15 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.24–3.30 (m, 2H, −**CH_2**−); 3.43 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 2x-**CH_2-**); 3.57 (t, J = 6.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 3.75 (t, J = 7.1 Hz, 2H, −**CH_2**−); 4.47 (s, 1H, OH); 6.45 (d, J = 5.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.09 (dd, J = 2.1, 8.7 Hz, 1H, Ar-H); 7.16 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 7.28 (t, J = 5.1 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 7.40 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 7.51 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H); 7.79 (d, J = 2.1 Hz, 1H, Ar-H); 8.07 (d, J = 9.0 Hz, 1H, Ar-H); 8.29 (t, J = 5.5 Hz, 1H, NH-exchangeable with D_2O); 8.41 (d, J = 5.3 Hz, 1H, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ 26.3, 26.9, 28.4, 29.6, 34.5, 39.7, 42.8, 47.4, 49.3, 53.7, 59.3, 60.6, 99.0, 107.7, 117.5, 117.9, 119.3, 124.4, 124.8, 124.8, 127.9, 133.8, 134.7, 149.5, 150.5, 152.8, 153.8, 168.2, 168.9, 170.5. HRMS Calcd for $C_{32}H_{39}ClN_6O_4$ $[M+H]^+$ 607.2755 found 607.2769. Anal Calcd (%): C, 63.30; H, 6.47; N, 13.84; found: C, 63.21; H, 6.33; N, 13.79.

3.3. Methods for assessment of the antiplasmodial activity of test compounds

The W2 strain of *P. falciparum* was cultured in RPMI-1640 medium

with 0.5% Albumax I (Gibco) following the standard procedures and using 5% D-sorbitol to synchronize parasites. To initiate at the ring stage, microwell cultures were incubated with different concentrations of the compounds for 48 h. The compounds were added from DMSO stocks keeping 0.1% as the maximum concentration of DMSO. Controls lacking inhibitors included 0.1% DMSO. The culture medium was removed after 48 h when control cultures had developed new rings which were further incubated at RT for 48 h at pH 7.4 with 1% formaldehyde in PBS. Fixed parasites were then shifted to 0.1% Triton X-100 in PBS containing 1 nM YOYO-1 dye (Molecular Probes). Using Cell Quest software (Beckton Dickinson), parasitemia was determined from dot plots (forward scatter vs. fluorescence) acquired on a FACSort flow cytometer. The determination of IC_{50} values for growth inhibition was done from plots of percent control parasitemia over inhibitor concentration with Prism 5.0 program, (GraphPad Software), with data from duplicate experiments fitted by non-linear regression [23].

3.4. Cytotoxicity assay

Cell viability was determined using Vero cells (ATCC, Sigma, Germany) cultured in RPMI medium (Gibco, USA), provided with 10% de-complemented fetal calf serum, under a 5% CO_2 atmosphere so as to determine cell viability. Cells were seeded in 96-well plates at a density of 2×10^4 cells/well in 160 μL medium and incubated overnight at 37 °C to allow cells to adhere. Compounds (Stock solution in DMSO) were freshly diluted to appropriate concentrations in DMEM, to allow the addition of 20 μL volumes of the diluted compounds to the cells that resulted in final compound concentrations of 100 μg/mL, 50 μg/mL, and 25 μg/mL. No cytotoxic effect of DMSO was observed at 1% (v/v) which was the maximum final concentration of DMSO. After 24 h incubation at 37 °C, 20 μL of 1 mg/mL resazurin (Sigma, Germany) was added to each well and the cells were incubated for an additional 3 h at 37 °C. Fluorescence was measured in a Polarstar Omega fluorometer using appropriate filters (540 nm excitation and 590 nm emission wave length). Percentage survival was determined by dividing fluorescence values obtained in the compound containing wells by values obtained for control wells containing cells incubated with a dilution series of DMSO (1%, 0.5%, 0.25%) and multiplying this value by 100. The IC_{50} is defined as the lowest concentration of compound tested at which at least 50% cell viability was observed.

Acknowledgment

Conflict of interest

The authors have declared no conflict of interest.

Appendix A. Supplementary material

Scanned ^1H and ^{13}C NMR spectra of few representative compounds *viz.* **6a, 6c, 6e, 6i, 6n, 6q, 7a, 7c, 7d, 7j, 7n** and **7p** are provided in the electronic supplementary information. Supplementary data to this article can be found online at .

References

[1] (a) E.A. Ashley, A.P. Phyo, C.J. Woodrow, Malaria. Lancet 391 (2018) 1608;
(b) D. Pesic, K. Starcevic, A. Toplak, E. Herreros, J. Vidal, M.J. Almela, D. Jelic, S. Alihodzic, R. Spaventi, M. Peric, J. Med. Chem. 55 (2012) 3216.

[2] World Malaria Report, World Health Organization, 2018. Online, http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275867/9789241565653-eng.pdf?ua=1.

[3] World malaria report 2017. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2017. World Health Organization http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/ 259492/1/9789241565523-eng.pdf?ua=1.

[4] S. Kumar, R.K. Singh, B. Patial, S. Goyal, T.R. Bhardwaj, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 31 (2016) 173.

[5] C. Imperatorea, M. Persicoa, M. Senesea, A. Aielloa, M. Casertanoa, P. Lucianoa, N. Basilicob, S. Parapinib, A. Paladinoc, C. Fattorussoa, M. Mennaa, Bio. Chem. 85 (2019) 240.

[6] https://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/reduction/drug_resistance.html.

[7] R.M. Beteck, F.J. Smit, R.K. Haynes, D.D. N'Da, Malar. J. 13 (2014) 339.

[8] A.M. Dondorp, S. Yeung, L. White, C. Nguon, N.P.J. Day, D. Socheat, L. von Seidlein, Nat. Rev. Microbiol. 8 (2010) 272.

[9] B. Aneja, B. Kumar, M.A. Jairajpuri, M. Abid, RSC Adv. 6 (2016) 18364.

[10] R.R. Soares, J.M.F. deSilva, B.C. Carlos, C.C. deFonseca, L.S.A. deSouza, F.V. Lopes, de, P.R.M. Dias, P.O.L. Moreira, C. Abramo, G.H.R. Viana, P.F. de Varotti, A.D. deSilva, K.K.G. Scopel, Bioorg. Med. Chem. Lett. 25 (2015) 2308.

[11] M.C. Joshi, J. Okombo, S. Nsumiwa, J. Ndove, D. Taylor, L. Wiesner, R. Hunter, K. Chibale, T.J. Egan, J. Med. Chem. 60 (2017) 10245.

[12] F. Bellot, F. Cosledan, L. Vendier, J. Brocard, B. Meunier, A. Robert, J. Med. Chem. 53 (2010) 4103.

[13] A. Kumar, K. Srivastava, S.R. Kumar, M.I. Siddiqi, S.K. Puri, J.K. Saxena, P.M.S. Chauhan, Eur. J. Med. Chem. 46 (2011) 676.

[14] S. Manohar, U.C. Rajesh, S.I. Khan, B.L. Tekwani, D.S. Rawat, A.C.S. Med, Chem. Lett. 3 (2012) 555.

[15] E.M. Guantai, K. Ncokazi, T.J. Egan, J. Gut, P.J. Rosenthal, R. Bhampidipati, A. Kopinathan, P.J. Smith, K. Chibale, J. Med. Chem. 54 (2011) 3637.

[16] U. Sharma, P. Kumar, B. Kumar, Mini Rev. Med. Chem. 10 (2010) 678.

[17] A.K. Singh, V. Rajendran, A. Pant, P.C. Ghosh, N. Singh, N. Latha, S. Garg, K.C. Pandey, B.K. Singh, B. Rathi, Bioorg. Med. Chem. 23 (2015) 1817.

[18] A. Rani, A. Singh, J. Gut, P.J. Rosenthal, V. Kumar, Eur. J. Med. Chem. 143 (2018) 150.

[19] (a) A. Singh, J. Gut, P.J. Rosenthal, V. Kumar, Eur. J. Med. Chem. 125 (2017) 269;
(b) A. Singh, A. Rani, J. Gut, P.J. Rosenthal, V. Kumar, Chem. Biol. Drug Des. 90 (2017) 590;
(c) S. Kumar, A. Saini, J. Gut, P.J. Rosenthal, R. Raj, V. Kumar, Eur. J. Med. Chem. 138 (2017) 993;
(d) R. Raj, A. Saini, J. Gut, P.J. Rosenthal, V. Kumar, Eur. J. Med. Chem. 95 (2015) 230;
(e) P. Singh, R. Raj, P. Singh, J. Gut, P.J. Rosenthal, V. Kumar, Eur. J. Med. Chem. 71 (2014) 128.

[20] G. Kaur, K. Singh, E. Pavadai, M. Njoroge, M. Espinoza-Moraga, C. De Kock, P.J. Smith, S. Wittlind, K. Chibale, Med. Chem. Comm. 6 (2015) 2023.

[21] De. Dibyendu, F.M. Krogstad, L.D. Byers, D.J. Krogstad, J. Med. Chem. 41 (1998) 4918.

[22] http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties.

[23] P.J. Singh, Rosenthal, Antimicrob. Agent Chemother. 45 (2001) 949.

Introduction

Hydrophobic drug formulation remains a major challenge in the pharmaceutical field. Numerous active molecules that are water insoluble are presently inescapable from the treatment of various diseases (Chattopadhyay et al., 2007; Schäefer-Korting et al., 2007; Liu *et al.*, 2008; Attama et al., 2008; Joshi and Müller, 2009; Pardeike et al., 2009). Lipid nanoparticles, usable as hydrophobic carriers, are generally emulsions of oil droplets in water or lipid matrixes characterised by a solid phase at both room and body temperature. The latter are objects organised around a solid lipid core, stabilised if necessary by surfactants (Pardeike et al., 2009). Much research has been focused particularly on solid lipid nanoparticles (SLN; Müller, 1991; Jenning and Gohla, 2001; Cavalli et al., 2002; Videira et al., 2002), nanostructured lipid carriers (Utreja et al., 1999; Jeong et al., 2000; Müller et al., 2007; Souto et al., 2007) or lipid-drug conjugates (Müller and Olbrich, 2000; Wissing et al., 2004). These systems are also interesting by their composition since, they are generally made of lipids (triglycerides, glycerides, fatty acids and steroids), surfactants and co-surfactants (Gill et al., 1995; Lasic, 1996; Mehnert and Mäder, 2001; Bunjes and Siekmann, 2007). The particles are thus well tolerated, as the majority constitute biocompatible molecules, and numerous applications can be envisaged whatever be the administration route (Brioschi et al., 2007; Priano et al., 2007; Sarmento et al., 2007; Liu et al., 2008; Attama and Müller-Goymann, 2008; Pardeike et al., 2009). Moreover, as far as the SLN are concerned, they are usually described as stable, easy to prepare and able to protect various drugs from degradation and to release them in a controlled way (Serpe et al., 2004; Wong et al., 2007). Thus, they have proved effective for peptide and protein loading and release (Lim et al., 2004; Wong et al., 2006a, b; Almeida and Souto, 2007). As regards the pharmacokinetic improvement of such particles, some authors have

demonstrated an increase in drug concentration at the targeted site and a reduced amount in sensitive organs (liver and kidneys) due to an altered biodistribution of the active compound and, more interestingly, a significantly higher activity (Aggarwal et al., 2009; Hamidi et al., 2009). Emulsions are unstable systems and SLN have limited loading of hydrophobic drugs. So, there is still a real demand of highly stable hydrophobic carriers with high loading capacity. In such a context, we present an original family of hydrophobic drug carriers consisting of highly stable water dispersions of organogel particles. Organogels have already been used as drug delivery systems and have proved their ability to enhance the permeation of dermal and transdermal formulations, and to sustain the release of a drug, highlighting their potential as hydrophobic reservoirs (Murdan et al., 1999; Pisal et al., 2004; Williams and Barry, 2004; Kumar and Katare Prakash, 2005; Murdan et al. 2005; Vintiloiu and Leroux, 2008). So, recently, we introduced a new type of colloidal dispersion based on nanoparticles of gelled oil (Kirilov et al., 2008, 2009a, b). The preparation process is based on the sol–gel phase transition of an organogel obtained by hot emulsification ($T^\circ > Tgel$) in presence of an emulsifying or stabilising agent, then cooling ($T^\circ < Tgel$), leading to a stable dispersion of nanoparticles in water. Organogels were previously prepared by mixing the organic liquid or oil and the low-molecular-mass organic gelator (LMOG; Weiss and Terech, 2006; Huang and Weiss, 2007; Rogers et al., 2008). Therefore, organogels are defined as semi-solid, soft materials that result from the immobilisation of an organic liquid or oil in a 3-D network by a gelator (Terech and Weiss, 1997; Abdallah and Weiss, 2000; George and Weiss, 2006; Weiss and Terech, 2006). The formation of the gel usually depends on the nature of the LMOG, its concentration, the property of the oil and the protocol for preparing the organogel. The self-assembled network formed upon cooling leads to a thermally reversible organic gel-like material characterised by a significant elasticity (Lu and Weiss, 1995; Mukkamala and Weiss, 1996).

In this study, the formulation and characterisation of electrostatically stabilised gelled oil nanoparticles will be described. In order to improve the stabilisation of such particles, a new protocol was drawn up, taking advantage of the negative charge developed at the surface of the particles after gelation. An organogel made of soya bean oil gelled with 12-hydroxystearic acid (HSA), was emulsified at high temperature ($T^\circ > Tgel$) in an aqueous solution containing a branched polycation, polyethyleneimine (PEI), to form stable nanoparticles of gelled oil after cooling at room temperature. The chemical structures of the different ingredients used in this study are shown in Figure 1. The loading of gelled oil nanoparticles with a hydrophobic model molecule and, consequently, their interaction with human cells provides a proof of concept for these innovative drug delivery systems.

Materials and methods

Materials

12-Hydroxystearic acid (HSA) with a purity of 99% was obtained from Casid® (Caschem, NJ). Soybean oil (>95%) was obtained from Sigma–Aldrich and capric/caprylic triglycerides (55/45%) from Cognis (Milwaukee, WI, France). Branched PEI, 60 000 g/mol and Pluronic® F127 were provided by Sigma–Aldrich. Cell culture medium was obtained from Lonza (Braine-l'Alleud, Belgium). All other reagents, including 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT), were purchased from Sigma–Aldrich. Distilled water was used for the preparation of the emulsions and the corresponding dispersions.

Gel preparation

Gel samples were prepared by dissolving the desired weight percentage of HSA (6–15% by weight of oil phase) in the soybean oil or capric/caprylic triglycerides. For a complete dissolution of HSA in the oil, the mixture was homogenised (75°C, 5 min) by ultrasound (Vibra Cell, Bioblock Scientific, with a titanium probe, 20 kHz, 600 W) and cooled at room temperature to form a compact, translucent gel.

Preparation of aqueous gelled nanoparticle dispersions

For all experiments, the HSA was considered as an oil additive and, consequently, its weight percentage was only based on the oil phase and not on the total weight of the dispersion. For ease of comparison between the emulsion (without HSA) and the dispersion, the percentage weights of all the other ingredients were based on the total weight without HSA. Water solutions containing the stabilising agent (PEI) were added to the previously obtained organogel. The mixture was heated to 75°C (which is above the melting temperature of the gels) for 20 min and melted to an oily layer at the surface of the solution. Then the hot mixture (75°C) was emulsified by sonication (20 kHz, 600 W) for 10 min. The emulsion formed was then cooled at room temperature, leading to the dispersion of the organogel particles.

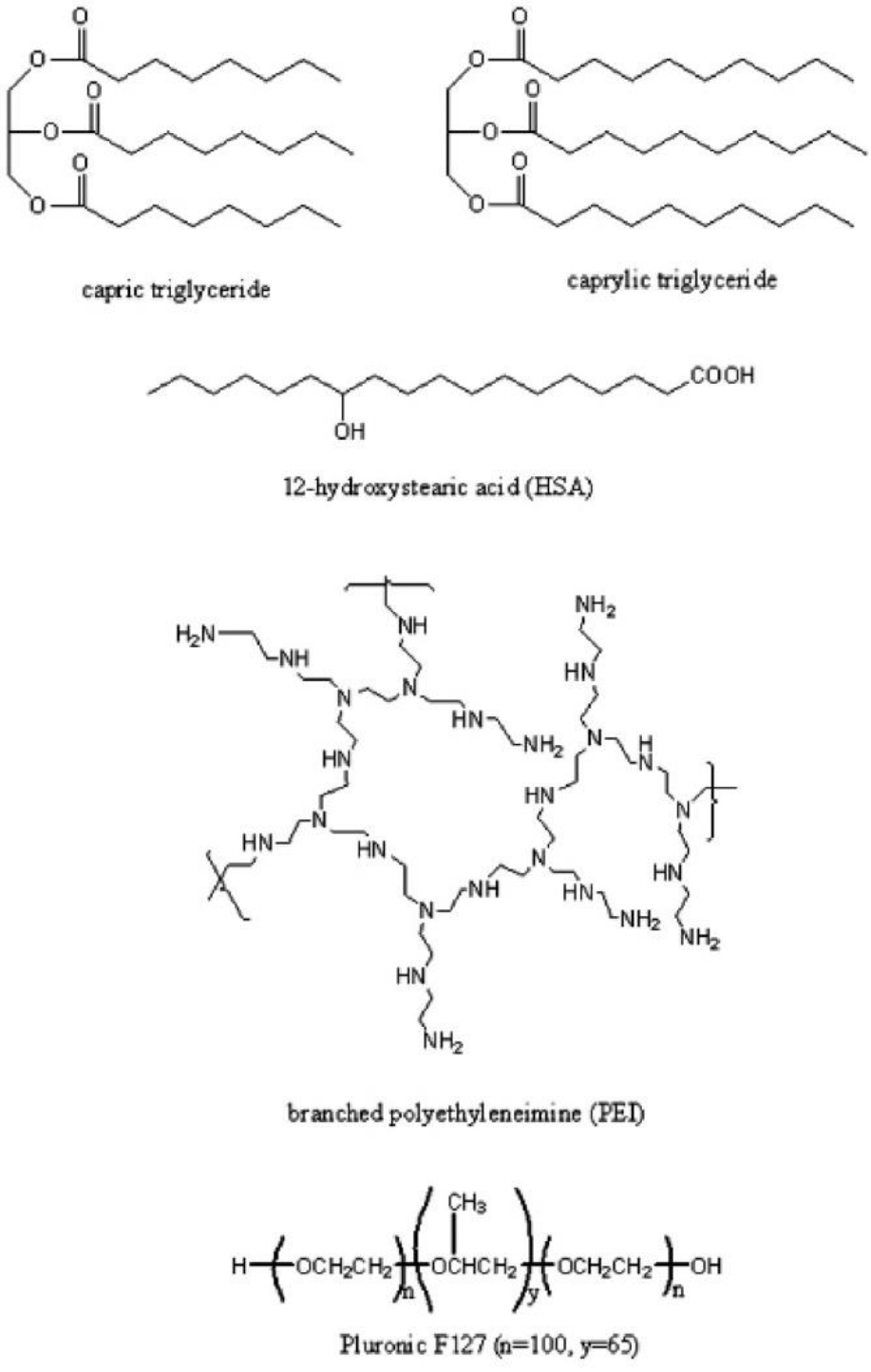


Figure 1. Chemical structures of the various components.

Nile red loading

Two protocols were tested: protocol 1, the loading with Nile red was achieved by dissolving 1 mg of the fluorescent powder in the soybean oil and the protocol was then followed as previously described; protocol 2, Nile red was added after particle formation and 1 week of stirring at room temperature. One milligram of Nile red was loaded and the particles were dialysed

(Spectra/Por Float-A-Lyzer 10 KDa Spectrum Laboratories) 1 week before tests on cells.

Particle size and zeta potential analysis

Dynamic Light Scattering (DLS), was performed using a Malvern Instrument's Nano ZS, with a He–Ne laser (633 nm), at a scattering angle of 173° and at 25 ± 1°C. The hydrodynamic mean diameter of the nanoparticles was determined using the software provided by Malvern Instruments. The Contin model was applied to obtain size data. All the autocorrelation function fits were checked and found to be in accordance with the experimental data. Zeta potential measurements were performed on the same apparatus, using an electrophoretic light scattering technique. All measurements were obtained from the mean of diluted samples (20 mg of the dispersion diluted into 5 mL of water). The accuracy was ±10 nm for the mean hydrodynamic diameter and ±5 mV for the zeta potential.

Transmission electron microscopy

The morphology of the particles was examined by transmission electron microscope (TEM; JEOL JEM-1200EX, 80 kV). Diluted samples (5 mg of the dispersion diluted in 5 mL of distilled water) were deposited on a 400 mesh carbon film copper grid for 1 min. Then, the excess sample solution was removed and samples were negatively stained with a sodium phosphotungstate solution (1 wt%, pH 7).

Fluorescence spectrophotometry

Fluorescence spectra were recorded using a Photon Technology International device equipped with a 175-W Eimac xenon lamp. The excitation wavelength was set at 555 nm and the slits were fixed at 4 nm.

Cell culture

The VA–ES-BJ cells, which are characterised by a keratinocyte-like phenotype, were obtained from Cabri (Germany) and were cultured at 2×10^5 cell/mL in Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), 10% foetal calf serum (FCS), 2 mM glutamine, 50 IU/mL penicillin and 50 mg/mL streptomycin and 0.1 mM non-essential amino acids. The culture medium was renewed every 2 days.

Cell viability

This test was performed to determine the working concentration. Cell proliferation was determined using 2,3-bis [2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT). After 20 h of incubation, the cells were washed with 50 µL of a DMEM solution, without phenol red, containing 0.5 mg/mL of XTT and 40 µL/mL of coenzyme Q. After 3 h of incubation, 100 µL of a 10% sodium dodecyl sulphate solution was added. The reaction was then analysed with a Polarstar Galaxy spectrophotometer (BMG Labtech, France) at a wavelength of 450 nm.

Cell internalisation

Cells were treated with Nile red loaded gelled oil nanoparticles in the cell culture medium without FCS. The analyses were then performed using Cyan ADP flow cytometry (Beckman Coulter, USA) and Leica SP2 AOTF confocal laser scanning microscopy (Leica, Germany). For the confocal laser scanning microscopy analyses, cells were allowed to adhere to Lab-Teck slides (Nunc, Germany) for 30 min at 37°C and fixed with 4% paraformaldehyde for 15 min at room temperature. After two washes, the cells were incubated with 0.5 M NH_4Cl for 15 min at room temperature and finally washed twice with PBS buffer. Slides were mounted according to the manufacturer's specifications with the Vectashield mounting medium (Cliniscience, France).

Results and discussion

Surface charge and electrostatic stabilisation

Initially, a rapid screening of some formulations was performed in order to find the best interaction between the particle and its stabilising agent (Table 1). The formulation without LMOG and/or stabilising agent was not stable. We also tried to stabilise the particles with a biocompatible uncharged polymer, Pluronic F127, which is a triblock copolymer, polyethylene oxide-polypropylene oxide-polyethylene oxide (PEO-PPO-PEO). Surprisingly, the stability of the emulsion (without HSA) or the dispersion of gelled particles was identical in terms of duration (20 days), indicating the same interaction of Pluronic F127 with the oil droplet or the gelled particle. Nevertheless, the gelled oil nanoparticles stabilised by the Pluronic F127 were also characterised by a significant negative surface charge related to the ionised carboxylic functions of the HSA fibres located at the surface of the particle. This observation was very instructive and therefore PEI, which

Table 1. Screening by DLS and zeta potential evaluation of the conditions to obtain long-term stabilised gelled nanoparticles of soya bean oil (5 wt%) at 25°C.

LMOG (wt%)	Stabilising agent (wt%)	Stability (days)	Mean hydrodynamic diameter (nm) (Polydispersity index)*	Zeta potential (mV)
–	–	<1	–	–
HSA (6)	–	<1	–	–
–	Pluronic F127 (10)	20	226 ± 20 (0.12)	−6 ± 3
HSA (6)	Pluronic F127 (10)	20	188 ± 10 (0.18)	−23 ± 6
Stearic acid (6)	PEI (1.25)	<1	–	–
–	PEI (1.25)	<1	–	–
HSA (6)	PEI (1.25)	>100	290 ± 3 (0.14)	+42 ± 3
HSA (12)	PEI (1.25)	>100	239 ± 3 (0.13)	+49 ± 3

Notes: Mean ± SD, $n = 3$.
*By DLS.

has an acceptable cytocompatibility and is widely employed, particularly for DNA transfection (Boussif et al., 1996) and cell permeabilisation (Ferrari et al., 1997), was envisaged to favour the electrostatic interactions. The results were drastically improved, with more than 100 days of stability with mean hydrodynamic diameters below 300 nm and narrowly distributed populations whatever the HSA concentration considered (6 or 12 wt%). By transmission electron microscopy or TEM (Figure 2), spherical particles were observed, surrounded by a PEI corona negatively stained with sodium phosphotungstate. The zeta potential measured as more than +40 mV confirmed the PEI corona and the electrostatic stabilisation. The importance of the negatively charged fibres of HSA at the surface of the gelled particle in the stabilisation process was also confirmed by the results obtained using stearic acid instead of 12-HSA (Table 1). Stearic acid is not an LMOG, and did not allow gelation. Stearic acid was soluble in the oil phase and did not change the surface charge of the droplet, leading to a lack of electrostatic stabilisation with the PEI. Therefore, in accordance with these results, the study was pursued using PEI as an efficient stabilising agent.

Formulation optimisation: Influence of the ingredients and their weight percentages

The influence of the ingredients on the size, the zeta potential and the stability of the gelled oil nanoparticle dispersions was first studied in terms of oil type with a fixed weight percentage of HSA and PEI. At least to optimise the formulation, we tried to find the more suited weight percentage of oil *versus* HSA and PEI in terms of stability and size. Moreover, in each case, a formulation without the LMOG was made and its stability was less than 24 h.

First, the gelled oil particles were formulated with two different non-toxic oils: soya bean oil or capric/caprylic triglycerides fixing HSA at 6 wt% and PEI at 1.25 wt%.

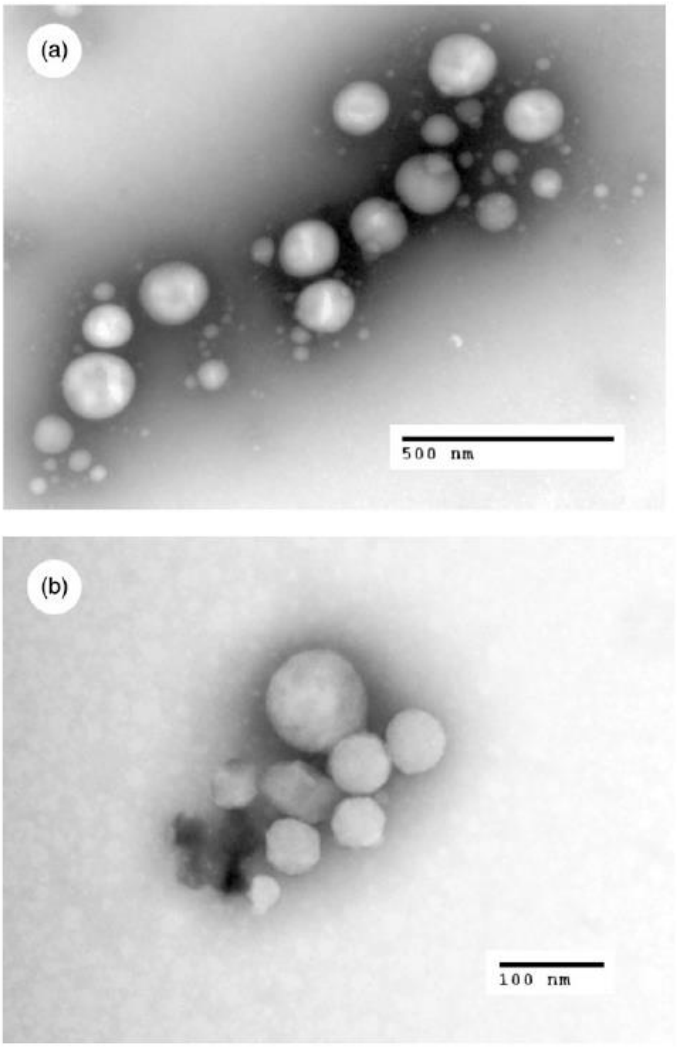


Figure 2. TEM of gelled soya bean oil nanoparticles formulated with 6 wt% (A) or 12 wt% (B) HSA and 1.25 wt% of PEI.

The particles obtained with soya bean oil were characterised by a larger mean hydrodynamic diameter than with capric/caprylic triglycerides (290 ± 3 nm *vs.* 271 ± 3 nm) and a lower zeta potential (+42 ± 3 mV *vs.*

+52 ± 3 mV). Soybean oil (60 cP) is more viscous than capric/caprylic triglycerides (24 cP) and, for the same shearing force, the resulting droplets and particles were smaller for the less viscous oil. Furthermore, with a viscous oil, the gelled particles should be more rigid, limiting the HSA fibres' mobility and probably their density at the surface of the objects. As a result, PEI interacted with less negatively charged particles, explaining the differences in zeta potential. To conclude on this part, the particles prepared with soybean oil were chosen as this oil is authorised by the Regulatory Authorities as an excipient in numerous systemic medicines.

Then, the oil concentration was varied (from 2 to 10 wt%) to optimise the formulation, fixing the PEI at 1.25 wt% and HSA at 6 wt%. For 10 wt% oil, the fixed PEI concentration at 1.25 wt% was not sufficient to stabilise the particles. Increasing the PEI concentration to 2.5 wt% led to a stable dispersion of gelled nanoparticles with a mean hydrodynamic diameter of 262 ± 3 nm, a polydispersity index of 0.14 and a zeta potential of +36 ± 3 mV. Between 2 and 5 wt% of oil, we observed very similar mean hydrodynamic diameters (299 ± 3 nm at 2 wt% and 290 ± 3 nm at 5 wt%) and a decrease of the zeta potential (+54 ± 3 mV at 2 wt% *vs.* + 42 ± 3 mV at 5 wt%). At 5 wt% of oil, there was an increase in the particle population, leading to an increase of the total specific area for the same amount of PEI. Consequently, there was less PEI per particle, decreasing the zeta potential value. In accordance with these results, the value of 5 wt% oil was fixed for the subsequent studies.

The concentration of HSA was modified from 6 to 15 wt%, fixing the PEI at 1.25 wt% and oil at 5 wt% (Figure 3). In the case of 15 wt% of HSA, the PEI was inefficient in terms of stabilisation, leading to a totally gelled sample without individualised particles. For an increase in HSA concentration, from 6 to 12 wt%, the mean hydrodynamic diameters were reduced and the zeta potentials were increased. At higher percentages of HSA, the negative charge density at the particle surface increased, leading to the better adsorption of the PEI (increase of the zeta potential values), and favouring close contact between the PEI and the HSA fibres. This process reduced the polymer corona and consequently the hydrodynamic diameters of the particles. Nevertheless, as the HSA concentration increased, the organogel network became much denser and, for a branched polymer like PEI, the interaction with HSA was increasingly difficult since PEI could not closely interact with a denser fibre surface. This was shown by the destabilisation of the sample at 15 wt% of HSA. In accordance with these results, HSA at 6 and 12 wt% was studied further.

The PEI concentration was varied between 0.25 and 2.5 wt%, fixing the oil concentration at 5 wt% and HSA at 6 wt% (Figure 3). From 0.25 to 0.625 wt%, no stabilisation

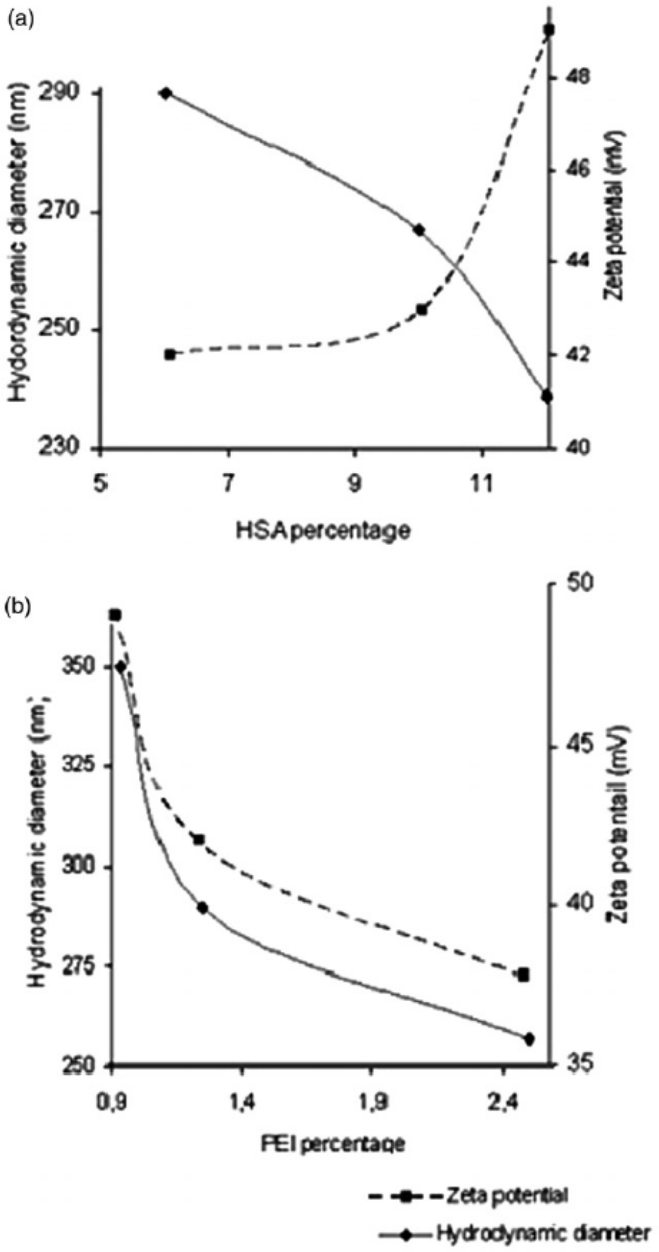


Figure 3. Variation of HSA and PEI percentages: (A) HSA percentages (with fixed oil percentage at 5 wt% and PEI percentage at 1.25 wt%); (B) PEI percentages (with fixed HSA at 6 wt% and oil percentage at 5 wt%). By DLS and zeta potential measurements at 25°C (diameter ±10 nm and zeta potential ±3 mV, mean ± SD, $n = 3$).

of the particles was observed, in accordance with the fact that PEI is not really an emulsifying agent able to stabilise the oil droplets, especially at low PEI concentration. At 0.94 wt% of PEI, the sample was stable for only 8 days with a mean hydrodynamic diameter of 350 nm, a polydispersity index of 0.22 and a zeta potential of +49 mV. Adding more PEI (above 1.25 wt%) led to a decrease in the particle sizes and zeta potentials, suggesting that the polymer was more and more complexed to HSA fibres. Finally, the concentration of 1.25 wt% was selected

Table 2. Influence of the cooling on the dispersions of gelled soya bean oil nanoparticles based on 5 wt% of soya bean oil, 6 wt% of HSA and 1.25 wt% of PEI.

Cooling*	Mean hydrodynamic diameter (nm)*	Polydispersity index	Zeta potential (mV)
At room temperature	290 ± 3	0.14	+42 ± 3
With cold water (5°C)	269 ± 19	0.20	+43 ± 4

Notes: Mean ± SD, $n = 3$.
*By DLS.

because it was the smallest amount of PEI that led to a highly stable dispersion of gelled oil nanoparticles (more than 100 days).

Formulation optimisation: influence of some external parameters

The influence of the cooling was studied first (Table 2) as it is known to modify the fibrous network organisation (Li et al., 2009). The emulsions were slowly cooled at room temperature or hardened using cold water (5°C). A rapid cooling diminished the mean hydrodynamic diameter of the particles slightly. As already demonstrated with HSA and an oil like benzyl benzoate, rapid cooling could lead to a loose network with short fibres (Li et al., 2009). If the fibrous scaffold is built with short fibres, their interactions lead to a contraction of the gelled particle, reducing the size without affecting the zeta potential value.

Moreover, in order to assess the concept of gelled oil nanoparticles as drug delivery systems, the influence of the pH and ionic strength on the dispersions was followed by DLS and zeta potential measurement (Table 3). After formation of the gelled oil particles, the dispersion was adjusted to various pH values using HCl. The acidification led to a decrease in the hydrodynamic diameters of the particles with very monodispersed populations (polydispersity index <0.1) and characterised by a high positive zeta potential (>+60 mV). This increase in zeta potential was explained by the protonation of the PEI. Furthermore, the acidification reduced the carboxylate form (negative charge) of the HSA fibres and, consequently, their interaction with the PEI, leading to a reduced corona and a lower hydrodynamic diameter.

In another experiment, the ionic strength of the samples was modified to gradually reach physiological strength (0.15 M). At 0.15 M and above this value, we observed total gelation of the sample, which could be explained by high charge screening due to the salt effect, avoiding the electrostatic repulsion between the gelled particles.

In another test, one drop of the dispersion was diluted in 5 mL of phosphate buffer solution (pH 7.4, ionic strength 0.15 M). The sample remained stable for more than 3 months and this high degree of stability in physiological conditions may be due to reinforced electrostatic interactions between the PEI and HSA fibres at this pH. This result is of great importance for the future application of these dispersions as drug delivery systems.

Hydrophobic reservoir

Nile red, a fluorophore, was used as the hydrophobic model drug and loaded into particles according to two preparation protocols: the molecule was either loaded in the oil phase before the gelation step (protocol 1) or after the gelled nanoparticle formation (protocol 2). The mean hydrodynamic diameters, the surface charge (Table 4) and the fluorescent spectra were measured. The loading with Nile red did not significantly modify the mean hydrodynamic diameters or the zeta potential of the particles. As far as the fluorescent characterisation was concerned and since Nile red is a solvatochromic probe (Jores et al., 2005), a spectrum was recorded using an excitation wavelength set at 555 nm. The maximum emitted wavelength was found at 600 nm, which proved that Nile red was incorporated into a hydrophobic environment (Jores et al., 2005), in our case into the gelled oil nanoparticles. Moreover, the emitted intensity was higher when Nile red was loaded before the gelation step rather than after the nanoparticle formation (4.5×10^6 *vs.* 2.0×10^6 arbitrary units), indicating a loading capacity of around 45%. This result demonstrates that a hydrophobic molecule can be loaded after nanoparticle formation, avoiding heating or ultrasound treatment, although the loading is lower than with direct dissolution in the oil phase before gelation. This observation is of particular interest in the case of sensitive drugs, e.g. proteins and peptides.

Cell testing

Biological experiments were performed on a VA-ES-BJ cell line, which is characterised by a keratinocyte-like phenotype. Keratinocytes were chosen as common non-phagocytic cells, to provide a proof of concept concerning the internalisation by cells of such gelled oil nanoparticles. First, the cell death was evaluated by performing a XTT test with gelled soybean oil particles prepared with 6 or 12 wt% of HSA, from concentrations of 0 to 125 µg/mL of PEI, and PEI alone as a control (Table 5). As presented in Table 5, the HSA amount had no influence on the cell death. Moreover, the cell death seemed to be induced by the PEI, mainly by its positive charge at physiological pH,

Table 3. Influence of pH and ionic strength on the dispersions of gelled soya bean oil nanoparticles based on 5 wt% of oil, 6 wt% of HSA and 1.25 wt% of PEI at 25°C.

pH	NaCl concentration (M)	Mean hydrodynamic diameter (nm)*	Polydispersity index	Zeta potential (mV)
Unchanged: 10.6	0	290 ± 3	0.14	+42 ± 3
8.3	0	274 ± 10	0.09	+64 ± 5
4.7	0	277 ± 9	0.09	+65 ± 5
Unchanged	0.05	273 ± 9	0.20	+40 ± 3
Unchanged	0.1	285 ± 6	0.19	+42 ± 3
Unchanged	≥0.15	Gelled sample		
7.4 (phosphate buffer solution)	0.15 (phosphate buffer solution)	207 ± 3	0.14	–

Notes: Mean ± SD, $n = 3$.
*By DLS.

Table 4. Mean hydrodynamic diameters and zeta potential values of Nile red loaded gelled oil nanoparticles at 25°C.

HSA (wt%)	Blank particles	Nile red loaded before the gelation step	Nile red loaded after nanoparticle formation
6	290 ± 3 nm*	313 ± 13 nm*	273 ± 4 nm*
	+42 ± 3 mV†	+42 ± 4 mV†	+42 ± 5 mV†
12	239 ± 3 nm*	224 ± 8 nm*	–
	+49 ± 3 mV†	+43 ± 3 mV†	–

Notes: Mean ± SD, $n = 3$.
*Mean hydrodynamic diameter (By DLS).
†Zeta potential.

Table 5. Cytotoxicity results for gelled oil nanoparticles formulated with 6 or 12 wt% HSA and PEI evaluated by XTT test.

PEI concentration (μg/mL)	1.25	6.25	12.5	125
6% HSA	0	2% ± 4	39% ± 4	95% ± 1
12% HSA	0	1% ± 5	32% ± 8	96% ± 1
Unformulated PEI	0	–	–	95% ± 1

Note: Mean ± SD, $n = 8$.

since the same behaviour was observed for the protected particles and the PEI alone. The measured cell death was fully in accordance with previously published results on other branched high-molecular-mass PEI (25 kDa; Wen et al., 2009). For the following experiments, the working concentration of particles was selected at 6.25 μg/mL of PEI (corresponding to a dilution of the formulation with 1.25 wt% PEI), which did not induce any cell death.

The study was followed by the interaction of gelled soya bean oil nanoparticles with cells using Nile red (protocol 1) as a fluorescent probe (Figure 4). The flow cytometry study showed cells becoming more granular, as indicated by an increase in the side scattering (data not shown), suggesting the internalisation of the particles. The kinetics followed revealed a very rapid interaction between gelled oil nanoparticles and the cell membranes, indicated by marked fluorescence of Nile red after only 10 min of incubation. After 10 min, the cells were fixed on slides to be examined with confocal laser scanning microscopy and results confirmed the previous observations: an intense staining was visualised, especially around the cytoplasmic membanes. This can be explained by the high positive charge carried by the particles, favouring an interaction with the negatively charged membranes. With prolonged incubation, the fluorescence became greater (comparing 10 min and 3 h by flow cytometry). As observed by confocal laser microscopy, the staining was mainly located inside the cytoplasm, and more or less individualised into vesicles. PEI is usually used in gene delivery systems and, due to its "proton sponge effect", this polycation had the ability to escape from the endosomes created during the cell internalisation (Akinc et al., 2005; Wen et al., 2009). This property could explain the pattern observed by confocal laser scanning microscopy after 3 h of incubation: individualised and also diffuse staining of the fluorescent probe. Nevertheless, the internalisation mechanism of such gelled particles should be more precisely studied in the future.

To conclude on this part, the gelled oil nanoparticles entrapping a hydrophobic model molecule can reach the cytoplasm rapidly without inducing any cell death.

Discussion

The present nanoparticles are semi-solid systems based on organogels, which are structured around a 3-D network immobilising an oil (Vintiloiu and Leroux, 2008). From a nanoscale point of view, gelled oil nanoparticles are therefore semi-solid but, from a molecular point of view, there is still liquid oil entrapped between LMOG fibrils. This study demonstrates that such nanoparticles could be

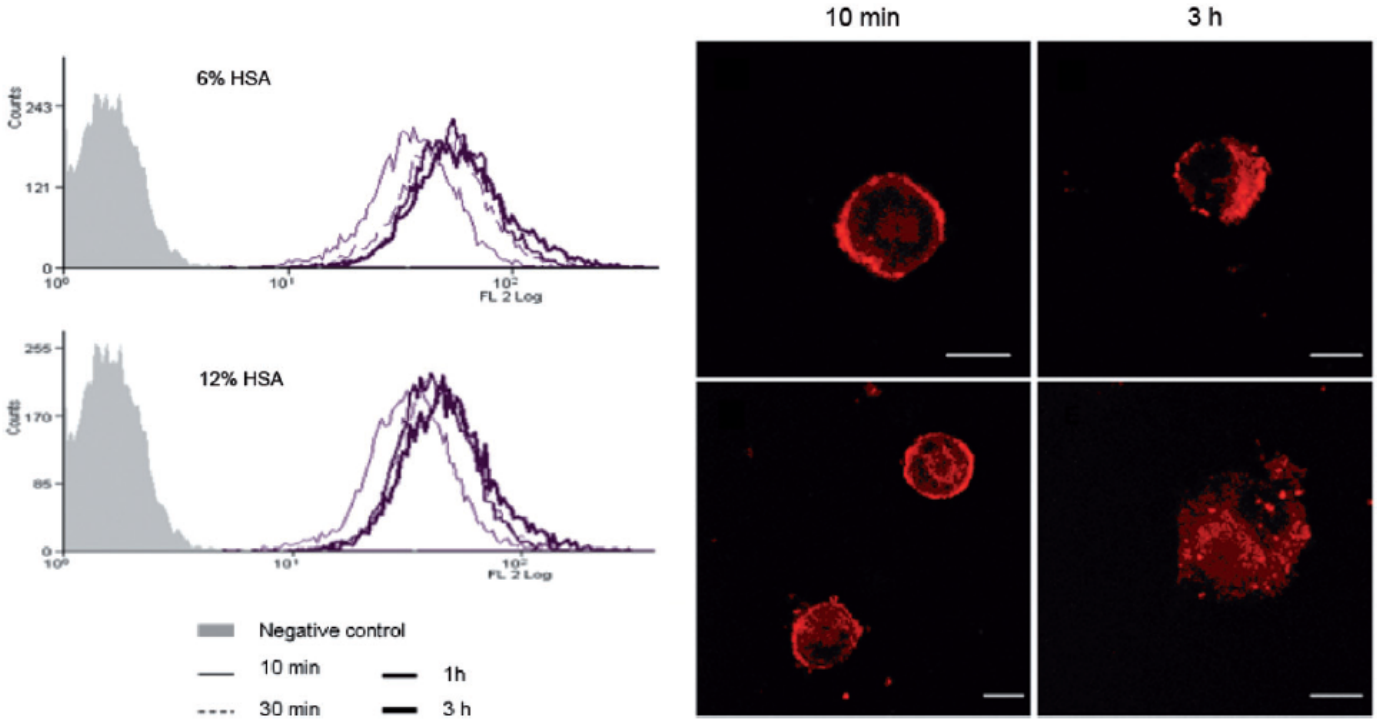


Figure 4. Flow cytometry and confocal laser scanning microscopy of VA-ES-BJ cells treated with of Nile red-loaded (protocol 1) nanoparticles formulated with either 6 or 12 wt% HSA. (Scale bar is 10 μm).

developed as hydrophobic drug delivery system. The water dispersion of gelled oil nanoparticles is formed using a simple and environmental friendly method without the use of any organic solvents. Dispersions of gelled oil nanoparticles have shown very good stability (more than 100 days). In our formulation, the high stability was brought by the oil gelation as previously described (Kirilov et al., 2008) and also by the PEI anchored through electrostatic interactions with the HSA fibres present at the surface of the gelled particles. Moreover, the electrostatic and steric stabilisation provided by the PEI corona also avoided coalescence between the particles. This branched, positively charged polymer leads to privileged interactions with cells in a biocompatible way. It gives a positive charge to the gelled particles, favouring internalisation and targeting the cytoplasm for a controlled intracellular release of the drug.

As future delivery systems, gelled oil nanoparticles have to entrap a drug and protect it up to the targeted site. In this article, only the loading of a hydrophobic model drug has been demonstrated but the encapsulation of a real hydrophobic drug has to be considered later. The nanoparticles presented in this preliminary study have no polyethyleneglycol surrounding the charged corona so they can be only used for topical treatments, as in the case of early-stage skin cancers. However, the formulation could be modified for intravenous applications using block copolymers as PEI-polyethylene glycol instead of PEI to ensure a stealth effect. In this way, hydrophobic drugs such as anticancer molecules could be delivered. Nonetheless, sensitive drug molecules can be entrapped after the gelled particle formation, which is of particular interest for peptides or proteins.

Conclusions

We have described an original family of colloidal nanoparticle dispersions of gelled soybean oil based on an LMOG approved for cosmetic and pharmaceutical applications. Highly stable dispersions were obtained using a biocompatible polymer such as PEI, which was used as a stabilising agent. The TEM observations of stable dispersions showed spherical particles with a mean diameter of ~260 nm in accordance with the DLS measurements. We investigated the influence of the ingredients (oil, organic gelator and stabilising agent) and their weight percentages on the nanoparticle dispersion stability. It was demonstrated that stable dispersions could be obtained at different pH levels and in saline media, thanks to the strong electrostatic interactions between the PEI and the HSA fibres present at the surface of the gelled particles. According to the biological test results, the gelled nanoparticle formulation showed satisfactory stability and was able to entrap a hydrophobic model molecule. The gelled oil nanoparticles were found to be non-toxic for the tested cells and were able to interact rapidly with the cells, allowing nanoparticle internalisation. All these results demonstrate the interest of these gelled nanoparticles and their

dispersions for application as hydrophobic drug delivery system. In a future study, we envisage to employ the described particles to transport and release photoactive hydrophobic drugs to treat skin cancers by photodynamic therapy.

Acknowledgements

The authors gratefully thank the Toulouse RIO Imaging platform for providing the confocal laser scanning microscope imaging at our disposal, and Nacer Benmeradi (IBCG, UPS, Toulouse, France) for the TEM studies.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

Abdallah DJ, Weiss RG. Organogels and low molecular mass organic gelators. Adv Mater, 2000;12 (17):1237–47.

Aggarwal P, Hall JB, McLeland CB, Dobrovolskaia MA, McNeil SE. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. Adv Drug Deliv Rev, 2009;61 (6):428–37.

Akinc A, Thomas M, Klibanov AM, Langer R. Exploring polyethylenimine-mediated DNA transfection and the proton sponge hypothesis. J Gene Med, 2005;7 (5):657–63.

Almeida AJ, Souto E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. Adv Drug Deliv Rev, 2007;59 (6):478–90.

Attama AA, Müller-Goymann CC. Effect of beewax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity. Colloid Surf A, 2008;315:189–95.

Attama AA, Reichl S, Müller-Goymann CC. Diclofenac sodium delivery to the eye: *In vitro* evaluation of novel solid lipid nanoparticle formulation using human cornea construct. Int J Pharm, 2008;355:307–13.

Boussif O, Zanta MA, Behr JP. Optimized galenics improve in vitro gene transfer with cationic molecules up to 1000-fold. Gene Ther, 1996;3:1074–80.

Brioschi A, Zenga F, Zara GP, Gasco MR, Ducati A, Mauro A. Solid lipid nanoparticles: Could they help to improve the efficacy of pharmacologic treatments for brain tumors?. Neurol Res, 2007;29:324–30.

Bunjes H, Siekmann B, 2007. Manufacture, characterization and application of solid lipid nanoparticles as drug delivery system. In: Deleers M, Pathak Y, Thassu D, editors. Nanoparticulate Drug Delivery Systems. New York: Informa Healthcare. pp 213–68.

Cavalli R, Gasco MR, Chetoni P, Burgalassi S, Saettone MF. Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. Int J Pharm, 2002;238:241–5.

Chattopadhyay P, Shekunov BY, Yim D, Cipolla D, Boyd B, Farr S. Production of solid lipid nanoparticle suspensions using supercritical fluid extraction of emulsions (SFEE) for pulmonary delivery using the AERx system. Adv Drug Deliv Rev, 2007;6:444–53.

Ferrari S, Moro E, Pettenazzo A, Behr JP, Zacchello F, Scarpa M. ExGen 500 is an efficient vector for gene delivery to lung epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. Gene Ther, 1997;4 (10):1100–6.

George M, Weiss RG. Molecular organogels. Soft matter comprised of low-molecular-mass organic gelators and organic liquids. Acc Chem Res, 2006;39:489–97.

Gill PS, Espina BM, Muggia F, Cabriales S, Tulpule A, Esplin JA, Liebman HA, Forssen E, Ross ME, Levine AM. Phase I/II clinical and pharmacokinetic evaluation of liposomal daunorubicin. J Clin Oncol, 1995;13:996–1003.

Hamidi M, Azadi A, Rafiei P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. Adv Drug Deliv Rev, 2009;60 (15):1638–49.

Huang X, Weiss R. Molecular organogels of the sodium salt of (R)-12-hydroxystearic acid and their templated syntheses of inorganic oxides. Tetrahedron, 2007;63:7375–81.

Jenning V, Gohla SH. Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN®). J Microenviron, 2001;18:149–58.

Jeong SY, Kwon IC, Chung H. 2000. Lipid emulsion and solid lipid nanoparticle as a gene or drug carrier. PCT Int. Appl, WO 2000006120.

Jores K, Haberland A, Wartewig S, Mäder K, Mehnert W. Solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded SLN studied by spectrofluorom-etry and Raman spectroscopy. Pharm Res, 2005;22:1887–95.

Joshi MD, Müller RH. Lipid nanoparticles for parenteral delivery of actives. Eur J Pharm Biopharm, 2009;71 (2):161–72.

Kirilov P, Franceschi-Messant S, Perez E, Rico-Lattes I, Bordat P. 2009a. WO Patent PCT/EP2007/060126.

Kirilov P, Gauffre F, Franceschi-Messant S, Perez E, Rico-Lattes I. Rheological characterization of a new type of colloidal dispersion based on nanoparticles of gelled oil. J Phys Chem B, 2009b;113:11101–8.

Kirilov P, Lukyanova L, Franceschi-Messant S, Perier V, Perez E, Rico-Lattes I. A new type of colloidal dispersions based on nanoparticles of gelled oil. Colloids Surf A: Physicochem Eng Asp, 2008;328:1–7.

Kumar R, Katare Prakash O. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: A review. AAPS PharmSciTech, 2005;6:E298–E310.

Lasic DD. Doxorubicin in sterically stabilized liposomes. Nature, 1996;380:561–2.

Li JL, Wang RY, Liu XY, Pan HH. Nanoengineering of a biocompatible organogel by thermal processing. J Phys Chem B, 2009;113 (15):5011–5.

Lim SJ, Lee MK, Kim CK. Altered chemical and biological activities of all-trans retinoic acid incorporated in solid lipid nanoparticle powders. J Control Release, 2004;100:53–61.

Liu J, Gong T, Fu H, Wang C, Wang X, Chen Q, Zhang Q, He Q, Zhang Z. Solid lipid nanoparticles for pulmonary delivery of insulin. Int J Pharm, 2008;356:333–44.

Lu L, Weiss RG. Cholestanyl substituted quaternary ammonium salts as gelators of organic liquids. Langmuir, 1995;11:3630–2.

Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. Adv Drug Deliv Rev, 2001;47:165–96.

Mukkamala R, Weiss RG. Physical gelation of organic fluids by anthraquinone – steroid-based molecules. Structural features influencing the properties of gels. Langmuir, 1996;12:1474–82.

Müller RH, 1991. Colloidal carriers for controlled drug delivery and targeting – modification, characterization and in vivo distribution. Boca Raton: CRC Press.

Müller RH, Olbrich C. 2000. Drug-delivery vehicle for the controlled administration of an active agent, produced from lipid matrix-medicament conjugates. PCT Int. Appl. WO 2000067800.

Müller RH, Petersen RD, Hommoss A, Pardeike J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. Adv Drug Deliv Rev, 2007;59:522–30.

Murdan S, Andrysek T, Son D. Novel gels and their dispersions – oral drug delivery systems for ciclosporin. Int J Pharm, 2005;300:113–24.

Murdan S, vanden Bergh B, Gregoriadis G, Florence AT. Water-in-sorbitan monostearate organogels (water-in-oil gels). J Pharm Sci, 1999;88:615–9.

Pardeike J, Hommoss A, Müller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. Int J Pharm, 2009;366:170–84.

Pisal S, Shelke V, Mahadik K, Kadam S. Effect of organogel components on *in vitro* nasal delivery of propranolol hydrochloride. AAPS PharmSciTech, 2004;5:E63.

Priano L, Esposti D, Esposti R, Castagna G, De Medici C, Fraschini F, Gasco MR, Mauro A. Solid lipid nanoparticles incorporating melatonin as newmodel for sustained oral and transdermal delivery systems. J Nanosci Nanotechnol, 2007;7:3596–601.

Rogers MA, Wright AJ, Marangoni AG. Crystalline stability of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxystearic acid in edible oils. Food Res Int, 2008;41:1026–34.

Sarmento B, Martins S, Ferreira D, Souto EB. Oral insulin delivery by means of solid lipid nanoparticles. Int J Nanomed, 2007;2:743–9.

Schäfer-Korting M, Mehnert W, Korting HC. Lipid nanoparticles for improved topical application of drugs for skin diseases. Adv Drug Deliv Rev, 2007;59:427–43.

Serpe L, Catalano MG, Cavalli R, Ugazio E, Bosco O, Canaparo R, Muntoni E, Frairia R, Gasco MR, Eandi M, Zara GP. Cytotoxicity of anticancer drugs incorporated in solid lipid nanoparticles on HT-29 colorectal cancer cell line. Eur J Pharm Biopharm, 2004; 58:673–80.

Souto EB, Almeida AJ, Müller RH. Lipid nanoparticles (SLN®, NLC®) for cutaneous drug delivery: Structure, protection and skin effects. J Biomed Nanotechnol, 2007;3:317–31.

Terech P, Weiss RG. Low molecular mass gelators of organic liquids and the properties of their gels. Chem Rev, 1997;97 (8):3133–60.

Utreja S, Khopade AJ, Jain NK. Lipoprotein-mimicking biovectorized systems for methotrexate delivery. Pharm Acta Helv, 1999;73:275–9.

Videira MA, Botelho MF, Santos AC, Gouveia LF, Pedroso De Lima JJ, Almeida AJ. Lymphatic uptake of pulmonary delivered radiolabelled solid lipid nanoparticles. J Drug Target, 2002;8:607–13.

Vintiloiu A, Leroux JC. Organogels and their use in drug delivery – a review. J Control Release, 2008;125 (3):179–92.

Weiss RG, Terech P, 2006. Molecular Gels. Dordrecht. The Netherlands: Springer.

Wen Y, Pan S, Luo X, Zhang X, Zhang W, Feng M. A biodegradable low molecular weight polyethylenimine derivative as low toxicity and efficient gene vector. Bioconjug Chem, 2009;20 (2):322–32.

Williams AC, Barry BW. Penetration enhancers. Adv Drug Deliv Rev, 2004;56:603–18.

Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. Adv Drug Deliv Rev, 2004;56:1257–72.

Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Li Y, Wu XY. Chemotherapy with anti-cancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev, 2007;59 (6):491–504.

Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Xue HY, Babakhanian K, Wu XY. A mechanistic study of enhanced doxorubicin uptake and retention in multidrug resistant breast cancer cells using a polymer-lipid hybrid nanoparticle (PLN) system. J Pharmacol Exp Ther, 2006a;317:1372–81.

Wong HL, Rauth AM, Bendayan R, Manias JL, Ramaswamy M, Liu Z, Erhan SZ, Wu XY. A new polymer-lipid hydrid nanoparticle, system increases cytotoxicity of doxorubicin against multidrug resistant, human breast cancer cells. Pharm Res, 2006b;23:1574–85.

1. Introduction

The renin–angiotensin system (RAS) plays a critical role in the control of cardiovascular and renal functions (Stroth and Unger, 1999). Angiotensin II (ANG II) as the main active peptide of the RAS acts at two G-protein coupled receptors (GPCR), ANG II type 1 (AT_1) and ANG II type 2 (AT_2) receptors; which have been defined on the basis of their differential pharmacological and biochemical properties (Inagami et al., 1994; Matsubara and Inada, 1998). At present time, it has been established beyond doubt that ANG II activation of AT_1 receptors induces vascular smooth muscle contraction, which leads to increased blood pressure. On the other hand, during the last years, evidence has accumulated that documents a physiological role for AT_2 receptors in the promotion of vasodilation in resistance (Baranov and Armstead, 2005; Batenburg et al., 2004; Hannan et al., 2003; Widdop et al., 2002) and capacitance vessels (Arun et al., 2004; Fukada et al., 2005; Tsutsumi et al., 1999). Since ANG II binds with similar affinity to AT_1 and AT_2 receptors (Carey and Siragy, 2003; Nouet and Nahmias, 2000) the corollary is that the vasoconstriction mediated by AT_1 receptors activation may be physiologically opposed by AT_2 receptors-induced vasodilation.

Considering in particular large-conductance vessels, current information suggests that AT_1 and AT_2 receptors may be functionally expressed in rat aorta. Lately, it has been shown that AT_2 receptors located in smooth muscle of normal rat aortic rings may mediate vasorelaxation via stimulation of the NO/cGMP pathway, vasodilator cyclooxygenase products, and voltage-dependent and Ca^{2+}-activated large-conductance K^+ channels (Fukada et al., 2005). Also, *another group* of researchers (Arun et al., 2004) reported that ANG II produced a concentration-dependent relaxation in endothelium-intact and endothelium-denuded rat thoracic aorta in the presence, but not in the absence, of AT_1 selective antagonists (losartan or valsartan). In addition, PD 123319 blocked the relaxation response to Ang II, suggesting that the response is mediated through AT_2 receptors (Arun et al., 2004). Importantly, there appears to be an up-regulation of AT_2 receptors in rat thoracic aorta under conditions associated with vascular tissue damage, such as diabetes and hypertension (Arun et al., 2004; Cosentino et al., 2005). On the other hand, it is well known that the contractile responses induced by ANG II in rat aorta manifest pronounced desensitization (Kuttan and Sim, 1993; Li et al., 1995; Sim and Kuttan, 1992). Several studies have shown that desensitization

(tachyphylaxis) to ANG II is associated with changes in both the affinity of the ligand for the AT_1 receptors and the coupling efficiency of the receptor system (Kuttan and Sim, 1993; Li et al., 1995; Sim and Kuttan, 1992). Desensitization to agonists, in particular to G-protein coupled receptor (GPCR)-agonists, is an extensively studied cellular process (Kelly et al., 2008; Kohout and Lefkowitz, 2003). Desensitization to GPCR-agonists can be homologous or heterologous in nature; homologous desensitization refers to the loss of response solely to agonists that act at a particular GPCR type, whereas heterologous desensitization refers to a broader effect involving the simultaneous loss of agonist responsiveness at multiple GPCR types (Kelly et al., 2008). Accordingly, vascular tissues precontracted with a GPCR-agonist may possibly show heterologous desensitization to another GPCR-agonist tested during the precontractile plateau.

To our knowledge, it has not been adequately studied if the relaxing response obtained with ANG II in precontracted normal rat aorta is the result of activating AT_2 receptors, exclusively (Arun et al., 2004; Fukada et al., 2005); or whether heterologous desensitization is an event responsible, at least in part, of the relaxant process (i.e., the vasorelaxation induced by ANG II might also reflect rapid heterologous desensitization of the GPCR that mediates the precontractile tone). Hence, the purpose of the present study was to investigate the relative participation of AT_2 receptors and heterologous receptor desensitization in the relaxation produced by ANG II in normal rat aorta.

2. Materials and methods

The experimental protocol was approved by the Animal Care and Use Committee of our Institution, and complied with the National Health and Medical Research Council of México guidelines. Male Wistar rats (250–300 g body weight; 10–12 weeks old) were housed under controlled conditions (22 ± 2 °C, 60% humidity and artificial light from 06:00 to 18:00 h). Normal chow and tap water were given ad libitum.

2.1. Tissue preparation and measurement of tension

Rats were anesthetized with pentobarbital sodium (50 mg/Kg, i.p.) and exsanguinated. The thoracic aortae were cleaned of fat and connective tissue, and cut into ring segments (4–5 mm in length). In some preparations, the endothelium was damaged by gently abrading the intimal surface of aortic rings with the tip of small forceps. Aortic rings were mounted in 10-ml tissue baths filled with physiological saline solution containing (mM): NaCl 118, KCl 4.7, KH_2PO_4 1.2, $MgSO_4$ 1.2, $CaCl_2$ 2.5, $NaHCO_3$ 25, EDTA 0.03, and dextrose 11.7. The medium was maintained at 37 °C, pH 7.4, and gassed continuously with 95% O_2 and 5% CO_2. Each tissue was placed under an initial resting tension of 2 g weight and equilibrated for 60 min prior to the execution of experimental protocols. Contractions were measured isometrically and recorded on a computer with the AcqKnowledge software (MP100WSW, Biopac Systems, Inc.; Santa Barbara, CA, USA). Tissues were primed by the addition of 1×10^{-6} M phenylephrine to the organ bath. After a steady-state contraction was achieved, bath contents were replaced with drug-free buffer several times. Tissues were then allowed to reach baseline tension and the priming procedure was repeated twice more before the execution of experimental protocols. Functional endothelium was checked by the presence of at least 80% relaxation in response to acetylcholine (1×10^{-6} M) after pre-constricting the tissues with phenylephrine (1×10^{-6} M). Otherwise, successful endothelial denudation was confirmed by the presence of small (lower than 10%) relaxations, or complete absence of relaxations, to acetylcholine.

2.2. Effects of ANG II on endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings

After equilibration, cumulative concentration–response curves for ANG II (1×10^{-10} to 1×10^{-5} M) were constructed in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic ring preparations. Next, the rings were rinsed four times and re-equilibrated for 1 h. A second series of concentration–response curves for ANG II was then built. Cumulative concentration–response curves to ANG II were also constructed in endothelium-intact aortic rings after 30 min of incubation with the NO synthase inhibitor, N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 100 μM).

In separate experiments, the temporal course of a single low or high concentration of ANG II (either 1×10^{-8} or 1×10^{-5} M) was tested in endothelium-intact and endothelium-denuded tissues. Afterwards, the rings were rinsed four times and re-equilibrated for 1 h, and the same concentration of ANG II was administered again.

2.3. Cumulative concentration–response curves to ANG II under conditions of active tone induced by the α_1-adrenergic agonist phenylephrine

After the equilibration period, endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings were constricted with phenylephrine (1×10^{-7} M) and the contractions were allowed to stabilize. Subsequently, ANG II was applied cumulatively to obtained concentration–response curves. The effects of ANG II were tested in the presence or absence of selective AT_1 or AT_2 receptor blockers, losartan (100 nM) and PD123319 (1 μM), respectively. Each antagonist was applied 30 min before cumulative administration of ANG II. Only one cumulative concentration–response curve for ANG II was constructed in each tissue.

In other selective group of experiments, a sole concentration of ANG II (1×10^{-5} M) was tested—throughout 1 h—in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings precontracted with phenylephrine (1×10^{-7} M).

In these sets of experiments with ANG II, vehicle (assay buffer)-treated rings served as temporal controls.

2.4. Effects of angiotensin receptors antagonists on the concentration–response curves to ANG II

Endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings were treated with different concentrations of losartan (10, 30, or 100 nM), PD123319 (0.1, 1, or 10 μM), or vehicle for 30 min. (Only one concentration of antagonist was tested in each tissue.) Then, concentration–response curves were established by exposing the aortic rings to increasing concentrations of ANG II until maximal contractile responses were observed (see data analysis). Only one cumulative concentration–response curve for ANG II was obtained in each aortic ring.

2.5. Drugs

The following drugs were used: L-phenylephrine hydrochloride, angiotensin II, acetylcholine chloride, L-NAME, losartan potassium, and PD123319 ditrifluoroacetate (Sigma Chemical Company; St. Louis, MO, USA). Drugs were dissolved in distilled water and subsequent dilutions made in assay buffer.

2.6. Data analysis

Results are expressed as the mean ± SEM for the number of aortic rings (n) obtained from four to six different animals. Contractions are expressed in grams (g) of developed force. Relaxations are expressed as the reduction of the maximum increment in tension (precontraction) obtained by phenylephrine addition. The negative logarithms of the molar concentrations of ANG II required to produce 50% of the maximal response ($-\log EC_{50}$) were calculated (by nonlinear regression analysis) for each individual concentration–response curve with a computer program (Graph Pad Software; San Diego, CA, USA). Agonist concentration ratios (CR) were determined from EC_{50} values and, where appropriate, estimates of pA_2 obtained from the equation:

$pA_2 = \log$ (agonist CR-1) − log [antagonist] (Arunlakshana and Schild, 1959). Considering that ANG II elicits biphasic responses in aortic tissues, the monophasic uphill (until maximum) of the concentration–response curve to ANG II was used for Schild analysis in this group of experiments.

Statistical analysis was done, as appropriate, by using one-way and two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni or Tukey post-hoc tests, in that order (Prism version 4.0; Graph Pad Software; San Diego, CA, USA). In all comparisons a P value <0.05 was considered as statistically significant.

3. Results

3.1. ANG II induced biphasic responses in aortic rings

In endothelium-intact and endothelium-denuded aortic tissues, ANG II elicited biphasic concentration–response relationships (Fig. 1); that is, ANG II caused concentration-dependent contractions that gradually reached a maximal level and then diminished amplitude, apparently, with higher concentrations of the agent (Fig. 1). However, in additional experiments designed to evaluate the temporal course of ANG II responses, low (1×10^{-8} M) as well as high (1×10^{-5} M) concentrations of this peptide evoked biphasic responses in aortic rings with and without endothelium (Fig. 2). Thus, the biphasic character of ANG II-induced responses can, in principle, be attributed to the loss of tension with time.

Fig. 1 also shows that the concentration–response curves for ANG II were significantly shifted to the left and the maximal responses were substantially enhanced in endothelium-denuded and L-NAME-treated (100 μM) aortic rings. For this analysis, only the monophasic increase in tone of the concentration–response curves to ANG II (1×10^{-10} to 1×10^{-7} M) was considered.

3.2. Desensitization of ANG II-induced biphasic responses

In endothelium-intact and endothelium-denuded aortic ring preparations, ANG II-induced biphasic concentration–response curves were significantly depressed when repeated 1 h after the first concentration–response curves had been constructed (Fig. 1). Likewise, in aortic rings with and without endothelium, the biphasic responses produced by single concentrations of ANG II were considerably diminished when repeated 1 h after the first responses had been elicited (Fig. 2). In these experiments, the maximal values for ANG II 1×10^{-8} M in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic tissues, achieved only 65.21 ± 9.49 and 44.96 ± 5.04% of that of the first ones, respectively; whereas for ANG II 1×10^{-5} M the corresponding values were 12.05 ± 3.46 and 8.36 ± 3.77% of that of the first ones, respectively (Fig. 2).

In comparative experiments, two cumulative concentration–response curves to phenylephrine (1×10^{-9} to 1×10^{-5} M) were constructed in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic ring preparations. The data showed that the second concentration–response curves to phenylephrine constructed in aortic tissues with ($-\log EC_{50}$, 7.07 ± 0.06, maximum contraction, 1.25 ± 0.04 g, n = 12) and without endothelium ($-\log EC_{50}$, 7.30 ± 0.10, maximum contraction, 1.51 ± 0.06 g, n = 11) were not significantly modified when repeated 1 h after the first ones ($-\log EC_{50}$, 7.19 ± 0.06, maximum contraction, 1.32 ± 0.04 g, with endothelium; and $-\log EC_{50}$, 7.31 ± 0.15, maximum contraction, 1.41 ± 0.08 g, without endothelium).

3.3. ANG II provoked additional increases—but not decreases—in phenylephrine-induced active tone

ANG II produced biphasic concentration–response curves on phenylephrine preconstricted endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings (Fig. 3). Specifically, ANG II caused supplementary increases in tone followed by decreases in tone up to the baseline contraction (plateau) induced by phenylephrine (Fig. 3). Likewise, a single high concentration of ANG II (1×10^{-5} M) evoked biphasic responses in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings precontracted with phenylephrine (1×10^{-7} M), which did not decrease the active tone induced by phenylephrine (Fig. 5). Control experiments showed that the precontraction induced by phenylephrine remained stable for at least 1 h (data not shown).

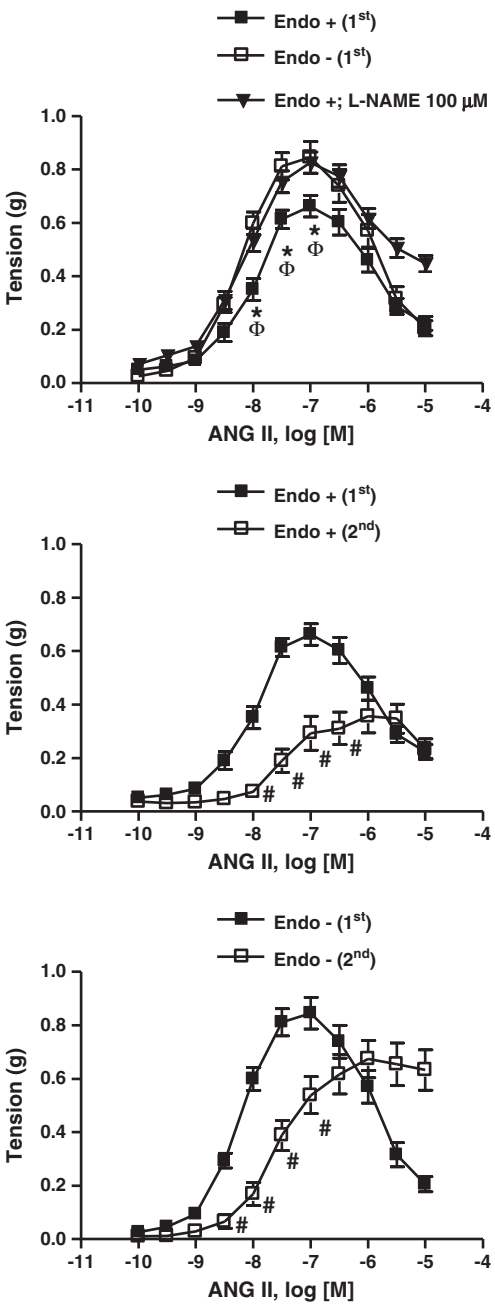


Fig. 1. Concentration–response curves for angiotensin II (ANG II) obtained in rat thoracic aortic ring preparations in the presence (Endo +) and absence (Endo −) of endothelium, and in the presence of endothelium and N^G-nitro-L-arginine methyl ester (Endo +; L-NAME 100 μM). In most tissues, two (1st and 2nd) concentration–response curves to ANG II were obtained with an interval of 1 h. Results are expressed as grams (g) of developed force. Values are means ± SEM (n = 8–12). For statistical analysis, only the monophasic uphill of concentration–response curves was considered.*P<0.05 Endo − (1st) vs. Endo + (1st); $^{\Phi}$P<0.05 Endo +, L-NAME 100 μM vs. Endo + (1st). $^{\#}$P<0.05 Endo + (2nd) vs. Endo + (1st). $^{\#}$P<0.05 Endo − (2nd) vs. Endo − (1st).

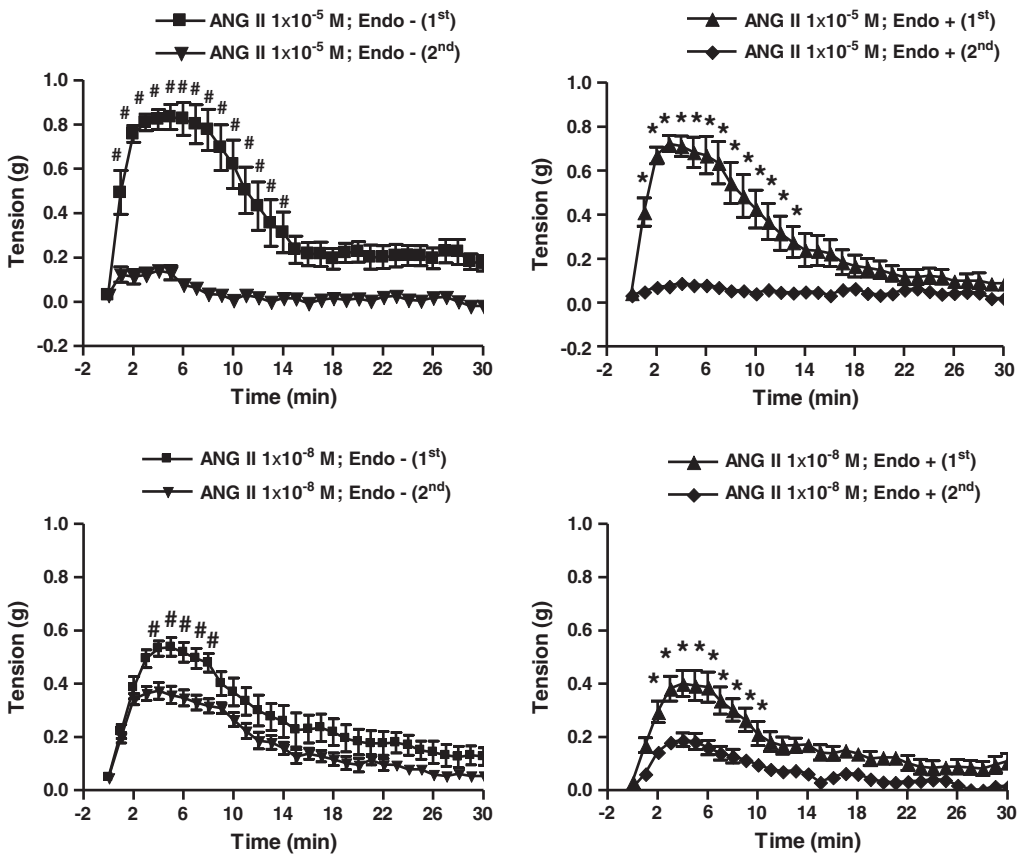


Fig. 2. Temporal course of a single concentration–response for angiotensin II (ANG II), either 1×10^{-8} or 1×10^{-5} M, obtained in rat thoracic aortic ring preparations in the presence (Endo +) and absence (Endo −) of endothelium. Each concentration of ANG II was applied twice (1st and 2nd) to each tissue with an interval of 1 h. Results are expressed as grams (g) of developed force. Values are means ± SEM (n = 8–10). #P<0.05 Endo − (2nd) vs. Endo − (1st); *P<0.05 Endo + (2nd) vs. Endo + (1st).

3.4. Effect of losartan and PD123319 on the biphasic responses produced by ANG II in aortic tissues pre-contracted with phenylephrine

The ANG II-induced biphasic responses in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings precontracted with phenylephrine, were abolished in the presence of losartan (100 nM) (Fig. 3). It is important to note that there were no relaxing responses to ANG II in the presence of the AT_1 blocker (Fig. 3). Also, the effect of PD12319 (1 μM) was tested against the response to ANG II in phenylephrine-precontracted endothelium-intact rings. This antagonist did not modify the concentration–response curves for ANG II (Fig. 4).

3.5. Effects of angiotensin receptor antagonists on the concentration–response relationships of ANG II

In endothelium-intact aortic ring preparations, losartan (10, 30, and 100 nM) concentration dependently shifted the concentration–response curves of ANG II to the right,

On the other hand, the selective AT_2 receptor antagonist, PD123319 (0.1, 1, and 10 μM), did not significantly influence the concentration–response curves for ANG II (Fig. 7).

4. Discussion

To our knowledge, this is the first report that analyses functionally the relative participation of AT_2 receptors, and heterologous receptor desensitization induced by AT_1 receptors, in the putative relaxation produced by ANG II in normal rat aorta. The present data show that ANG II evoked biphasic responses in rat thoracic aorta with and without endothelium, characterized by an initial increase followed by a decrease in active tone development. Basically, an agonist that elicits a biphasic concentration–response relationship may cause contractions to reach a maximal level that subsequently diminishes with higher concentrations of the agent. An important feature of the biphasic responses to ANG II, however, is that they were qualitatively the same (i.e., biphasic) when elicited by a single low or high concentration of this agonist. Therefore, the ANG II-induced biphasic responses do not appear to reflect the presence of functionally separate high- and low-affinity angiotensin receptors. The ANG II-induced biphasic responses can primarily be associated with the loss of tension with time.

In essence, the desensitization to ANG II could be homologous or heterologous depending on whether the loss of response involves exclusively angiotensin receptors or, on the other hand, involves the simultaneous impairment of agonist responsiveness at other, different, family of receptors (e.g., α_1-adrenergic receptors) (Kelly et al., 2008; Kohout and Lefkowitz, 2003;). The biphasic responses induced by ANG II cannot be explained as a result of heterologous desensitization for the following reason: there was no relaxing response evoked by cumulative, or single, concentration addition of ANG II on phenylephrine preconstricted endothelium-intact and endothelium-denuded aortic rings; even though, ANG II was administered during a period (up to 1 h) several times larger (approximately, 3-fold) than the duration of the biphasic responses. In brief, ANG II-induced receptor desensitization did not cause a simultaneous loss of responsiveness to phenylephrine. By exclusion, our results suggest that ANG II induced rapid homologous desensitization in aortic tissues.

One aim of this study was to determine the potential contribution of AT_2 receptors to ANG II-mediated relaxation in normal rat aorta.

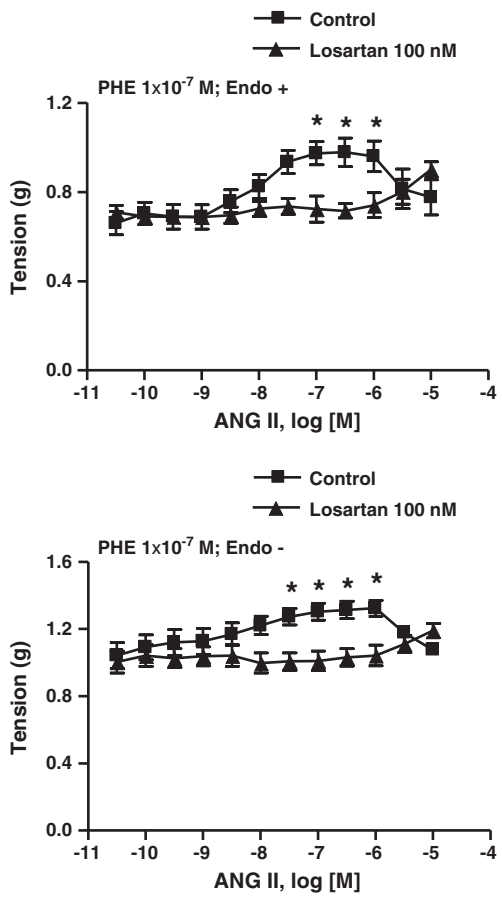


Fig. 3. Effects of losartan on the concentration–response curves to angiotensin II (ANG II) in endothelium-intact (Endo+) and endothelium-denuded (Endo −) rat thoracic aortic rings preconstricted with phenylephrine (PHE, 1×10^{-7} M). Aortic rings were treated with losartan (100 nM) 30 min before the concentration–response curves to ANG II were constructed. Results are changes of tone induced by phenylephrine. Data represent the means ± SEM (n = 8). All data are expressed as grams (g) of developed force. *P<0.05 vs. Control.

Taken into account previous studies (Arun et al., 2004; Fukada et al., 2005), unexpectedly, we found no evidence of ANG II-induced relaxation in endothelium-intact and endothelium-denuded aortic tissues pre-contracted with phenylephrine. In this series of experiments, ANG II-induced biphasic responses were abolished by the selective AT_1 antagonist losartan (100 nM), *but relaxation was not observed.* On the other hand, in phenylephrine-precontracted aortic rings with endothelium, PD123319 (1 μM) did not influence the concentration–response curves for ANG II. Thus, an AT_2 receptor-dependent decrease in the contractile response to ANG II was not established. At this point, it is important to emphasize that ANG II-induced biphasic responses—in concentrations as high as 1×10^{-5} M—did not decrease the active tone induced by phenylephrine in aortic tissues. In consequence, the ANG II-induced relaxation and the losartan-unmasked AT_2 receptor-mediated vasodilatation previously reported (Arun et al., 2004; Fukada et al., 2005), were not confirmed in the aorta. We do not find an obvious explanation for this discrepancy. In consequence, more investigation is needed to elucidate this problem.

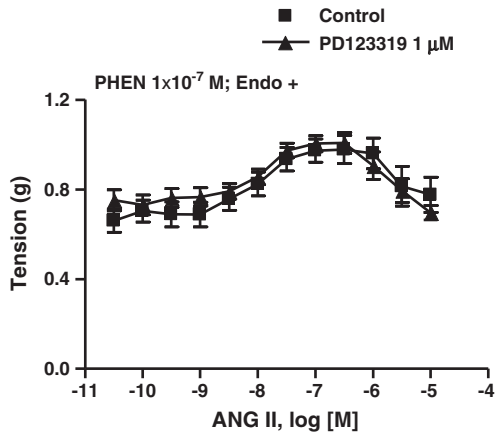


Fig. 4. Effects of PD123319 on the concentration–response curves to angiotensin II (ANG II) in endothelium-intact (Endo+) rat thoracic aortic rings preconstricted with phenylephrine (PHE, 1×10^{-7} M). Aortic rings were treated with PD123319 (1 μM) 30 min before the concentration–response curves to ANG II were constructed. Results are changes of tone induced by phenylephrine. Data represent the means ± SEM (n = 8). All data are expressed as grams (g) of developed force.

At last, the ANG II-induced concentration–response curves in endothelium-intact rat thoracic aorta were concentration dependently antagonized by losartan, but they were not altered by the AT_2 antagonist PD123319, indicating that the entire response is mediated by AT_1 receptors. To perform the Schild analysis, we considered only the monophasic ascending phase of the concentration–response curves to ANG II. These ANG II concentration–response curves were shifted to the right—without reducing the maximum response—by losartan. The pA_2 value for losartan against the actions of ANG II was characteristic of an effect on the AT_1 receptors (Smith et al., 1992). The slope of the Schild plot was not statistically different from the theoretical value of unity, which is indicative that the receptor population tested was homogeneous (Arunlakshana and Schild, 1959). Thus, the data conform to a model of simple competition. Further, PD123319 did not shift ANG II concentration–response

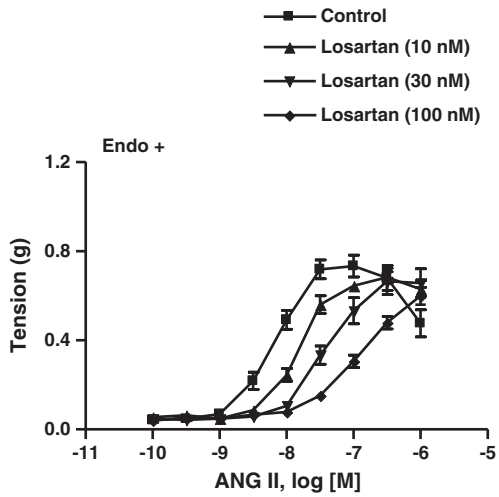


Fig. 6. (Upper) Losartan antagonism of angiotensin II (ANG II)-induced concentration–response curves in endothelium-intact rat thoracic aortic rings. Data represent means ± SEM (n = 12), and are expressed as grams (g) of developed force.

curves (neither to the right nor to the left) with a concentration range that spans two orders of magnitude, and that includes the dissociation constant (K_D) value reported for this antagonist in its interaction with AT_2 receptors (Siemens et al., 1994). Hence, under AT_2 blockade by PD123319, the contractile effect of ANG II was not overexposed in normal rat aorta, as has been described for this vessel under pathological conditions such as diabetes and hypertension (Arun et al., 2004; Cosentino et al., 2005). Finally, removal of the endothelium (and in some experiments L-NAME) significantly enhanced ANG II responses in aortic rings, confirming that NO counteracts the contraction induced by AT_1 receptors (Li et al., 1995).

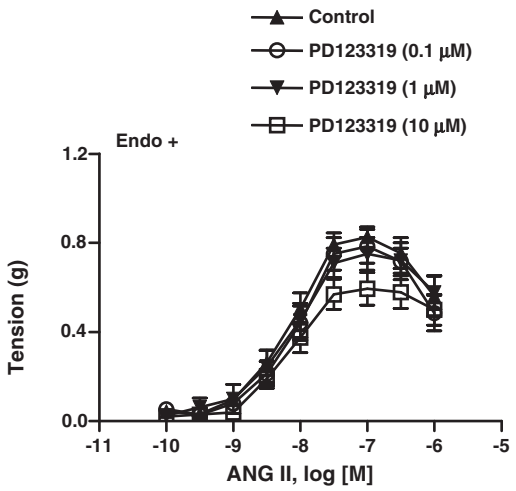


Fig. 7. Concentration–response curves for angiotensin II (ANG II) obtained in endothelium-intact rat thoracic aortic rings in the absence or presence of different concentrations of PD123319. Data represent means ± SEM (n = 8), and are expressed as grams (g) of developed force.

Recently, it became evident that under some pathologic conditions the AT_2 receptor level was increased in rat and mice aortas (Arun et al., 2004; Cosentino et al., 2005; Yayama et al., 2006). This evidence suggests that AT_2 receptors contribute to the regulation of vasomotor tone by offsetting, via the bradykinin/nitric oxide/cyclic guanosin monophosphate (BK/NO/cGMP) pathway, the contractile effects of ANG II mediated by the AT_1 receptors. On the other hand, other studies proposed that the NO system is required to maintain arterial elasticity in conductance vessels (Fitch et al., 2001; Safar and Laurent, 2003; Susic et al., 2001). These works have indicated that dilating arteries with NO increases compliance, whereas the activation of smooth muscle with contractile agonists reduces vascular compliance. Thus, stimulation of up-regulated AT_2 receptors by ANG II is predicted to have an important regulatory effect in controlling aorta compliance under conditions associated with vascular tissue damage. However, we found that the AT_2 receptors do not contribute to the regulation of tone by counteracting the contractile effects of ANG II in normal rat aorta. In fact, the depression of ANG II-induced contractile responses in rat aorta (with and without endothelium) occurred as a consequence of AT_1 receptors desensitization. This desensitization is an adaptive response used by cells to prevent the detrimental effects that can result from persistent receptor stimulation Kohout and Lefkowitz, 2003). Thus, desensitization of the potent contractile effect of ANG II (and other endogenous agonists) may be a protective mechanism to avoid important decreases in vascular (aortic) compliance. Increased arterial stiffness may lead to impaired perfusion of the peripheral organs and augmented cardiac afterload (Kameyama et al., 2005).

5. Conclusion

The results of the present investigation indicate that ANG II elicited biphasic responses mediated by AT_1 receptors in aortic rings, which can be attributed to AT_1 receptors activation and desensitization with time. Rapid desensitization induced by ANG II proved to be homologous in nature, since precontractile tone induced by the α_1-adrenergic agonist phenylephrine, was not depressed by ANG II (i.e., ANG II did not induce heterologous α_1-adrenergic receptor desensitization). We found no functional evidence of the participation of AT_2 receptors in ANG II-induced biphasic effects in normal rat aorta. ANG II does not exert relaxant effects in normal rat aorta.

References

Arun, K.H., Kaul, C.L., Poduri, R., 2004. Tempol augments angiotensin II-induced AT2 receptor-mediated relaxation in diabetic rat thoracic aorta. J. Hypertens. 22, 2143–2152.

Arunlakshana, O., Schild, H.O., 1959. Some quantitative uses of drug antagonists. Br. J. Pharmacol. 14, 48–58.

Baranov, D., Armstead, W.M., 2005. Nitric oxide contributes to AT2 but not AT1 angiotensin II receptor-mediated vasodilatation of porcine pial arteries and arterioles. Eur. J. Pharmacol. 525, 112–116.

Batenburg, W.W., Garrelds, I.M., Bernasconi, C.C., Juillerat-Jeanneret, L., van Kats, J.P., Saxena, P.R., Danser, A.H., 2004. Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation in human coronary microarteries. Circulation 109, 2296–2301.

Carey, R.M., Siragy, H.M., 2003. Newly recognized components of the renin–angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. Endocr. Rev. 24, 261–271.

Cosentino, F., Savoia, C., De Paolis, P., Francia, P., Russo, A., Maffei, A., Venturelli, V., Schiavoni, M., Lembo, G., Volpe, M., 2005. Angiotensin II type 2 receptors contribute to vascular responses in spontaneously hypertensive rats treated with angiotensin II type 1 receptor antagonists. Am. J. Hypertens. 18, 493–499.

Fitch, R.M., Vergona, R., Sullivan, M.E., Wang, Y.-X., 2001. Nitric oxide synthase inhibition increases aortic stiffness measured by pulse wave velocity in rats. Cardiovasc. Res. 51, 351–358.

Fukada, S.Y., Tirapelli, C.R., de Godoy, M.A., de Oliveira, A.M., 2005. Mechanisms underlying the endothelium-independent relaxation induced by angiotensin II in rat aorta. J. Cardiovasc. Pharmacol. 45, 136–143.

Hannan, R.E., Davis, E.A., Widdop, R.E., 2003. Functional role of angiotensin II AT2 receptor in modulation of AT1 receptor-mediated contraction in rat uterine artery: involvement of bradykinin and nitric oxide. Br. J. Pharmacol. 140, 987–995.

Inagami, T., Guo, D.F., Kitami, Y., 1994. Molecular biology of angiotensin II receptors: an overview. J. Hypertens. Suppl. 12, S83–S94.

Kameyama, H., Takeda, K., Kusaba, T., Narumiya, H., Tanda, S., Kuwahara, N., Yamada, K., Tamagaki, K., Okigaki, M., Hatta, T., Sasaki, S., 2005. Augmentation of pulse wave velocity precedes vascular structural changes of the aorta in rats treated with N (omega)-nitro-L-arginine methyl ester. Hypertens. Res. 28, 439–445.

Kelly, E., Bailey, C.P., Henderson, G., 2008. Agonist-selective mechanisms of GPCR desensitization. Br. J. Pharmacol. 153, S379–S388.

Kohout, T.A., Lefkowitz, R.J., 2003. Regulation of G protein-coupled receptor kinases and arrestins during receptor desensitization. Mol. Pharmacol. 63, 9–18.

Kuttan, S.C., Sim, M.K., 1993. Angiotensin II-induced tachyphylaxis in aortas of normo- and hypertensive rats: changes in receptor affinity. Eur. J. Pharmacol. 232, 173–180.

Li, Q., Zhang, J., Pfaffendorf, M., van Zwieten, P.A., 1995. Comparative effects of angiotensin II and its degradation products angiotensin III and angiotensin IV in rat aorta. Br. J. Pharmacol. 116, 2963–2970.

Matsubara, H., Inada, M., 1998. Molecular insights into angiotensin II type 1 and type 2 receptors: expression, signaling and physiological function and clinical application of its antagonists. Endocr. J. 45, 137–150.

Nouet, S., Nahmias, C., 2000. Signal transduction from the angiotensin II AT2 receptor. Trends Endocrinol. Metab. 11, 1–6.

Safar, M.E., Laurent, P., 2003. Pulse pressure and arterial stiffness in rats: comparison with humans. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 285, H1363–H1369.

Siemens, I.R., Reagan, L.P., Yee, D.K., Fluharty, S.J., 1994. Biochemical characterization of two distinct angiotensin AT2 receptor populations in murine neuroblastoma N1E-115 cells. J. Neurochem. 62, 2106–2115.

Sim, M.K., Kuttan, S.C., 1992. Effects of noradrenaline and prostaglandin F2 alpha on angiotensin-induced contraction and tachyphylaxis in rat aortic rings. Pharmacol. Toxicol. 70, 60–64.

Smith, R.D., Chiu, A.T., Wong, P.C., Herblin, W.F., Timmermans, P.B.M.W.M., 1992. Pharmacology of nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32, 135–165.

Stroth, U., Unger, T., 1999. The renin–angiotensin system and its receptors. J. Cardiovasc. Pharmacol. 33, S21–S28.

Susic, D., Varagic, J., Frohlich, E.D., 2001. Isolated systolic hypertension in elderly WKY is reversed with L-arginine and ACE inhibition. Hypertension 19, 1422–1426.

Tsutsumi, Y., Matsubara, H., Masaki, H., Kurihara, H., Murasawa, S., Takai, S., Miyazaki, M., Nozawa, Y., Ozono, R., Nakagawa, K., Miwa, T., Kawada, N., Mori, Y., Shibasaki, Y., Tanaka, Y., Fujiyama, S., Koyama, Y., Fujiyama, A., Takahashi, H., Iwasaka, T., 1999. Angiotensin II type 2 receptor overexpression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. J. Clin. Invest. 104, 925–935.

Widdop, R.E., Matrougui, K., Levy, B.I., Henrion, D., 2002. AT2 receptor-mediated relaxation is preserved after long-term AT1 receptor blockade. Hypertension 40, 516–520.

Yayama, K., Hiyoshi, H., Imazu, D., Okamoto, H., 2006. Angiotensin II stimulates endothelial NO synthase phosphorylation in thoracic aorta of mice with abdominal aortic banding via type 2 receptor. Hypertension 48, 958–964.

UELC M1 Complémentaire 3A (M1-3)

Semestre automne 2023 - 2024

Examen

Tuteur M. LO

Obesity has become a global public heath challenge affecting almost one-half billion adults (1) and an estimated 40 million children (2). Large artery disease is very common in obese patients and manifests clinically as myocardial infarction, stroke, and hypertension (3). Small artery disease is also common in obesity and contributes to the development of hypertension and microvascular disease due to changes in peripheral resistance and local autoregulation (4). Historically, the small artery dysfunction in obesity has been attributed to damage to the endothelium (5), most notably to generation and release of nitric oxide (NO) (6). More recently, however, appreciation has grown for an additional mechanism by which vascular damage occurs in obesity; the function of fat surrounding arteries, or perivascular adipose tissue (PVAT). The PVAT surrounds the majority of blood

vessels in the body and, in addition to adipocytes, contains inflammatory cells, stem cells, and microvasculature. In health, PVAT modulates the contractile tone of adjacent small arteries by secreting vasodilatory molecules. These adipose-derived vasodilators act independently of the endothelium and include adiponectin (7), NO (7), hydrogen sulfide (8), and palmitic acid methyl ester (9). In 2009, we performed the first human small artery study of PVAT and showed that subcutaneous gluteal PVAT from lean healthy individuals reduced adrenergic constriction in adjacent arteries, an "anticontractile" effect. However, in patients with metabolic syndrome the vasodilatory effect of the PVAT was entirely lost, due to dual processes of adipose tissue hypoxia and inflammation, both of which are established sequelae of obesity in fat depots (7). More recently, we have seen that macrophage activation in adipose tissue contributes to the attenuation in PVAT anticontractile effect (10).

Bariatric surgery has been performed for nearly 60 years and is established as the most effective clinical intervention to achieve both significant and sustained weight-loss in severely obese individuals. There are 3 types of bariatric surgical procedures: restrictive, malabsorptive, and combined operations (11). Gastric bypass surgery is a combination of restriction and malabsorption and has been shown to achieve a significantly higher degree of weight loss than restrictive bariatric surgery (12).

Bariatric surgery also dramatically improves cardiovascular risk profiles in obese patients and reduces overall mortality (13,14). The mechanisms that underlie these cardiovascular improvements remain unclear, however. In the present study we investigated the effects of bariatric surgery achieved by the gastric bypass method on the vasodilatory properties of PVAT. We report amelioration of inflammation in PVAT with complete restoration of anticontractile activity as a consequence of improved adiponectin and NO bioavailability, despite persisting obesity.

Methods

Study population. Patients with severe obesity (body mass index [BMI] >35 kg/m^2) who were awaiting gastric bypass surgery (n = 15) and lean healthy volunteers (n = 7) were recruited after full informed written consent in accord with local research ethics committee approval. All participants provided a fasting venous blood sample for the measurement of inflammatory markers and adipokines.

The study participants also provided gluteal subcutaneous fat samples (1.5 × 1.5 × 1.5 cm) by undergoing a surgical biopsy under local anesthesia (7). The sample was immediately processed in 3 sections. One part was stored for immunohistology, the second was snap-frozen for estimation of NO levels, and the remainder was used to harvest small subcutaneous arteries with micro-dissection.

Blood pressure was recorded as a mean of 3 recordings measured with a semi-automated machine (OMRON 705CP, White Medical, Clifton-Upon-Dunsmore, United Kingdom), whereas the participants were seated at rest for 15 min.

Further measurements including BMI and waist circumference were also recorded.

The obese patients were invited to return for a follow-up assessment, including a biopsy, 6 months after bariatric surgery.

Abbreviations and Acronyms

AdipoR1 = adiponectin receptor 1

BMI = body mass index

hsCRP = high-sensitivity C-reactive protein

NO = nitric oxide

PVAT = perivascular adipose tissue

TNF = tumor necrosis factor

Biochemical analyses. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) was measured in serum by an in-house, antibody sandwich enzyme-linked immunoadsorbent assay technique with anti-human CRP antibodies, calibrators, and controls from Abcam (Cambridge, United Kingdom). Interleukin-6, tumor necrosis factor (TNF)-α, adiponectin, leptin, and resistin were measured in serum, and E-selectin was measured in plasma, all with DuoSet ELISA development kits from R&D Systems (Abingdon, United Kingdom).

Wire myography. One section of the gluteal fat biopsy was placed in chilled physiological saline solution (composition in mmol/l: sodium chloride 118, potassium chloride 3.4, magnesium sulphate 1.2, calcium chloride 1, sodium bicarbonate 25, glucose 11, potassium orthophosphate 1.2) and oxygenated. The dissection dish was placed on ice during microdissection to preserve the integrity of the tissue, whereas arterial segments 250 to 350 μm in diameter were harvested, 1 segment with PVAT intact, and the adjacent segment devoid of PVAT. Both segments came from the same artery.

Endothelium denuded vessels were mounted on 40-μm wires and studied with wire myography (Danish MyoTech, Aarhus, Denmark).

The mounted vessel segments were oxygenated and maintained at a temperature of 37°C before vessel diameter and wall tension was normalized as previously described (7,15). Vessels were challenged with a 60-mmol/l high-potassium physiological saline solution to establish viability and baseline constriction.

Each vessel segment was stimulated with cumulative doses of norepinephrine (Sigma-Aldrich, Dorset, United Kingdom) at the following doses: 10^{-9}; 10^{-8}; 3×10^{-8}; 10^{-7}; 3×10^{-7}; 5×10^{-7}; 10^{-6}; 2×10^{-6}; 3×10^{-6}; 5×10^{-6}; 10^{-5}; 2×10^{-5}; and 3×10^{-5} mol/l. Contractile responses to norepinephrine are presented as a percentage of high-potassium physiological saline solution constriction, consistent with published data (7,16–18).

Pharmacological assessment. Pharmacological protocols were applied to study the effect of PVAT on adjacent small arteries. In each case 2 segments of the same artery were prepared with and without PVAT attached as previously described (7).

The role of oxidative stress was evaluated by incubation of samples from pre-operative patients with superoxide dismutase and catalase (superoxide dismutase, Sigma-Aldrich,

100-μ/ml incubation period 45 min; and catalase, Sigma-Aldrich, 100-μ/ml incubation period 45 min; n = 4).

Further protocols assessed the contribution of NO and adiponectin to PVAT function in samples taken from patients after weight loss. Arteries with PVAT were incubated with blocking peptide for adiponectin receptor 1 (AdipoR1) (5 μg/ml, 1.6×10^{-4} mol/l, Enzo Life Sciences; 45 min; n = 7) and N5-[imino(methylamino)methyl]-L-ornithine, citrate (5×10^{-5} mol/l, Sigma; 45 min; n = 4).

NO assay. Five paired pre-operative and post-operative frozen PVAT samples were homogenized by suspending the tissue in 400 μl of lysis buffer (50 mmol/l Tris base, 150 mmol/l sodium chloride, 2 mmol/l ethylenediaminetetraacetic acid, 2 mmol/l ethyleneglycoltetraacetic acid, 40 mmol/l β-glycerophosphate, 50 mmol/l sodium fluoride, 10 mmol/l sodium pyrophosphate, 10% glycerol, 1% Triton X-100 [pH 7.4]) and protease inhibitor (Complete Mini EDTA-Free; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) on ice and using a Dounce (glass/glass) tissue grinder set (Sigma-Aldrich). Upon complete homogenization, the solution was incubated at 4°C for 10 min, then centrifuged for 10 min at 16,000 *g*. The resulting supernatant was then removed for application of the assay.

Total nitrate/nitrite concentration was measured with a NO colorimetric assay kit according to the instructions of the manufacturer (Abcam).

Immunohistochemistry. MACROPHAGE MARKERS AND TNF-α. Immediately after dissection, tissue from each gluteal biopsy consisting of skin and subcutaneous fat was placed in 4% paraformaldehyde in phosphate buffered saline for 24 h and subsequently processed to paraffin wax blocks. Consecutive 5-μm sections were de-waxed, rehydrated, and immunostained for 2 macrophage markers—CD68 [KP1] (Dako, Glostrup, Denmark; dilution 1:100), and CD68 [PGM1] (Biocare Medical, Concord, California; dilution 1:100)—and the pro-inflammatory cytokine TNF-α (Abcam; dilution 1: 100). Antigen retrieval was performed, followed by blocking of endogenous peroxidase and nonspecific protein binding with Dako blocking solutions. Tissue sections were incubated with primary antibodies for 18 h, followed by anti-rabbit/anti-mouse EnVision-HRP (Dako) and finally by Vector SG chromogen kit (Vector Laboratories, Burlingame, California), used to disclose the presence of the macrophages and TNF-α. Color images were captured with a Go-3 QImaging camera (QImaging Corporation, Vancouver, Canada) mounted on

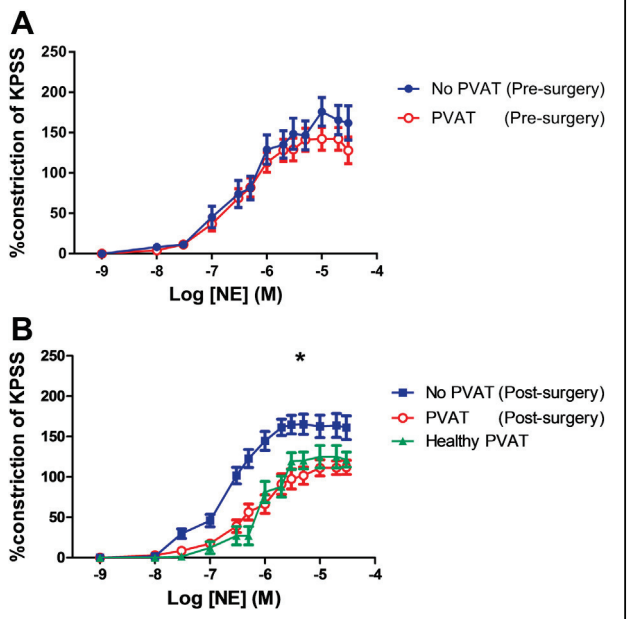


Figure 1 Effect of PVAT on Small Artery Tone Before and After Surgery

(A) In pre-surgery patients, the presence of perivascular adipose tissue (PVAT) did not affect vessel contractility as compared with skeletonized segments of the same vessel (n = 20, p = 0.95). **(B)** In post-surgery patients, the presence of PVAT had a significant anticontractile effect on the small artery contractility (n = 15, *p < 0.01). KPSS = high-potassium physiological saline; Log [NE] (M) = log of the molar concentration of norepinephrine.

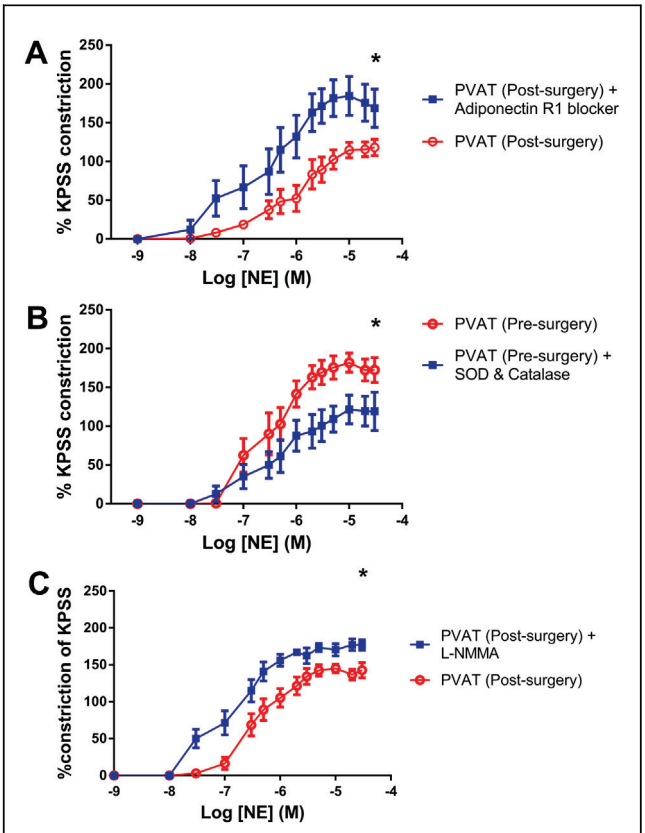


Figure 2 Pharmacological Protocols on PVAT Pre-Surgery and Post-Surgery

(A) Blocking peptide for polyclonal antibody to adiponectin receptor 1 increases vessel contractility to norepinephrine (n = 7, p <0.0001). **(B)** Incubation with superoxide dismutase (SOD) and catalase rescues the PVAT anticontractile effect in samples taken from pre-surgery patients (n = 7, p < 0.001). **(C)** Post-surgery, inhibition of nitric oxide synthase by incubation with N5-[imino(methylamino) methyl]-L-ornithine, citrate (L-NMMA) leads to increased contractility of vessel segments with intact PVAT (n = 4, *p < 0.001). Abbreviations as in Figure 1.

a Leitz Diaplan microscope (Leica, Wetzlar, Germany). Cells stained with macrophage markers present in adipose tissue were counted, and the results were expressed as cells/mm^2. For assessment of TNF-α, quantitative analysis of immunostaining was obtained, converting color images to greyscale and with a macro subroutine in an ImagePro version 6.2 image analysis program (MediaCybernetics United Kingdom, Marlow, United Kingdom). The extent of staining was expressed as a percentage of the entire area photographed. Adipocyte size was quantified on microphotographs obtained on Zeiss Axio Imager M2 microscope equipped with AxioCam camera and AxioVision Rel. 4.8 program by free-hand tracing the margins of 100 consecutive cells (on average)/case to avoid selection bias (total: 3,000 cells).

Immunohistochemistry for AdipoR1. Five μm deparaffinized formalin-fixed tissue sections were microwaved in citrate buffer pH 6.0, treated with 0.3% hydrogen peroxide, blocked with Protein Block (Dako), and incubated with 1 of the anti-AdipoR1 antibodies, goat polyclonal to AdipoR1 (Abcam), or a rabbit monoclonal to AdipoR1 (Epitomics, Burlingame, California), followed by anti-rabbit/anti-mouse EnVision-HRP (Dako) and Vector SG chromogen kit (Vector Laboratories). The results of immunostaining were compared, and the monoclonal rabbit antibody was selected for further use. Slides were examined and images captured on a Zeiss Axio Imager M2 microscope.

Statistical analysis. The statistical presentation includes paired and unpaired tests. In the case of ordinal tests, medians and quartiles are used, and for parametric tests mean ± SD is used. Cumulative concentration-response curves were constructed with data obtained by wire myography and analyzed with a 2-way analysis of variance and a Bonferroni post hoc test for each dose. A p value of <0.05 was considered statistically significant. Analyses were performed with the GraphPad Prism 5 software (GraphPad, La Jolla, California).

Results

Study design and participants. Six months after surgery and weight loss, the patients had a significantly lower waist circumference ($n = 15$; $p < 0.0001$), BMI ($p < 0.0001$), and systolic blood pressure ($p = 0.0025$) (Table 1).

Post-operatively, there was a significant reduction in insulin ($p = 0.0042$), fasting glucose ($p = 0.0312$), and hemoglobin A1c ($p < 0.0071$) and an improvement in pancreatic beta-cell function (homeostatic model assessment of beta-cell function; $p < 0.01$) and insulin resistance (homeostasis model assessment of insulin resistance; $p = 0.0023$). After surgery serum levels of adiponectin increased significantly ($p = 0.0197$), and leptin decreased ($p = 0.0014$), but resistin levels did not change significantly ($p = 0.0796$).

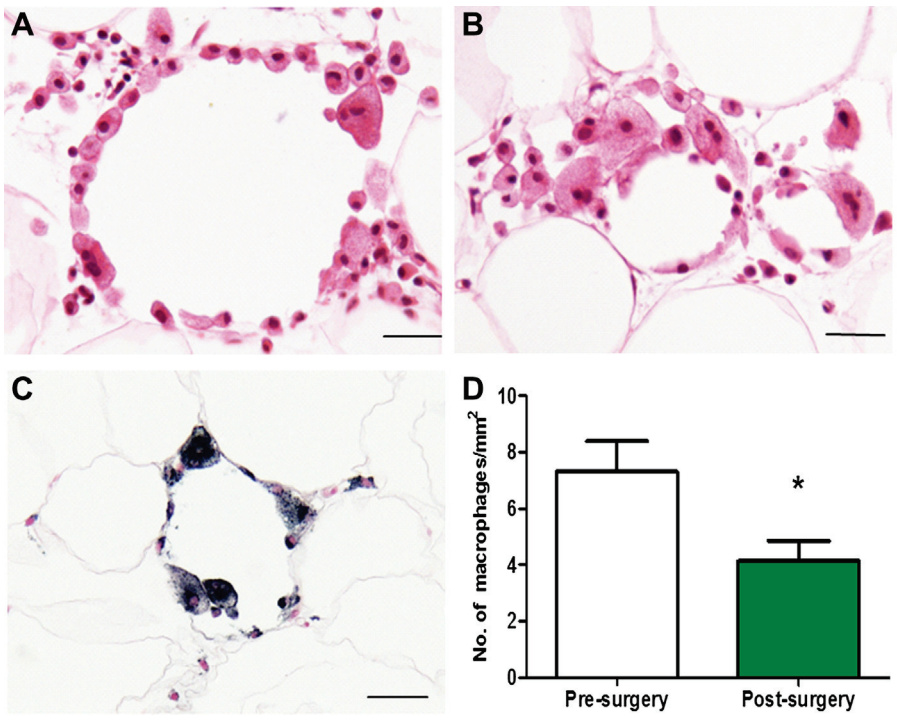


Figure 3 Subcutaneous Adipose Tissue Before and After Surgery

Inflammatory infiltrates composed mostly of macrophages were present in wreath-like arrangements **(A)**, in groups **(B)**, or were scattered. Staining for macrophage marker (CD68 (KP1) **(C)** allowed for performing cell counts. There was a significant reduction in the number of CD-68 staining macrophages post-surgery ($n = 14$, 7.3 ± 1.1 vs. 4.1 ± 0.7, $^*p < 0.01$) **(D)**. Scale bar = 20 μm.

Weight-loss surgery restores PVAT anticontractile function. In severely obese patients before surgery and weight-loss, PVAT did not significantly alter the norepinephrine-induced contractility of the small arteries in comparison with skeletonized segments of the same vessels ($n = 15$, $p = 0.96$) (Fig. 1A).

In samples taken from patients 6 months after surgery and weight loss, PVAT had a significant anticontractile effect on vessels when compared with vessels without PVAT ($n = 15$, $p < 0.01$) (Fig. 1B). The vessels with intact PVAT after surgery had a very similar response to cumulative doses of norepinephrine as the PVAT-intact vessels harvested from healthy lean volunteers ($p = 0.52$, $n = 7$) (Fig. 1B). The maximal degree of constriction is lower in PVAT-intact vessels in healthy and post-surgery samples as compared with skeletonized vessels, but the degree of constriction of skeletonized vessels to norepinephrine is similar in segments from pre- and post-surgery (Online Fig. 1).

Anticontractile property of PVAT after weight loss is abolished by adiponectin blockade. Samples taken from patients 6 months after surgery were incubated with blocking peptide for AdipoR1. This had no effect on segments without PVAT, but in vessels with PVAT there was a significant increase in vessel contractility ($p < 0.0001$, $n = 7$) (Fig. 2A).

Free radical scavengers can rescue PVAT anticontractile function in obesity. In patients with severe obesity, the presence of perivascular adipose tissue had no effect on vessel contractility in comparison with vessel segments devoid of PVAT. Incubation of the vessels with the free radical scavengers superoxide dismutase and catalase resulted in a shift in the curve to resemble that of vessels with intact PVAT taken from healthy individuals ($p < 0.001$, $n = 7$) (Fig. 2B).

Increased NO bioavailability after surgery. There was a significant increase in NO in PVAT of severely obese patients 6 months after surgery (1.016 vs. 1.196 nmol/μl, $p = 0.029$, $n = 5$).

In post-surgery samples, de-endothelialized vessel segments were incubated with N5-[imino(methylamino) methyl]-L-ornithine, citrate. The incubation had no effect on vessels without PVAT, but in vessels with PVAT, there was a significant increase in contractility to cumulative doses of norepinephrine ($p < 0.001$, $n = 4$) (Fig. 2C).

Reduced PVAT inflammation, adipocyte size, and AdipoR1 after bariatric surgery. The perivascular adipose tissue was stained, to quantify the inflammation, for both CD68 staining macrophages (Fig. 3) and the cytokine TNF-α (Figs. 4A to 4C).

There was a significant reduction in the CD68 [KP1] staining macrophage numbers after surgery (7.3 ± 1.1 vs. 4.1 ± 0.7, $p = 0.0067$, $n = 14$) (Figs. 4C and 4D), but the change in CD68 [PGM1] staining was not statistically changed. There was a significant reduction in the percentage of adipose tissue area staining for TNF-α (1.41 ± 0.34 vs. 0.68 ± 0.09, $p < 0.05$) (Figs. 4A to 4C) after surgery.

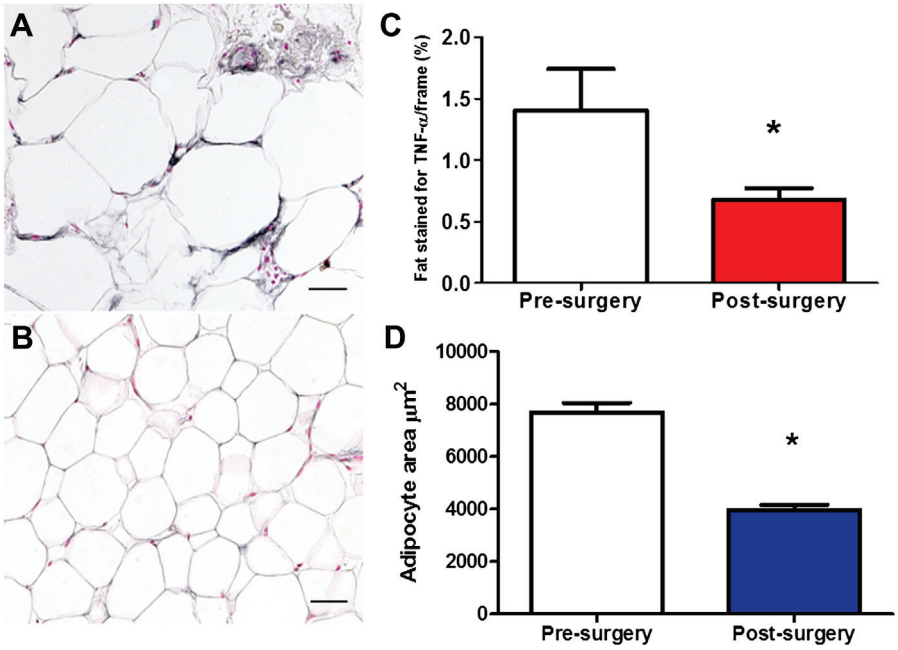


Figure 4 Assessment of TNF-α Staining and Adipocyte Size Pre- and Post-Surgery

Immunostaining for tumor necrosis factor (TNF)-α showed that adipocytes themselves were positive for this cytokine, to a higher extent pre-surgery **(A)** than post-surgery **(B)**. Note positive staining of microvessels in the pre-operative biopsy. There is a significant reduction in the percentage of adipose tissue area that stains for TNF-α pre-surgery versus post-surgery (1.41 ± 0.34 vs. 0.68 ± 0.09, $^*p < 0.05$) **(C)**. The average adipocyte area was $7,672 \pm 369.6$ μm^2 pre-surgery and $3,955 \pm 207.5$ μm^2 ($^*p < 0.0001$) post-surgery **(D)**. Scale bar = 20 μm.

The average adipocyte area was 7,672 ± 369.6 μm^2 pre-surgery and 3,955 ± 207.5 μm^2 ($p < 0.0001$) post-surgery (Fig. 4D). The change in average adipocyte area correlated with the change in BMI after surgery ($R^2 = 0.356$, $p = 0.0243$, $n = 14$) (Online Fig. 2).

There was a significant reduction in circulating markers of inflammation including hsCRP ($p < 0.001$), interleukin-6 ($p = 0.013$), monocyte chemoattractant protein-1 (283.1 vs. 258.3 pg/ml; $p = 0.013$), and the adhesion molecule E-selectin (12.7 vs. 7.47 ng/ml; $p < 0.001$). However, there was no significant change in circulating TNF-α levels ($p = 0.519$) (Table 1).

Discussion

The present study investigated the effect of bariatric surgery on the vasodilatory properties of PVAT. We designed the study after our earlier observation that, in severely obese patients, although there is an accumulation of adipose tissue, there is also a paradoxical inhibition of the beneficial PVAT vasodilation (7). There are now 3 main findings presented here. First, bariatric surgery reverses the obesity-induced damage to PVAT anticontractile function. Second, the functional recovery of the PVAT is independent of the endothelium. Third, bariatric surgery restores the function of PVAT by reducing adipose inflammation and increasing local adiponectin and NO bioavailability (Figure 5). The observations advance our understanding of the mechanisms by which obesity disrupts the vasodilating function of adipose tissue and how this pathology might be reversed by clinical intervention.

The cardiovascular complications of obesity are undoubtedly among the most pressing issues facing clinicians today (19). To date, the most common recommended intervention has been the encouragement of dietary modification. Effective and sustained dieting does lead, without doubt, to significant weight loss, but unfortunately the weight loss is not sustained (20). Furthermore, the impact of dietary modification on cardiovascular outcomes is unclear (13,21). For patients with severe obesity, the most effective method of achieving significant and sustained weight reduction is by weight-reducing surgery (14). In addition, the weight loss after surgery also significantly correlates with improvements to blood pressure (22,23), left ventricular mass (24), exercise capacity (25), and glucose metabolism (26). Changes to weight in patients are associated with profound modulation of the cytokine and inflammatory profiles of adipose tissue. In this regard, it is now established that, in obese patients, adipose tissue undergoes dual processes of hypoxia and inflammation, leading to a reduction in the secretion of adipocytokines such as adiponectin. The hypoxia is thought to be due to adipocyte hypertrophy (27) twinned with reductions to capillary density and angiogenic capacity (28). This results in up-regulation of hypoxia inducible factor-1 and inflammatory differentiation of macrophages, which subsequently secrete TNF-α (29–31). Differentiated macrophages in obesity also release superoxide anions, which further contribute to local vascular dysfunction by diminishing availability of NO (32).

The functional damage we observe in PVAT and its recovery after bariatric surgery are entirely consistent with this hypoxia/inflammation in fat hypothesis. Thus, in our previous studies we observed adipocyte hypertrophy and increased TNF staining in adipose tissue associated with loss of PVAT vasodilatory function. We now show that, after bariatric surgery, there is restoration of PVAT vasodilatory capacity to a degree that is similar to that observed in healthy non-obese participants. It is interesting to note that this

Table 1 Patient Demographic Data and Biomarker Profile

	Healthy	Pre-Surgery	Post-Surgery	p Value
Age, yrs	51.0 ± 11.5	53.2 ± 6.73	53.2 ± 6.73	
Waist, cm	92.0 ± 11.6	140.90 ± 14.85	115.5 ± 13.3	<0.0001
BMI, kg/m^2	25.40 ± 2.68	51.58 ± 7.47	37.960 ± 7.175	<0.0001
Systolic BP, mm Hg	135.0 ± 17.2	146.1 ± 28.8	132.70 ± 22.15	0.0025
hsCRP, mg/l	1.33 ± 1.09	6.321 ± 2.444	2.747 ± 2.282	0.0027
IL-6, pg/ml	2.070 ± 0.811	2.830 ± 1.755	0.644 ± 0.774	0.0052
TNF-α, pg/ml	4.83 ± 1.75	35.14 ± 40.30	27.14 ± 37.30	0.12
Adiponectin, mg/l	2.190 ± 0.633	1.845 ± 0.699	2.410 ± 0.828	0.011
Leptin, ng/ml	9.67 ± 7.76	59.9 ± 17.7	24.91 ± 10.42	0.0014
Resistin, ng/ml	9.26 ± 3.05	15.780 ± 6.823	13.550 ± 4.605	0.0796
E-selectin, ng/ml	131.0 ± 5.06	12.530 ± 5.581	8.753 ± 3.374	0.0033
Insulin, mU/l	7.18 ± 4.11	27.83 ± 16.17	14.83 ± 10.12	0.004
Glucose, mmol/l	5.080 ± 0.377	6.825 ± 3.585	5.858 ± 2.355	0.0312
HbA1C, %	5.740 ± 0.689	7.0 ± 2.119	6.330 ± 1.603	0.0071
HOMA-B, %	90.2 ± 26.9	243.0 ± 175.7	169.9 ± 143.7	0.01
HOMA-IR, %	0.933 ± 0.557	7.838 ± 4.213	3.860 ± 2.683	0.0023

Values are mean ± SD. The p values compare the matched baseline and post-surgery values and were determined with paired *t* tests.

BP = blood pressure; BMI = body mass index; HbA1C = hemoglobin A1c; HOMA-B = homeostatic model assessment of beta-cell function; HOMA-IR = homeostasis model assessment of insulin resistance; hsCRP = high-sensitivity C-reactive protein; IL = interleukin; TNF = tumor necrosis factor.

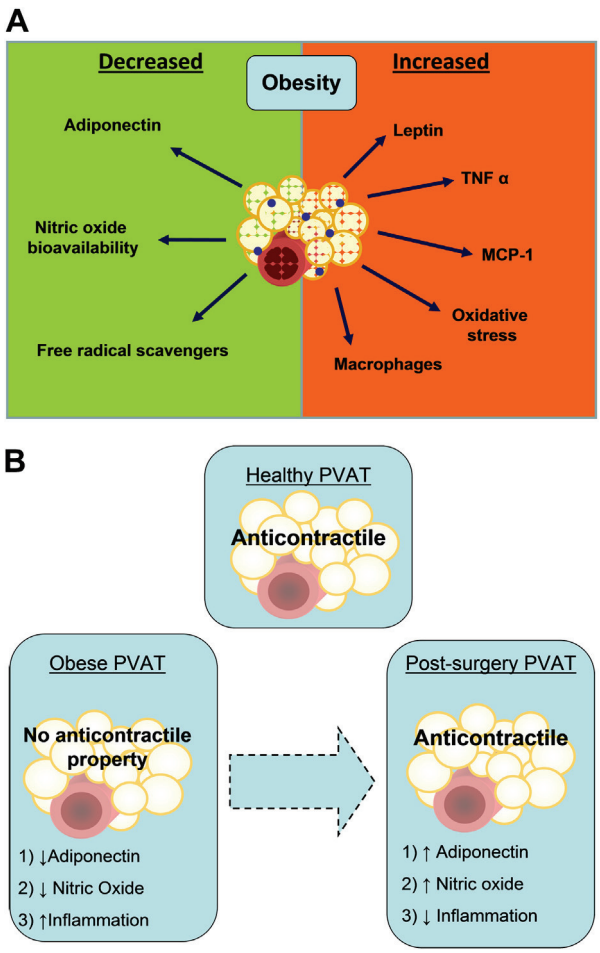


Figure 5 **Background and Conclusions**

(A) In obesity there is an increase in perivascular adipose tissue (PVAT) levels of inflammatory cells and cytokines as well as increase in levels of leptin. **(B)** We conclude that, after bariatric surgery, there is an increase in adiponectin levels and nitric oxide bioavailability in PVAT and reduction in tissue inflammation, which contributes to restoration of PVAT anticontractile function. MCP = monocyte chemoattractant protein; TNF = tumor necrosis factor.

functional restoration of the PVAT occurs even though the patients are still severely obese. The improvement in PVAT function after surgery is associated with smaller adipocytes (in the context of a dramatic weight loss), a reduction in PVAT TNF, and increased local adipose tissue NO bioavailability. Our findings are consistent with other studies that have shown significant reductions in macrophage numbers as well as monocyte chemoattractant protein-1 and hypoxia inducible factor-1α in the stromal vascular fraction of white adipose tissue after bariatric surgery (33). Also, importantly, we show that the functional vasodilatory improvement in the subcutaneous fat is due to restitution of PVAT-derived adiponectin and NO bioavailability.

The functional improvement of PVAT after bariatric surgery was independent of the vascular endothelium, because all arteries in this study were denuded of endothelium. Also notably, there were no differences in constriction of arteries devoid of fat to norepinephrine before and after surgery. Taken together, these observations indicate that the improvement in adipose-vascular coupling after surgery was due to improvements in the vasodilating capacity of the PVAT rather than changes to isolated arterial contractility or endothelial function.

Study limitations. There are a number of limitations to this study that need to be considered in parallel with the findings. We did not monitor the level of exercise performed by the participants at baseline or after surgery, with respect to our patient selection. At 6 months after surgery, the patients had lost a significant amount of weight and were presumably more mobile. As such, we acknowledge that the improvement in PVAT function might be as a consequence of increased levels of mobility. Second, it would have been preferential to recruit participants who were losing weight as part of a calorie-controlled diet to compare changes to PVAT function due to this intervention. This was not possible within the limitations of our faculty, but we hope to perform this study in the future. Similarly, a drawback of this study is that we were not able to perform a 6-month follow-up biopsy on severely obese patients who received no intervention. However, we assume that there would have been no change in PVAT function over this time. We have studied subcutaneous small arteries under the assumption that all small arteries and the surrounding PVAT share similar properties. A separate consideration is that we have detected changes only to subcutaneous gluteal PVAT after surgery. We did not study the function of PVAT from other anatomical sites (i.e., mesenteric or skeletal). As such, we acknowledge that changes to subcutaneous vascular function might not be reflected in other vascular territories, but previous studies have shown similar remodeling profiles of human cerebral and mesenteric arteries to those seen in arteries taken from gluteal subcutaneous biopsies. Finally, it should be noted that norepinephrine was the only contractile agent used. We acknowledge that it would have been preferable to study a variety of vasoconstrictors. However, it should be noted that studies from other groups have shown that PVAT antagonizes contraction to U46619 (34), angiotensin II (35,36), phenylephrine (35,37), and serotonin (35,36).

Conclusions

Despite these limitations, however, we believe that we present convincing evidence that PVAT-induced vasodilation of small arteries can be fully restored after bariatric surgery. Furthermore, this restoration of function is due to a reduction in inflammation within the adipose tissue, which leads to increased adiponectin secretion. The data offer an insight into 1 mechanism by which bariatric surgery improves vascular function. We anticipate that further work will harness this observation to improve therapeutic options for the severely obese patient.

REFERENCES

1. WHO. Obesity and Overweight (Factsheet no 311). Available at: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html. Accessed August 11, 2009.
2. WHO. Population-Based Prevention Strategies for Childhood Obesity. Report of the World Health Organization Forum and Technical Meeting 2009. Available at: http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/child-obesity-eng.pdf. Accessed June 2013.
3. Poirier P, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Circulation 2006;113:898–918.
4. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. Physiology (Bethesda) 2007;22:252–60.
5. Kerr SM, Livingstone MB, McCrorie TA, Wallace JM. Endothelial dysfunction associated with obesity and the effect of weight loss interventions. Proc Nutr Soc 2011;70:418–25.
6. Williams IL, Wheatcroft SB, Shah AM, Kearney MT. Obesity, atherosclerosis and the vascular endothelium: mechanisms of reduced nitric oxide bioavailability in obese humans. Int J Obes Relat Metab Disord 2002;26:754–64.
7. Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, et al. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. Circulation 2009;119:1661–70.
8. Fang L, Zhao J, Chen Y, et al. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. J Hypertens 2009;27:2174–85.
9. Lee YC, Chang HH, Chiang CL, et al. Role of perivascular adipose tissue-derived methyl palmitate in vascular tone regulation and pathogenesis of hypertension. Circulation 2011;124:1160–71.
10. Withers BS, Agabiti-Rosei C, Livingstone DM, et al. Macrophage activation is responsible for loss of anticontractile function in inflamed perivascular fat. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011;31:908–13.
11. Poirier P, Cornier MA, Mazzone T, et al. Bariatric surgery and cardiovascular risk factors: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation 2012;123:1683–701.
12. Butner KL, Nickols-Richardson SM, Clark SF, Ramp WK, Herbert WG. A review of weight loss following Roux-en-Y gastric bypass vs restrictive bariatric surgery: impact on adiponectin and insulin. Obes Surg 20:559–68.
13. Sjostrom L, Peltonen M, Jacobson P, et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. JAMA 2012;307:56–65.
14. Heneghan HM, Meron-Eldar S, Brethauer SA, Schauer PR, Young JB. Effect of bariatric surgery on cardiovascular risk profile. Am J Cardiol 2011;108:1499–507.
15. Mulvany MJ, Halpern W. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. Circ Res 1977;41:19–26.
16. Lu C, Zhao AX, Gao YJ, Lee RM. Modulation of vein function by perivascular adipose tissue. Eur J Pharmacol 2011;657:111–6.
17. Dubrovska G, Verlohren S, Luft FC, Gollasch M. Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;286:H1107–13.
18. Verlohren S, Dubrovska G, Tsang SY, et al. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. Hypertension 2004;44:271–6.
19. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. Lancet 2009;373:1083–96.
20. Mann T, Tomiyama AJ, Westling E, Lew AM, Samuels B, Chatman J. Medicare's search for effective obesity treatments: diets are not the answer. Am Psychol 2007;62:220–33.
21. Hofso D, Nordstrand N, Johnson LK, et al. Obesity-related cardiovascular risk factors after weight loss: a clinical trial comparing gastric bypass surgery and intensive lifestyle intervention. Eur J Endocrinol 2010;163:735–45.
22. Frezza EE, Wei C, Wachtel MS. Is surgery the next answer to treat obesity-related hypertension? J Clin Hypertens (Greenwich) 2009;11:284–8.
23. Aghamohammadzadeh R, Heagerty AM. Obesity-related hypertension: epidemiology, pathophysiology, treatments, and the contribution of perivascular adipose tissue. Ann Med 2012;44 Suppl 1:S74–84.
24. Cavarretta E, Casella G, Cali B, et al. Cardiac remodeling in obese patients after laparoscopic sleeve gastrectomy. World J Surg 2013;37:565–72.
25. Wilms B, Ernst B, Thurnheer M, Weisser B, Schultes B. Differential changes in exercise performance after massive weight loss induced by bariatric surgery. Obes Surg 2013;23:365–71.
26. Ballantyne GH, Wasielewski A, Saunders JK. The surgical treatment of type II diabetes mellitus: changes in HOMA Insulin resistance in the first year following laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) and laparoscopic adjustable gastric banding (LAGB). Obes Surg 2009;19:1297–303.
27. Trayhurn P, Wang B, Wood IS. Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation of tissue function in obesity? Br J Nutr 2008;100:227–35.
28. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. Diabetes 2009;58:718–25.
29. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, et al. Hypoxia-inducible factor 1al
Mol Cell Biol 2009;29:4467–83.
30. Stuart Wood I, de Heredia FP, Wang B, Trayhurn P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. Proc Nutr Soc 2009;68:370–7.
31. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. Blood 2000;96:1723–32.
32. Aghamohammadzadeh R, Withers S, Lynch F, Greenstein A, Malik R, Heagerty A. Perivascular adipose tissue from human systemic and coronary vessels: the emergence of a new pharmacotherapeutic target. Br J Pharmacol 2012;165:670–82.
33. Cancello R, Henegar C, Viguerie N, et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. Diabetes 2005;54:2277–86.
34. Gao YJ, Zeng ZH, Teoh K, et al. Perivascular adipose tissue modulates vascular function in the human internal thoracic artery. J Thorac Cardiovasc Surg 2005;130:1130–6.
35. Löhn M, Dubrovska G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. FASEB J 2002;16:1057–63.
36. Malinowski M, Deja MA, Golba KS, Roleder T, Biernat J, Wos S. Perivascular tissue of internal thoracic artery releases potent nitric oxide and prostacyclin-independent anticontractile factor. Eur J Cardiothorac Surg 2008;33:225–31.
37. Gao YJ, Holloway AC, Zeng ZH, et al. Prenatal exposure to nicotine causes postnatal obesity and altered perivascular adipose tissue function. Obes Res 2005;13:687–92.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC COMPL M1-3*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC COMPL M1-3/M1- 5*

DFGSP3 et DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (1 sur 2 fascicules)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures

Ce fascicule n°1 comprend :

- 3 questions (résumé de 250 mots en français ; 3 mots clefs en français et un titre en français)
- Des pages vierges pour composer (répondre à la liste de questions en lien avec l'article)

L'article et liste des questions en lien avec l'article sont sur fascicule séparé (fascicule 2)

Note

Nom du tuteur de l'article :

Calculatrice autorisée
Dictionnaire français/anglais « papier » autorisé
Surligneurs autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 10 *pages numérotées de 1 à 10*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession d'1 fascicule et de l'article + questions attachées (qui constituent le fascicule 2)

UELC COMPL M1-3 ET M1-5
Noms du responsable enseignant de l'UELC : Audrey Janoly-Duménil

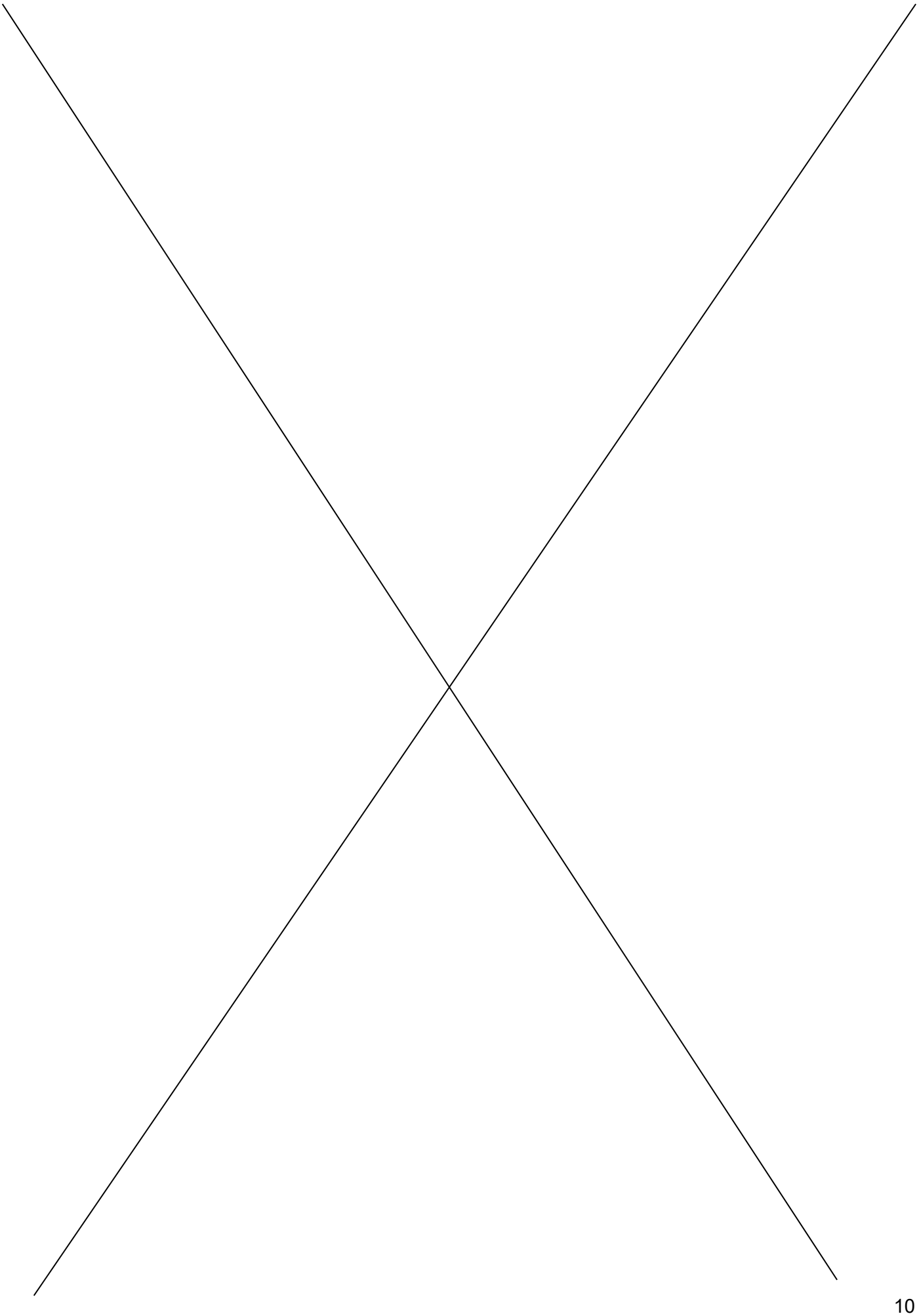
1/ Rédigez un résumé en français de cet article comportant 250 mots (à renseigner dans la grille page 3)

2/ Proposez 3 mots-clefs (en français) :

3/ Proposez un titre à cet article (en français) :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									

Réponses aux questions concernant l'article (cf fascicule 2)



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC COMPL M1-3*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC COMPL M1-3/M1- 5*

DFGSP3 et DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (1 sur 2 fascicules)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures

Ce fascicule n°1 comprend :

- 3 questions (résumé de 250 mots en français ; 3 mots clefs en français et un titre en français)
- Des pages vierges pour composer (répondre à la liste de questions en lien avec l'article)

L'article et liste des questions en lien avec l'article sont sur fascicule séparé (fascicule 2)

Note

Nom du tuteur de l'article :

Calculatrice autorisée
Dictionnaire français/anglais « papier » autorisé
Surligneurs autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 10 *pages numérotées de 1 à 10*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession d'1 fascicule et de l'article + questions attachées (qui constituent le fascicule 2)

UELC COMPL M1-3 ET M1-5
Noms du responsable enseignant de l'UELC : Audrey Janoly-Duménil

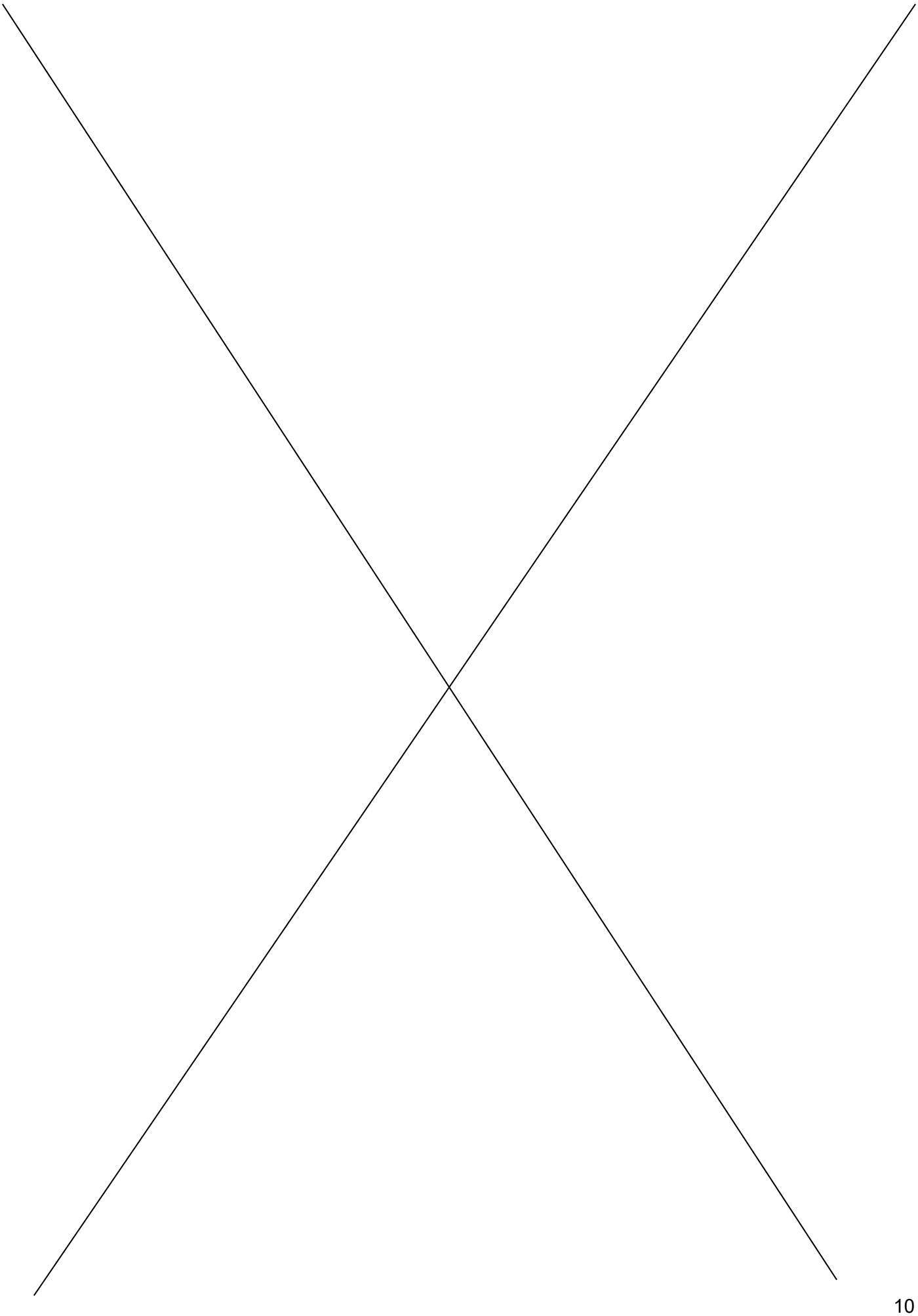
1/ Rédigez un résumé en français de cet article comportant 250 mots (à renseigner dans la grille page 3)

2/ Proposez 3 mots-clefs (en français) :

3/ Proposez un titre à cet article (en français) :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									

Réponses aux questions concernant l'article (cf fascicule 2)



Article C. Marminon, examen 2023

Questions

1. Pourquoi est-il encore nécessaire de développer de nouveaux antipaludéens ?
2. Comment les auteurs justifient ils la « composition » de leur hybride ?
3. Quelles sont les étapes clé de leur synthèse ?
4. Que souhaitent étudier les auteurs ?
5. Comment les auteurs justifient-ils avoir préparé les bons composés ?
6. Combien de produits sont synthétisés ?
7. Comment est évaluée l'activité antipaludéenne *in vitro* (lignées, composé.s de référence) ? Donner rapidement les conclusions de cette évaluation.
8. Ces composés sont-ils cytotoxiques (comment est-ce évalué) ? Conclure.
9. Quel est l'impact de l'amide ?
10. Quel composé ressort de cette étude ? Pourquoi ?

Mots clés :

Titre :

UELC complémentaire de M1
Semestre d'automne 2023
Examen

Questions

Q1. Quel est l'objectif de l'étude ?

Q2. Que signifie -log EC_{50} ? Que signifie un changement de cette valeur de 8 à 7 ?

Q3. Pourquoi la réponse vasculaire à l'angiotensine II est-elle étudiée en présence d'une précontraction par la phenylephrine, agoniste du récepteur α1-adrénergique ?

Q4. Les auteurs décrivent dans cette étude que la réponse à l'angiotensine II est biphasique et qu'il y a une désensibilisation de la réponse à l'angiotensine II. Etes-vous d'accord avec les auteurs ? Justifier votre réponse.

Q5. Décrire et commenter les résultats présentés dans la figure 6.

Q6. Que signifie une désensibilisation homologue et hétérologue respectivement dans cette étude ? (Question bonus)

UELC Complémentaire M1 – 3 tuteur Plamen KIRILOV

Questions et rubriques relatives à la publication examen écrit 08-01-2024

1. Quels sont les objectifs des travaux de recherche décrits dans cette publication ?
2. Qu'est-ce que le PVA ? Quelle est l'influence de sa quantité sur la granulométrie des particules gélifiées ?
3. Définir la Tgel et la Tmelt.
4. Définir les SLN et NLC.
5. Quelles sont les substances actives utilisées dans ces travaux de recherche ? Comparez-les en fonction de leur caractéristiques physico-chimiques.
6. Quelle est l'influence de l'encapsulation des substances actives sur le processus de gélification ?
7. Est-ce que les dispersions des particules gélifiées présentent une stabilité physique prononcée au cours du temps ? Quels sont les facteurs qui régissent ce paramètre ?
8. Qu'est-ce que la figure 4 nous renseigne ? Explicitez vos réponses.
9. Quelle est l'influence du pH sur les profils de libération des substances actives ?
10. Quelle est l'influence de la teneur en HSA sur la libération des substances actives ?

UELC M1 Complémentaire 3A (M1-3)

Semestre Automne 2023 - 2024

Examen

(Tuteur M. LO)

(Questions avec réponse courte)

Question 1 : Quelles sont les manifestations cliniques des complications artérielles (grosses et petites artères) associées fréquemment à l'obésité ?

Question 2 : Chez des sujets sains, quelles sont les principales molécules vasodilatatrices sécrétées par le tissu adipeux périvasculaire (PVAT) ?

Question 3 : Quel(s) est(sont) l'(les) objectif(s) de cette étude ?

Question 4 : Combien de sujets obèses et de volontaires sains ont été inclus dans cette étude ? Quel est l'âge moyen de chacun des groupes ?

Question 5 : Dans les études de l'artère isolée, comment la viabilité du vaisseau a-t-elle été vérifiée avant le test de contractilité à la norépinéphrine ?

Question 6 : La contractilité a été étudiée par la réponse à la concentration croissante de norépinéphrine (noradrénaline). Quel type de récepteur adrénergique est impliqué dans la contraction des petites artères induite par la norépinéphrine ?

Question 7 : Quels sont les principaux paramètres utilisés pour évaluer le degré d'inflammation du tissu adipeux ?

Question 8 : Quels sont les résultats permettant de prouver l'implication de l'adiponectine dans l'action anti-contractile du PVAT ?

Question 9 : Quels sont les trois résultats les plus importants de cette étude ?

Question 10 : Quelles sont les limitations de cette étude ? Selon vous, quels sont les points méthodologiques à améliorer ?

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Facteurs environnementaux et pathologies*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *Facteurs environnementaux et pathologies humaines*

DFGSP2 et DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 2)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule 6 QROC

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 *pages numérotées de 1 à 5*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 2

UE Facteurs environnementaux et pathologies humaines
Mme Cohen et M. Blaha

Sujet de M. Coudon 15 min

QCM

Une seule bonne réponse par question. Entourez la bonne réponse.

Barème :
1 point par question.
-0.5 par mauvaise réponse.

N°	Question	A	B	C	D
1	Le dioxyde d'azote est aussi appelé	PM10	PCB	NO2	PM2.5
2	La source principale d'émission du dioxyde d'azote est	Le trafic routier	L'industrie	L'agriculture	Le chauffage résidentiel
3	Qu'est ce qui justifie les appellations distinctes $PM_{2.5}$ et PM_{10} ?	La différence de toxicité	La différence des sources d'émissions	La différence de taille des particules	La différence chimique
4	Quel est le seul polluant dont les concentrations ne sont pas en diminution actuellement ?	Ozone	NO_2	$PM_{2.5}$	BaP
5	En considérant les seuils OMS de 2021, quelle proportion de la population de la région AURA est surexposée aux $PM_{2.5}$	> 20%	>50%	>60%	>90%
6	Quel cancer est officiellement associé à l'exposition aux $PM_{2.5}$?	Cancer de la vessie	Cancer du foie	Cancer du poumon	Cancer du sein
7	Quel cancer est fortement suspecté d'être associé aux $PM_{2.5}$?	Cancer de la vessie	Cancer du foie	Cancer du poumon	Cancer du sein
8	D'après Santé Publique France (2021) quel est le nombre de décès attribuables aux $PM_{2.5}$ en France ?	7000	20 000	40 000	60 000
9	D'après Santé Publique France (2021) quel est le nombre de décès attribuables au NO_2 en France ?	7000	20 000	40 000	60 000
10	Quel type de mobilité est responsable de l'exposition aux plus fortes concentrations de $PM_{2.5}$?	La marche à pied	Le vélo	La voiture	Le métro

Question bonus (1 point) :

Citez 2 exemples d'activité physique recommandée en cas de pics de pollution.

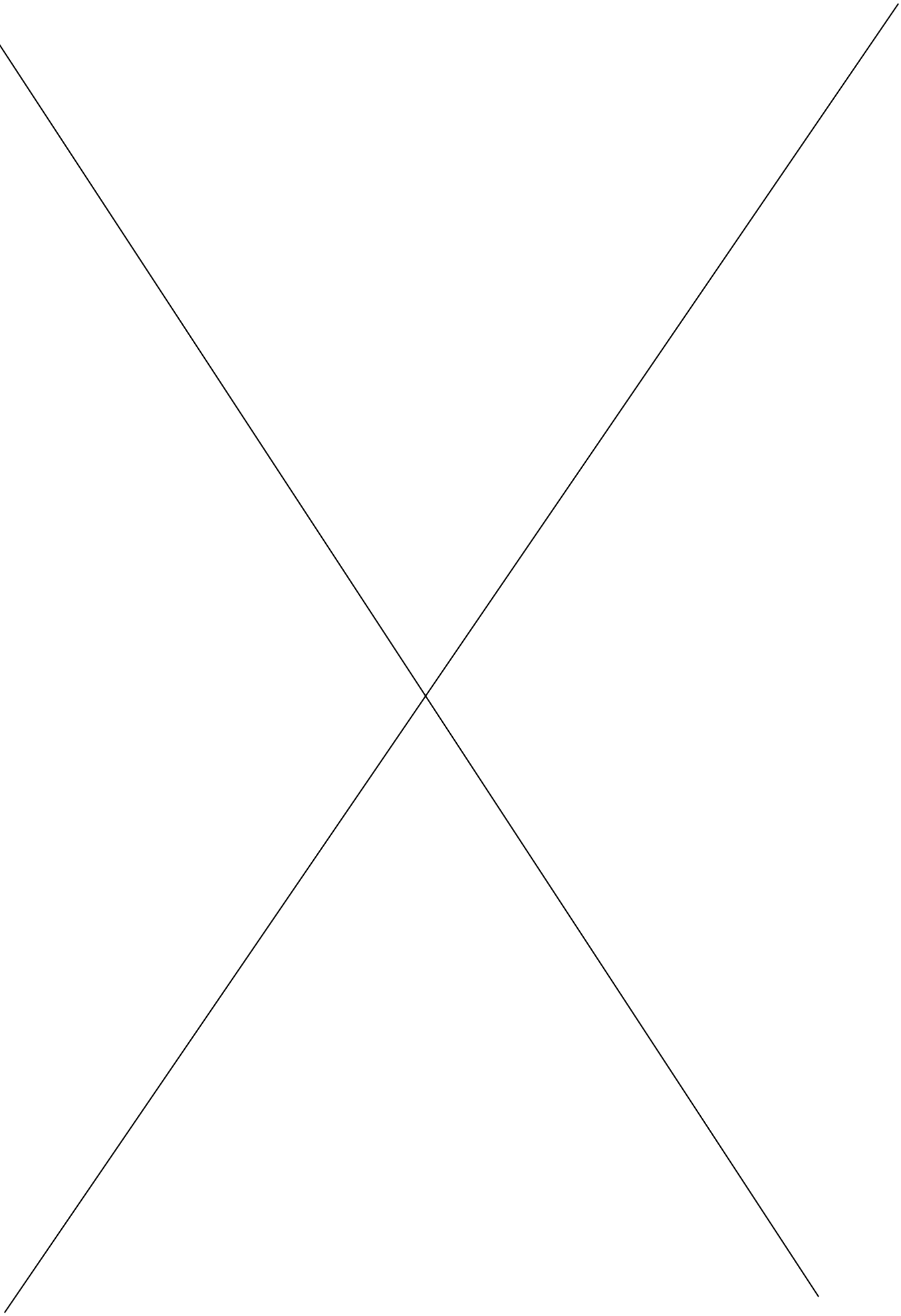
Sujet de M. Blaha (15 min)

Question n°1 : Expliquez comment (quels mécanismes) les bactéries arrivent à acquérir de l'ADN étranger présent dans l'environnement ?

Question n°2 : En tant que chercheur en microbiologie, indiquez ce que vous pourriez rechercher dans le génome d'une bactérie pour montrer qu'il y a eu un transfert de gêne horizontal ?

Question 3 : Donnez les caractéristiques principales de l'élément génomique que vous avez indiqué en question 2

Question n°4 : L'aspergillose pulmonaire invasive : Champignon responsable, réservoirs, mode de dissémination et quel impact peux avoir l'homme sur la dispersion de ce champignon ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Facteurs environnementaux et pathologies*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *Facteurs environnementaux et pathologies humaines*

DFGSP2 et DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 2)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule 6 QROC

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 *pages numérotées de 1 à 5*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 2

UE Facteurs environnementaux et pathologies humaines
Mme Cohen et M. Blaha

Sujet de M. Coudon 15 min

QCM

Une seule bonne réponse par question. Entourez la bonne réponse.

Barème :
1 point par question.
-0.5 par mauvaise réponse.

N°	Question	A	B	C	D
1	Le dioxyde d'azote est aussi appelé	PM10	PCB	NO2	PM2.5
2	La source principale d'émission du dioxyde d'azote est	Le trafic routier	L'industrie	L'agriculture	Le chauffage résidentiel
3	Qu'est ce qui justifie les appellations distinctes $PM_{2.5}$ et PM_{10} ?	La différence de toxicité	La différence des sources d'émissions	La différence de taille des particules	La différence chimique
4	Quel est le seul polluant dont les concentrations ne sont pas en diminution actuellement ?	Ozone	NO_2	$PM_{2.5}$	BaP
5	En considérant les seuils OMS de 2021, quelle proportion de la population de la région AURA est surexposée aux $PM_{2.5}$	> 20%	>50%	>60%	>90%
6	Quel cancer est officiellement associé à l'exposition aux $PM_{2.5}$?	Cancer de la vessie	Cancer du foie	Cancer du poumon	Cancer du sein
7	Quel cancer est fortement suspecté d'être associé aux $PM_{2.5}$?	Cancer de la vessie	Cancer du foie	Cancer du poumon	Cancer du sein
8	D'après Santé Publique France (2021) quel est le nombre de décès attribuables aux $PM_{2.5}$ en France ?	7000	20 000	40 000	60 000
9	D'après Santé Publique France (2021) quel est le nombre de décès attribuables au NO_2 en France ?	7000	20 000	40 000	60 000
10	Quel type de mobilité est responsable de l'exposition aux plus fortes concentrations de $PM_{2.5}$?	La marche à pied	Le vélo	La voiture	Le métro

Question bonus (1 point) :

Citez 2 exemples d'activité physique recommandée en cas de pics de pollution.

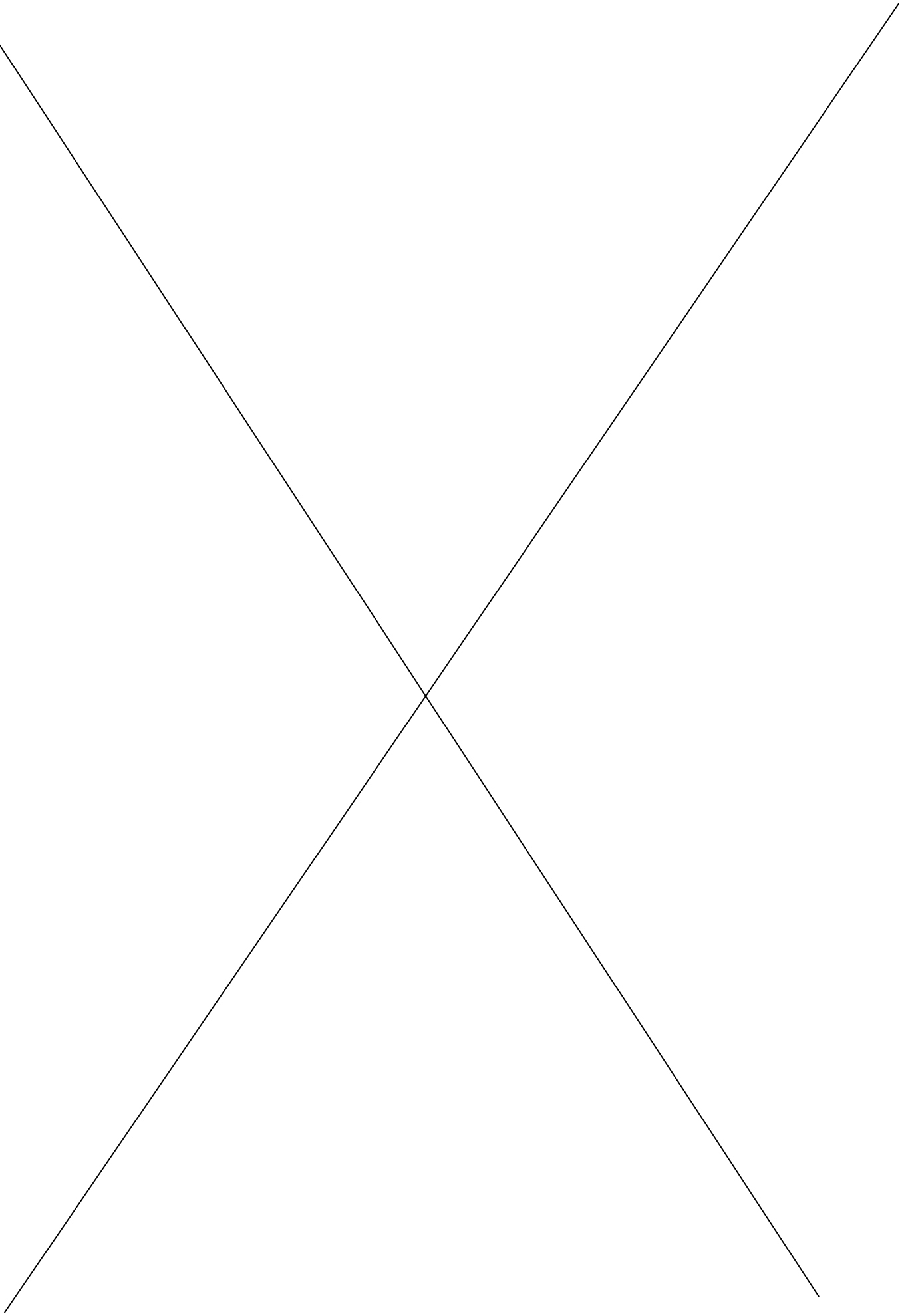
Sujet de M. Blaha (15 min)

Question n°1 : Expliquez comment (quels mécanismes) les bactéries arrivent à acquérir de l'ADN étranger présent dans l'environnement ?

Question n°2 : En tant que chercheur en microbiologie, indiquez ce que vous pourriez rechercher dans le génome d'une bactérie pour montrer qu'il y a eu un transfert de gêne horizontal ?

Question 3 : Donnez les caractéristiques principales de l'élément génomique que vous avez indiqué en question 2

Question n°4 : L'aspergillose pulmonaire invasive : Champignon responsable, réservoirs, mode de dissémination et quel impact peux avoir l'homme sur la dispersion de ce champignon ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Facteurs environnementaux et pathologies*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *Facteurs environnementaux et pathologies humaines*

DFGSP2 et DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session 1

FASCICULE n° 2 (de 1 à 2)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 5 QROC

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 *pages numérotées de 1 à 5*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 2

UE Facteurs environnementaux et pathologies humaines
Mme Cohen et M. Blaha

Sujet de M. Guitton 15 min

Répondre succinctement

1. **Le radon dans l'air intérieur. <u>Définissez sa source</u> ? (1 point)**

2. <u>Risque pour la population humaine et synergie éventuel avec d'autre polluant</u> ? (1 point)

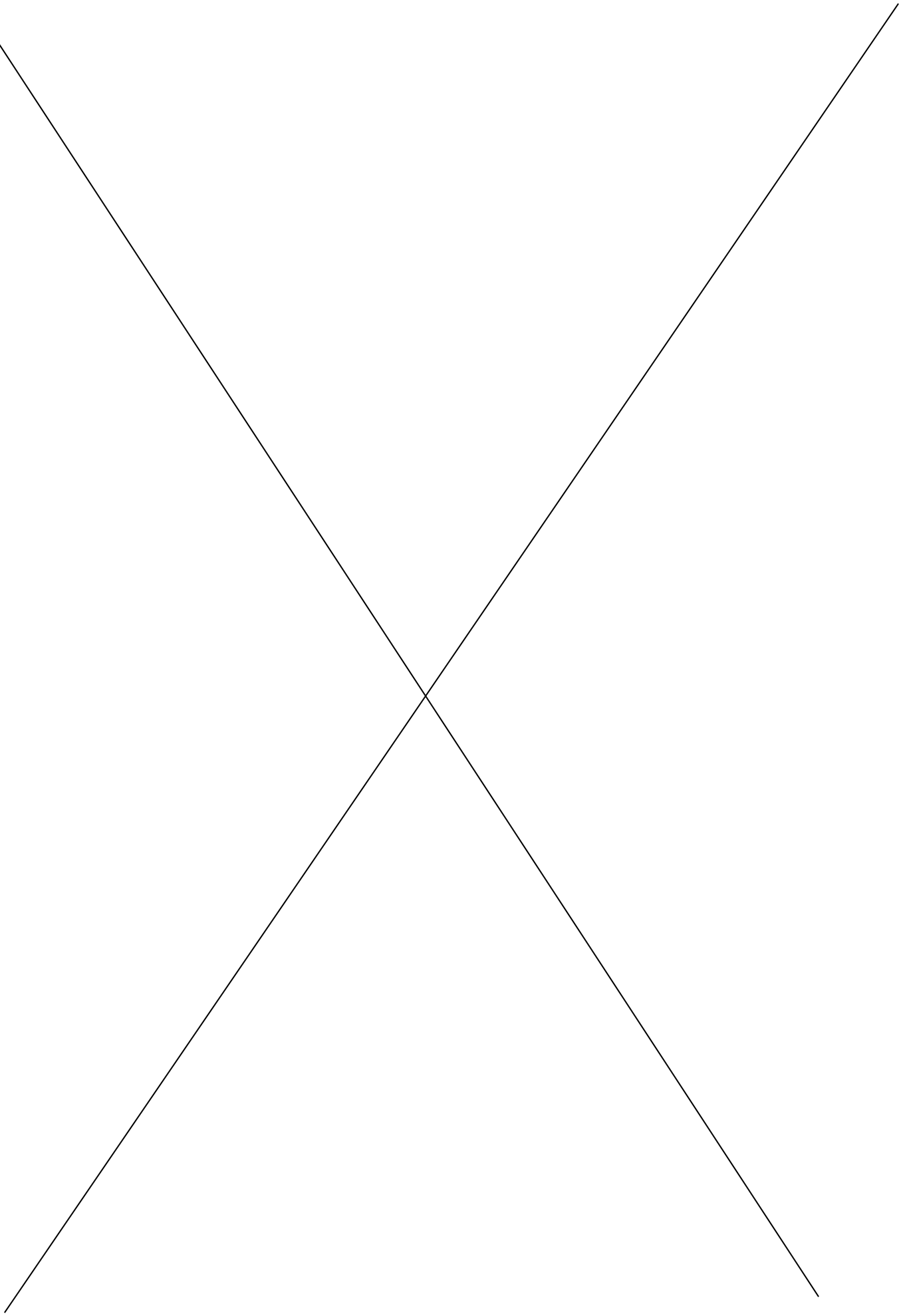
3. **Si votre habitation se trouve en « zone radon » sol granitique, <u>quelles sont les mesures à mettre en place pour éviter qu'il s'accumule dans votre intérieur</u> ?(1 point)**

4. **La ville de New Dehli a dû confiner cette année sa population (20 millions hab.) pendant une semaine en raison d'une concentration en particules fines dépassant 20 fois le seuil d'alerte de l'OMS.**

<u>Quels sont les risques pour la santé humaine lors d'un dépassement du seuil d'alerte</u> ? (2 points)

Sujet de M. Pelandakis 15 min

Expliquer pourquoi les amibes de l'environnement peuvent jouer un rôle important dans la prolifération des légionelles.



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM n° 1

EPREUVE DE *UELC Histoire des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques*

DFGSP2 / DFGSP3
Année 2023/2024

Semestre automne
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS A

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : 30 minutes, comprenant 1 fascicule

Ce fascicule comprend :

- 26 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 pages numérotées de 1 à 8

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté de 1 à 8

UELC Histoire des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Nom(s) du(des) responsable(s)-enseignant(s) de l'UELC : A DOLEANS-JORDHEIM

QCM 1 :
Quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 :
Quelle entreprise a regroupé la plupart des entreprises pharmaceutiques à partir des années 1960 ?

A. La Pharmacie Centrale de France
B. Dausse
C. Menier
D. Roussel
E. Sanofi

QCM 3 :
Qu'est-ce que la loi de 1941 a créé ? (Plusieurs réponses sont attendues)

A. Les écoles de pharmacie
B. Les spécialités pharmaceutiques
C. La pharmacopée française
D. Le monopole pharmaceutique
E. Le contrôle de la publicité

QCM 4 :
Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est(sont) exacte(s) ?

A. C'est au XIX^{ème} S que la marquise de Brinvilliers, accusée d'assassinat, a été soumise à la Question : une méthode de torture utilisant, entre autres, le gavage à l'eau.
B. Les poisons de flèches utilisés en Europe étaient préparés à partir de l'Ellébore blanc.
C. L'épreuve du « M'Boundou » (Afrique équatoriale) doit sa toxicité à la présence de la digitaline dans ses graines.
D. Les cantharides (Lytta vesicatoria L.), utilisés par le Marquis de Sade, sont des insectes riches en strychnine, utilisée dans certains pays comme vérucide.
E. Parmi les ingrédients utilisés dans les cérémonies de zombification, le concombre-zombie est la capsule d'un Datura.

QCM 5 :
Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est(sont) exacte(s) :

A. Les pachycurares doivent leur nom au fait qu'ils aient été isolés d'une plante dont le vernaculaire signifie pied d'éléphant.
B. Dans le protocole lié à la cérémonie de zombification, le breuvage administré à la victime pour la ressusciter et ensuite la maintenir à l'état de zombi, est un extrait de datura.
C. Contrairement aux curares (destinés uniquement à la chasse), l'extrait de Mancenillier (Ipomea macinella, Euphorbiaceae) a été utilisé pendant la guerre contre les armées espagnoles en Amérique du Sud.
D. Pendant la Renaissance, les poisons utilisés par les Borgia étaient uniquement à base de plante.
E. Le diéthyleamide de l'acide lysergique est une molécule naturelle, isolée de l'ergot de seigle.

QCM 6 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). Les inventaires après-décès d'apothicaires renseignent sur :

A. L'état de fortune des apothicaires.
B. Le contenu des réserves de la boutique de l'apothicaire.
C. Le contenu de la bibliothèque de l'apothicaire.
D. Le matériel du laboratoire de l'apothicaire.
E. La façon de s'habiller de l'apothicaire et de son épouse.

QCM 7 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). Le premier texte régissant le commerce des médicaments en Occident :

A. Est la Loi du 31 Germinal An-XI.
B. Est la déclaration royale d'avril 1777.
C. Est incluse dans les Constitutions de Melfi de 1231.
D. Est le décret du baron d'Allarde.
E. Est le décret d'Eustache Livré.

QCM 8 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). L'examen d'accès à la maîtrise d'apothicaire :

A. Comportait une vérification de la connaissance du latin.
B. Comportait une vérification de la connaissance de l'anglais.
C. Comportait un Acte de Lecture.
D. Comportait un Acte des herbes.
E. Comportait la confection d'un chef-d'œuvre.

QCM 9 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La déclaration royale d'avril 1777 :

A. Créait le Collège de Pharmacie de Paris.
B. Supprimait les maîtres apothicaires.
C. Supprimait les examens.
D. Créait le titre de maître en Pharmacie.
E. Réservait la confection et la vente des médicaments aux maîtres en Pharmacie.

QCM 10 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La Loi du 21 Germinal An-XI :

A. Concernait l'enseignement de la médecine.
B. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie dans toutes les préfectures.
C. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie à Paris, Montpellier et Strasbourg.
D. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie uniquement à Paris.
E. Confirmait le monopole pharmaceutique.

QCM 11 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La chevrette :

A. Était munie d'une anse et d'un déversoir.
B. Pouvait contenir des huiles médicinales.
C. Pouvait contenir des miels et des mellites.
D. Pouvait contenir de sirops.
E. Pouvait contenir des drogues sèches.

QCM 12 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. Antoine Laurent de Lavoisier est un célèbre alchimiste ayant vécu au Moyen-Âge.
B. Antoine Laurent de Lavoisier a été un promoteur acharné de l'homéopathie.
C. Antoine Laurent de Lavoisier a établi en chimie la loi de conservation de la masse.
D. Antoine Laurent de Lavoisier a découvert les propriétés de l'eau de Javel.
E. Antoine Laurent de Lavoisier est à l'origine d'une nouvelle nomenclature chimique à la fin du XVIII^{e} siècle.

QCM 13 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. Le papyrus Ebers tient son nom de l'archéologue allemand Georg Ebers qui l'a découvert.
B. Le papyrus Ebers tient son nom du lieu où il a été découvert.
C. Le papyrus Ebers date d'environ 1550 ans avant J.C.
D. Le papyrus Ebers décrit l'utilisation de nombreux composés d'origine végétale et chimique.
E. Le papyrus Ebers date du XIX^{e} siècle.

QCM 14 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. La première description « d'agents bactéricides » que l'on identifiera plus tard comme étant des bactériophages a été faite en 1896 par Hankin avec ses travaux sur les eaux de la Jumna et du Gange.
B. En 1917, d'Hérelle a émis l'hypothèse que ces agents capables de détruire les bactéries étaient des virus et les a appelés « bactériophages » après avoir observé des « trous » dans les cultures bactériennes.
C. Avant que la preuve ne soit apportée par la microscopie électronique, de nombreux scientifiques pensaient que les phénomènes de lyse bactérienne décrits par d'Hérelle étaient le fait de l'action d'enzymes et non de virus.
D. C'est l'utilisation de bactériophages qui a permis à Jacob, Monod et Lwoff (prix Nobel en 1965) de mettre en évidence le rôle de l'ARN messager comme transmetteur de l'information génétique chez *Escherichia coli*.
E. Les systèmes CRISPR, utilisés aujourd'hui dans de nombreux domaines, jouent un rôle primordial dans l'immunité dite « innée » des bactéries contre les bactériophages.

QCM 15 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. La toute première utilisation de bactériophages chez l'homme a été conduite par D'Hérelle pour traiter de jeunes patients souffrant du choléra.
B. Durant la seconde guerre mondiale, les bactériophages étaient utilisés pour traiter les soldats souffrant de la dysenterie.
C. En Europe occidentale, les bactériophages n'ont plus été utilisés pour traiter les infections bactériennes à la fin des années 40, peu après l'introduction de la pénicilline en clinique humaine.
D. Pour faire face à la résistance aux antibiotiques, la phagothérapie est de nouveau autorisée et pratiquée en France.
E. De nos jours, les bactériophages sont utilisés dans le process de production et de conditionnement de certains produits laitiers pour limiter le risque de contamination par *Listeria*.

QCM 16 :

Quelles sont les classifications des virus encore d'actualité aujourd'hui ?

A. Classification de Lwoff
B. Classification de Pasteur
C. Classification du Comité international de taxonomie des virus
D. Classification de Paris
E. Classification de Baltimore

QCM 17 :

Quelle invention est à l'origine de la découverte des virus ?

A. Le microscope électronique
B. La PCR
C. La culture sur organes ou tissus frais
D. Les filtres de Chamberland et de Kitasato
E. La pasteurisation

QCM 18 :

Concernant la grippe Espagnole, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Le virus à l'origine de la pandémie a été décrit à l'automne 1918.
B. La pandémie s'est déroulée en 3 vagues successives entre mars 1918 et début 1920.
C. La seconde vague épidémique qui a eu lieu à l'automne 1918 a été la plus meurtrière.
D. La grippe Espagnole a été à l'origine d'efforts importants de recherche permettant le développement des premiers vaccins antigrippe et de la mise en place des réseaux de surveillances internationaux.
E. La grippe Espagnole est la dernière pandémie connue avant la pandémie de SARS-CoV-2 en 2020.

QCM 19 :

Concernant la vaccination contre la variole, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Au cours du XX^{ème} siècle, la production de vaccin s'est majoritairement faite *via* des cultures cellulaires en laboratoire.
B. L'OMS a réalisé en 1958 une campagne d'éradication de la variole par la vaccination qui a permis l'éradication immédiate de ce pathogène.
C. Une stratégie de surveillance et d'endiguement a permis à l'OMS d'éradiquer la variole.
D. La variole circule encore aujourd'hui dans moins de 5 pays au Monde.
E. La vaccination contre la variole a été utilisée contre l'épidémie de Monkeypox qui a eu lieu au cours de l'été 2022.

QCM 20 :

Concernant Pasteur et la vaccination, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Les recherches de Pasteur ont commencé par l'étude de la rage.
B. L'atténuation des germes à l'origine de la vaccination pasteurienne a été découverte par hasard grâce au Dr Roux.
C. La démonstration publique de Pouilly le Fort a permis à Pasteur d'assurer l'efficacité et la sécurité de sa vaccination contre la rage.
D. La vaccination contre la rage est efficace que si elle est réalisée avant la contamination.
E. La vaccination de la faune sauvage contre la rage a permis l'élimination complète de la maladie en France.

QCM 21 :

Parmi les propositions suivantes, quelle(s) est/sont la/les réponse(s) exacte(s) ?

A. La notion de «mithridatisation» correspond à l'administration de petites doses de poison de manière à devenir résistant aux poisons.
B. Catherine de Médicis a été qualifiée de « reine empoisonneuse ».
C. L'empoisonnement politique était particulièrement utilisé au Moyen-Age.
D. Des poisons minéraux étaient déjà connus dans le monde antique.
E. L'Acqua Tofanna est un poison contenant principalement du phosphore blanc.

QCM 22 :

Parmi les propositions suivantes, quelle(s) est/sont la/les réponse(s) exacte(s) ?

A. C'est dans les années 1750, en Angleterre, que le premier usage déclaré de tests chimiques pour détecter un poison dans un procès criminel est rapporté.
B. C'est suite aux expertises toxicologiques d'Orfila que Marie Lafarge sera définitivement condamnée.
C. Au Moyen-Age, les cornes de divers animaux étaient utilisées pour détecter les poisons.
D. Au XX^{ème} siècle, l'insuline a été utilisée à plusieurs reprises pour éliminer des dissidents soviétiques.
E. La technique de Marsch a été utilisée pour détecter la digitaline.

QCM 23 :

Les anciens ingénieurs romains construisaient dans la mesure du possible leurs villes sur des sites élevés. Cette précaution était destinée à se prémunir d'une maladie infectieuse, laquelle ?

A. La peste
B. La lèpre
C. Le paludisme
D. La légionellose
E. La syphilis

QCM 24 :

Quelle(s) est (sont) la ou les maladie(s) infectieuse(s) qui ont été éradiquées de la surface de la planète ?

A. La lèpre
B. La variole
C. La peste
D. La poliomyélite
E. La peste bovine

QCM 25 :

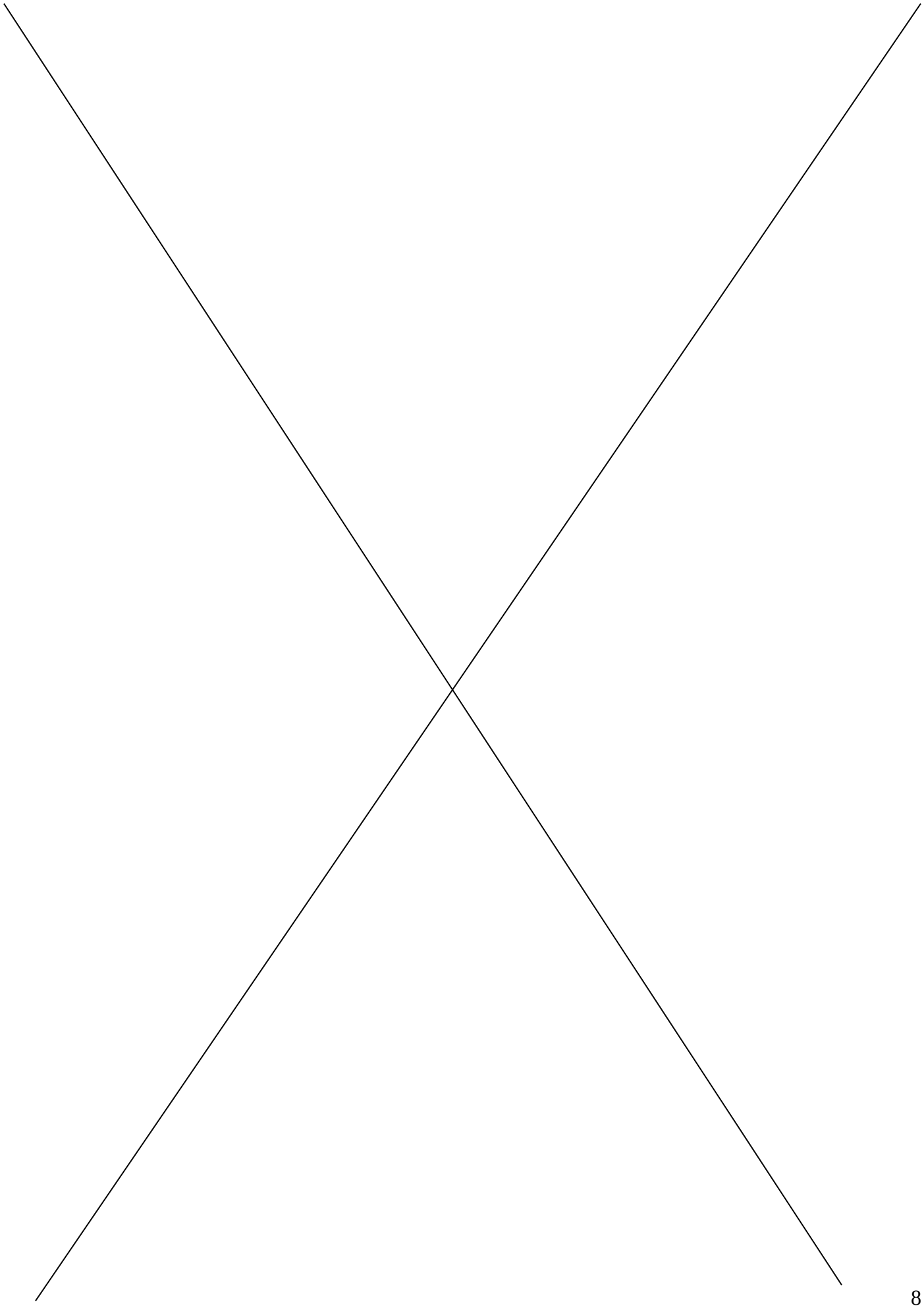
Quel micro-organisme est associé à l'ulcère gastrique ?

A. Yersinia pestis
B. Mycobacterium tuberculosis
C. Helicobacter pylori
D. Virus de la rougeole
E. Virus de la grippe

QCM 26 :

Parmi les animaux suivants, quel(s) est/sont celui/ceux qui est/sont généralement en cause dans le réassortiment du virus grippal ?

A. Le canard
B. Le chimpanzé
C. Le dromadaire
D. Le porc
E. La vache



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM n° 1

EPREUVE DE *UELC Histoire des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques*

DFGSP2 / DFGSP3
Année 2023/2024

Semestre automne
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS B

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : 30 minutes, comprenant 1 fascicule

Ce fascicule comprend :

- 26 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 pages numérotées de 1 à 7

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté de 1 à 7

UELC Histoire des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Nom(s) du(des) responsable(s)-enseignant(s) de l'UELC : A DOLEANS-JORDHEIM

QCM 1 :
Quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 :
Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est(sont) exacte(s) ?

A. C'est au XIX^{ème} S que la marquise de Brinvilliers, accusée d'assassinat, a été soumise à la Question : une méthode de torture utilisant, entre autres, le gavage à l'eau.
B. Les poisons de flèches utilisés en Europe étaient préparés à partir de l'Ellébore blanc.
C. L'épreuve du « M'Boundou » (Afrique équatoriale) doit sa toxicité à la présence de la digitaline dans ses graines.
D. Les cantharides (Lytta vesicatoria L.), utilisés par le Marquis de Sade, sont des insectes riches en strychnine, utilisée dans certains pays comme vérucide.
E. Parmi les ingrédients utilisés dans les cérémonies de zombification, le concombre-zombie est la capsule d'un Datura.

QCM 3 :
Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est(sont) exacte(s) :

A. Les pachycurares doivent leur nom au fait qu'ils aient été isolés d'une plante dont le vernaculaire signifie pied d'éléphant.
B. Dans le protocole lié à la cérémonie de zombification, le breuvage administré à la victime pour la ressusciter et ensuite la maintenir à l'état de zombi, est un extrait de datura.
C. Contrairement aux curares (destinés uniquement à la chasse), l'extrait de Mancenillier (Ipomea macinella, Euphorbiaceae) a été utilisé pendant la guerre contre les armées espagnoles en Amérique du Sud.
D. Pendant la Renaissance, les poisons utilisés par les Borgia étaient uniquement à base de plante.
E. Le diéthyleamide de l'acide lysergique est une molécule naturelle, isolée de l'ergot de seigle.

QCM 4 :
Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). Les inventaires après-décès d'apothicaires renseignent sur :

A. L'état de fortune des apothicaires.
B. Le contenu des réserves de la boutique de l'apothicaire.
C. Le contenu de la bibliothèque de l'apothicaire.
D. Le matériel du laboratoire de l'apothicaire.
E. La façon de s'habiller de l'apothicaire et de son épouse.

QCM 5 :
Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). Le premier texte régissant le commerce des médicaments en Occident :

A. Est la Loi du 31 Germinal An-XI.
B. Est la déclaration royale d'avril 1777.
C. Est incluse dans les Constitutions de Melfi de 1231.
D. Est le décret du baron d'Allarde.
E. Est le décret d'Eustache Livré.

QCM 6 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). L'examen d'accès à la maîtrise d'apothicaire :

A. Comportait une vérification de la connaissance du latin.
B. Comportait une vérification de la connaissance de l'anglais.
C. Comportait un Acte de Lecture.
D. Comportait un Acte des herbes.
E. Comportait la confection d'un chef-d'œuvre.

QCM 7 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La déclaration royale d'avril 1777 :

A. Créait le Collège de Pharmacie de Paris.
B. Supprimait les maîtres apothicaires.
C. Supprimait les examens.
D. Créait le titre de maître en Pharmacie.
E. Réservait la confection et la vente des médicaments aux maîtres en Pharmacie.

QCM 8 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La Loi du 21 Germinal An-XI :

A. Concernait l'enseignement de la médecine.
B. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie dans toutes les préfectures de France.
C. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie à Paris, Montpellier et Strasbourg.
D. Créait des Écoles spéciales de Pharmacie uniquement à Paris.
E. Confirmait le monopole pharmaceutique.

QCM 9 :

Indiquez la/les réponse(s) exacte(s). La chevrette :

A. Était munie d'une anse et d'un déversoir.
B. Pouvait contenir des huiles médicinales.
C. Pouvait contenir des miels et des mellites.
D. Pouvait contenir de sirops.
E. Pouvait contenir des drogues sèches.

QCM 10 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. Antoine Laurent de Lavoisier est un célèbre alchimiste ayant vécu au Moyen-Âge.
B. Antoine Laurent de Lavoisier a été un promoteur acharné de l'homéopathie.
C. Antoine Laurent de Lavoisier a établi en chimie la loi de conservation de la masse.
D. Antoine Laurent de Lavoisier a découvert les propriétés de l'eau de Javel.
E. Antoine Laurent de Lavoisier est à l'origine d'une nouvelle nomenclature chimique à la fin du XVIIIe siècle.

QCM 11 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. Le papyrus Ebers tient son nom de l'archéologue allemand Georg Ebers qui l'a découvert.
B. Le papyrus Ebers tient son nom du lieu où il a été découvert.
C. Le papyrus Ebers date d'environ 1550 ans avant J.C.
D. Le papyrus Ebers décrit l'utilisation de nombreux composés d'origine végétale et chimique.
E. Le papyrus Ebers date du XIXe siècle.

QCM 12 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. La première description « d'agents bactéricides » que l'on identifiera plus tard comme étant des bactériophages a été faite en 1896 par Hankin avec ses travaux sur les eaux de la Jumna et du Gange.
B. En 1917, d'Hérelle a émis l'hypothèse que ces agents capables de détruire les bactéries étaient des virus et les a appelés « bactériophages » après avoir observé des « trous » dans les cultures bactériennes.
C. Avant que la preuve ne soit apportée par la microscopie électronique, de nombreux scientifiques pensaient que les phénomènes de lyse bactérienne décrits par d'Hérelle étaient le fait de l'action d'enzymes et non de virus.
D. C'est l'utilisation de bactériophages qui a permis à Jacob, Monod et Lwoff (prix Nobel en 1965) de mettre en évidence le rôle de l'ARN messager comme transmetteur de l'information génétique chez *Escherichia coli*.
E. Les systèmes CRISPR, utilisés aujourd'hui dans de nombreux domaines, jouent un rôle primordial dans l'immunité dite « innée » des bactéries contre les bactériophages.

QCM 13 :

Parmi les propositions suivantes, laquelle (lesquelles) est (sont) exacte(s) ?

A. La toute première utilisation de bactériophages chez l'homme a été conduite par D'Hérelle pour traiter de jeunes patients souffrant du choléra.
B. Durant la seconde guerre mondiale, les bactériophages étaient utilisés pour traiter les soldats souffrant de la dysenterie.
C. En Europe occidentale, les bactériophages n'ont plus été utilisés pour traiter les infections bactériennes à la fin des années 40, peu après l'introduction de la pénicilline en clinique humaine.
D. Pour faire face à la résistance aux antibiotiques, la phagothérapie est de nouveau autorisée et pratiquée en France.
E. De nos jours, les bactériophages sont utilisés dans le process de production et de conditionnement de certains produits laitiers pour limiter le risque de contamination par *Listeria*.

QCM 14 :

Quelles sont les classifications des virus encore d'actualité aujourd'hui ?

A. Classification de Lwoff
B. Classification de Pasteur
C. Classification du Comité international de taxonomie des virus
D. Classification de Paris
E. Classification de Baltimore

QCM 15 :

Quelle invention est à l'origine de la découverte des virus ?

A. Le microscope électronique
B. La PCR
C. La culture sur organes ou tissus frais
D. Les filtres de Chamberland et de Kitasato
E. La pasteurisation

QCM 16 :

Concernant la grippe Espagnole, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Le virus à l'origine de la pandémie a été décrit à l'automne 1918.
B. La pandémie s'est déroulée en 3 vagues successives entre mars 1918 et début 1920.
C. La seconde vague épidémique qui a eu lieu à l'automne 1918 a été la plus meurtrière.
D. La grippe Espagnole a été à l'origine d'efforts importants de recherche permettant le développement des premiers vaccins antigrippe et de la mise en place des réseaux de surveillances internationaux.
E. La grippe Espagnole est la dernière pandémie connue avant la pandémie de SARS-CoV-2 en 2020.

QCM 17 :

Concernant la vaccination contre la variole, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Au cours du XX^{ème} siècle, la production de vaccin s'est majoritairement faite *via* des cultures cellulaires en laboratoire.
B. L'OMS a réalisé en 1958 une campagne d'éradication de la variole par la vaccination qui a permis l'éradication immédiate de ce pathogène.
C. Une stratégie de surveillance et d'endiguement a permis à l'OMS d'éradiquer la variole.
D. La variole circule encore aujourd'hui dans moins de 5 pays au Monde.
E. La vaccination contre la variole a été utilisée contre l'épidémie de Monkeypox qui a eu lieu au cours de l'été 2022.

QCM 18 :

Concernant Pasteur et la vaccination, quelle(s) est/sont la/les affirmation(s) exacte(s) ?

A. Les recherches de Pasteur ont commencé par l'étude de la rage.
B. L'atténuation des germes à l'origine de la vaccination pasteurienne a été découverte par hasard grâce au Dr Roux.
C. La démonstration publique de Pouilly le Fort a permis à Pasteur d'assurer l'efficacité et la sécurité de sa vaccination contre la rage.
D. La vaccination contre la rage est efficace que si elle est réalisée avant la contamination.
E. La vaccination de la faune sauvage contre la rage a permis l'élimination complète de la maladie en France.

QCM 19 :

Parmi les propositions suivantes, quelle(s) est/sont la/les réponse(s) exacte(s) ?

A. La notion de «mithridatisation» correspond à l'administration de petites doses de poison de manière à devenir résistant aux poisons.
B. Catherine de Médicis a été qualifiée de « reine empoisonneuse ».
C. L'empoisonnement politique était particulièrement utilisé au Moyen-Age.
D. Des poisons minéraux étaient déjà connus dans le monde antique.
E. L'Acqua Tofanna est un poison contenant principalement du phosphore blanc.

QCM 20 :

Parmi les propositions suivantes, quelle(s) est/sont la/les réponse(s) exacte(s) ?

A. C'est dans les années 1750, en Angleterre, que le premier usage déclaré de tests chimiques pour détecter un poison dans un procès criminel est rapporté.
B. C'est suite aux expertises toxicologiques d'Orfila que Marie Lafarge sera définitivement condamnée.
C. Au Moyen-Age, les cornes de divers animaux étaient utilisées pour détecter les poisons.
D. Au XXème siècle, l'insuline a été utilisée à plusieurs reprises pour éliminer des dissidents soviétiques.
E. La technique de Marsch a été utilisée pour détecter la digitaline.

QCM 21 :

Les anciens ingénieurs romains construisaient dans la mesure du possible leurs villes sur des sites élevés. Cette précaution était destinée à se prémunir d'une maladie infectieuse, laquelle ?

A. La peste
B. La lèpre
C. Le paludisme
D. La légionellose
E. La syphilis

QCM 22 :

Quelle(s) est (sont) la ou les maladie(s) infectieuse(s) qui ont été éradiquées de la surface de la planète ?

A. La lèpre
B. La variole
C. La peste
D. La poliomyélite
E. La peste bovine

QCM 23 :

Quel micro-organisme est associé à l'ulcère gastrique ?

A. Yersinia pestis
B. Mycobacterium tuberculosis
C. Helicobacter pylori
D. Virus de la rougeole
E. Virus de la grippe

QCM 24 :

Parmi les animaux suivants, quel(s) est/sont celui/ceux qui est/sont généralement en cause dans le réassortiment du virus grippal ?

A. Le canard
B. Le chimpanzé
C. Le dromadaire
D. Le porc
E. La vache

QCM 25 :

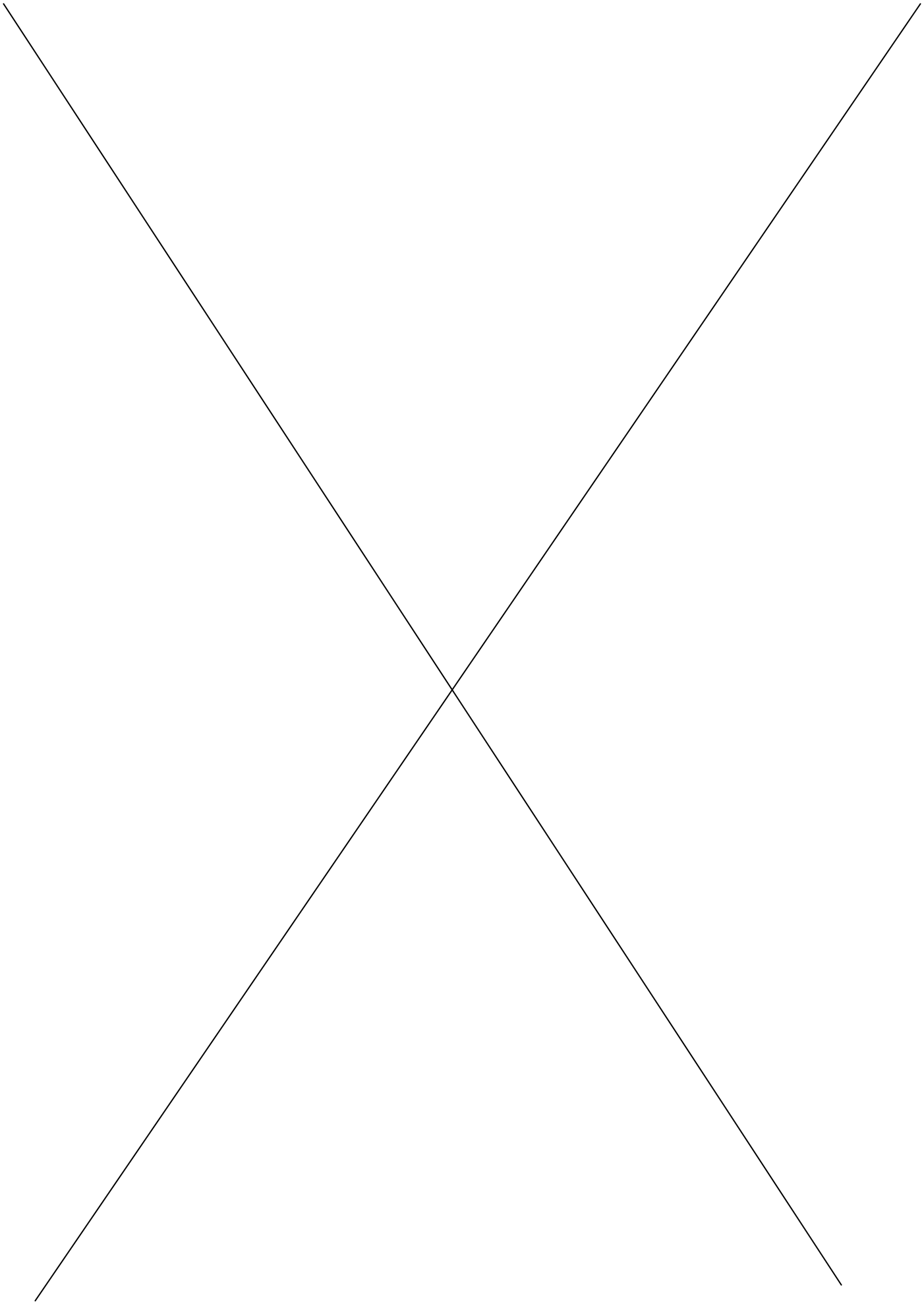
Quelle entreprise a regroupé la plupart des entreprises pharmaceutiques à partir des années 1960 ?

A. La Pharmacie Centrale de France
B. Dausse
C. Menier
D. Roussel
E. Sanofi

QCM 26 :

Qu'est-ce que la loi de 1941 a créé ? (Plusieurs réponses sont attendues)

A. Les écoles de pharmacie
B. Les spécialités pharmaceutiques
C. La pharmacopée française
D. Le monopole pharmaceutique
E. Le contrôle de la publicité



Examen d'analyse session 1, UELC "ingénieur 1"

Jeudi 11 janvier 2024

L'examen dure 2h
Le sujet comporte 9 exercices sur 2 pages
Le polycopié de cours et la calculatrice sont autorisés
Les réponses doivent être justifiées

Exercice 1

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x, y) = 2x$
Soit C la courbe constituée par les trois parties de courbes C_1, C_2 et C_3 définies de la façon suivante :

- C_1 est le quart de cercle entre les points $(0, 0)$ et $(1, 1)$ (cercle de centre $(1, 0)$ et de rayon 1),
- C_2 est la portion de parabole d'équation $y = x^2$ entre les points $(1, 1)$ et $(2, 4)$
- C_3 est la portion de droite horizontale entre les points $(2, 4)$ et $(4, 4)$

Questions :

- Représenter graphiquement le chemin C
- Calculer $\int_C f(x, y)ds$ (s étant l'abscisse curviligne)

Exercice 2

Soit les vecteurs $\vec{V_1}$ et $\vec{V_2}$ dont les composantes dans la base $(\vec{i}, \vec{j}, \vec{k})$ sont les suivantes : $\vec{V_1} = (1;\ 0;\ 2)$ et $\vec{V_2} = (1;\ 2;\ 0)$

- Calculer $\vec{V_1}.\vec{V_2}$
- Calculer $\vec{V_1} \wedge \vec{V_2}$
- Soit la base $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{w})$ définie de la façon suivante :

$$\begin{cases} \vec{u} &= 2\vec{j} \\ \vec{v} &= \vec{k} \\ \vec{w} &= 2\vec{i} \end{cases}$$

  Donner les composantes de $\vec{V_1}$ dans la base $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{w})$

Exercice 3

Soit U la fonction de $\mathbb{R}^3$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $U(x, y, z) = y \ln x + xz^2$

- Calculer $div(\overrightarrow{grad}(U))$
- Aurait-on pu trouver le résultat autrement ?

Exercice 4

On souhaite calculer le volume V du quart de cylindre délimité supérieurement par la surface d'équation $f(x,y) = xy(2+x^2)$ et inférieurement par le quart de disque supérieur droit d'équation : $x^2 + y^2 = 1$
Calculer le volume V

Exercice 5

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^3$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante :
$f(x,y,z) = x\sin^2 z + ye^{2x}$
Soit $D = \{(x,y,z)/\ 0 \leqslant x \leqslant 1,\ 0 \leqslant y \leqslant 1\ \ et\ \ 0 \leqslant z \leqslant \pi\}$.
Calculer $\iiint_D f(x,y,z)dxdydz$

Exercice 6

Soit y une fonction de t dérivable sur $\mathbb{R}$.
Soit l'équation différentielle suivante : $y' + \cos(2t) \times y = 4\cos(2t)$

- Donner les caractéristiques de cette équation différentielle
- Déterminer la solution générale de cette équation différentielle
- Déterminer la solution de cette équation avec prise en compte de la condition initiale suivante : $y(0) = 6$

Exercice 7

Soit f la fonction définie de la façon suivante :

$$f(x) = \frac{1-\cos(2x)}{x \times \ln(1+x^2)}$$

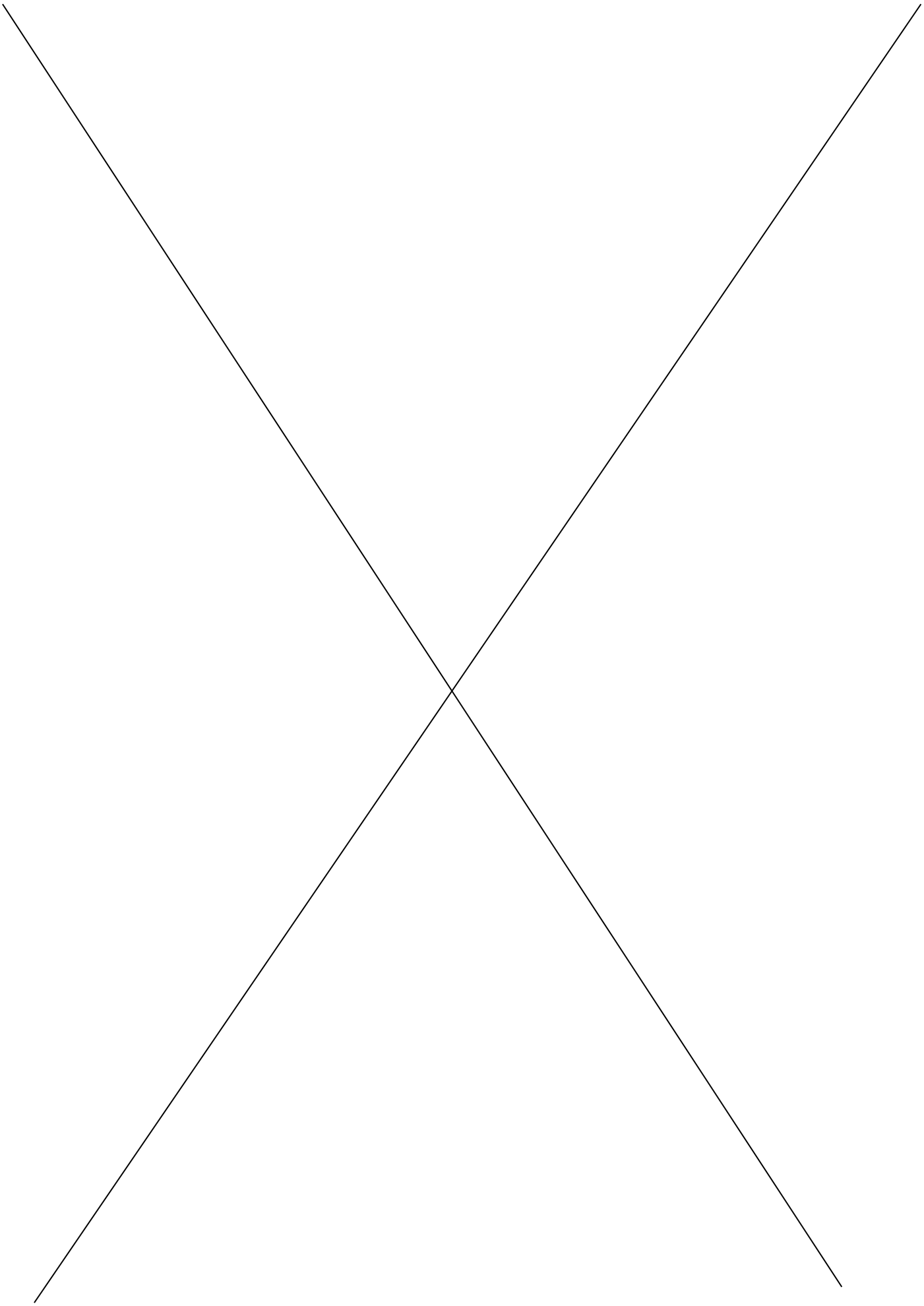
Calculer $\lim\limits_{x\to 0} f(x)$

Exercice 8

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x,y) = \frac{x^3}{3} + y^2 + 2xy + 2$
Indiquer si cette fonction comporte un (ou des) extremum(s) local(aux) et si elle comporte un (ou des) point(s) selle(s).

Exercice 9

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x,y) = 3y^2x^3 + 2yx + 3$
On pose $z = f(x,y)$.
Calculer $\dfrac{dz}{dt}$ en $t = 0$ pour $x = \sin t$ et $y = e^{2t}$



Examen d'analyse session 1, UELC "ingénieur 1"

Jeudi 11 janvier 2024

L'examen dure 2h
Le sujet comporte 9 exercices sur 2 pages
Le polycopié de cours et la calculatrice sont autorisés
Les réponses doivent être justifiées

Exercice 1

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x, y) = 2x$
Soit C la courbe constituée par les trois parties de courbes C_1, C_2 et C_3 définies de la façon suivante :

- C_1 est le quart de cercle entre les points $(0, 0)$ et $(1, 1)$ (cercle de centre $(1, 0)$ et de rayon 1),
- C_2 est la portion de parabole d'équation $y = x^2$ entre les points $(1, 1)$ et $(2, 4)$
- C_3 est la portion de droite horizontale entre les points $(2, 4)$ et $(4, 4)$

Questions :

- Représenter graphiquement le chemin C
- Calculer $\int_C f(x, y)ds$ (s étant l'abscisse curviligne)

Exercice 2

Soit les vecteurs $\vec{V_1}$ et $\vec{V_2}$ dont les composantes dans la base $(\vec{i}, \vec{j}, \vec{k})$ sont les suivantes : $\vec{V_1} = (1;\ 0;\ 2)$ et $\vec{V_2} = (1;\ 2;\ 0)$

- Calculer $\vec{V_1}.\vec{V_2}$
- Calculer $\vec{V_1} \wedge \vec{V_2}$
- Soit la base $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{w})$ définie de la façon suivante :

$$\begin{cases} \vec{u} &= 2\vec{j} \\ \vec{v} &= \vec{k} \\ \vec{w} &= 2\vec{i} \end{cases}$$

  Donner les composantes de $\vec{V_1}$ dans la base $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{w})$

Exercice 3

Soit U la fonction de $\mathbb{R}^3$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $U(x, y, z) = y \ln x + xz^2$

- Calculer $div(\overrightarrow{grad}(U))$
- Aurait-on pu trouver le résultat autrement ?

Exercice 4

On souhaite calculer le volume V du quart de cylindre délimité supérieurement par la surface d'équation $f(x,y) = xy(2+x^2)$ et inférieurement par le quart de disque supérieur droit d'équation : $x^2 + y^2 = 1$
Calculer le volume V

Exercice 5

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^3$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante :
$f(x,y,z) = x\sin^2 z + ye^{2x}$
Soit $D = \{(x,y,z)/\ 0 \leqslant x \leqslant 1,\ 0 \leqslant y \leqslant 1\ \ et\ \ 0 \leqslant z \leqslant \pi\}$.
Calculer $\iiint_D f(x,y,z)dxdydz$

Exercice 6

Soit y une fonction de t dérivable sur $\mathbb{R}$.
Soit l'équation différentielle suivante : $y' + \cos(2t) \times y = 4\cos(2t)$

- Donner les caractéristiques de cette équation différentielle
- Déterminer la solution générale de cette équation différentielle
- Déterminer la solution de cette équation avec prise en compte de la condition initiale suivante : $y(0) = 6$

Exercice 7

Soit f la fonction définie de la façon suivante :

$$f(x) = \frac{1-\cos(2x)}{x \times \ln(1+x^2)}$$

Calculer $\lim\limits_{x\to 0} f(x)$

Exercice 8

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x,y) = \frac{x^3}{3} + y^2 + 2xy + 2$
Indiquer si cette fonction comporte un (ou des) extremum(s) local(aux) et si elle comporte un (ou des) point(s) selle(s).

Exercice 9

Soit f la fonction de $\mathbb{R}^2$ dans $\mathbb{R}$ définie de la façon suivante : $f(x,y) = 3y^2x^3 + 2yx + 3$
On pose $z = f(x,y)$.
Calculer $\dfrac{dz}{dt}$ en $t = 0$ pour $x = \sin t$ et $y = e^{2t}$

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 1 »

Année 2023 / 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

- sujet comportant 2 pages (9 exercices)
- copie comportant 14 pages vierges pour les réponses (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que cette copie comportait 16 pages et que le sujet comportait 2 pages

UELC « ingénieur 1 », Analyse
M-A Dronne

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 1 »

Année 2023 / 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

- sujet comportant 2 pages (9 exercices)
- copie comportant 14 pages vierges pour les réponses (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que cette copie comportait 16 pages et que le sujet comportait 2 pages

UELC « ingénieur 1 », Analyse
M-A Dronne

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UECL ingénieur 1***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC ingénieur 1*

Année 2023/ 2024

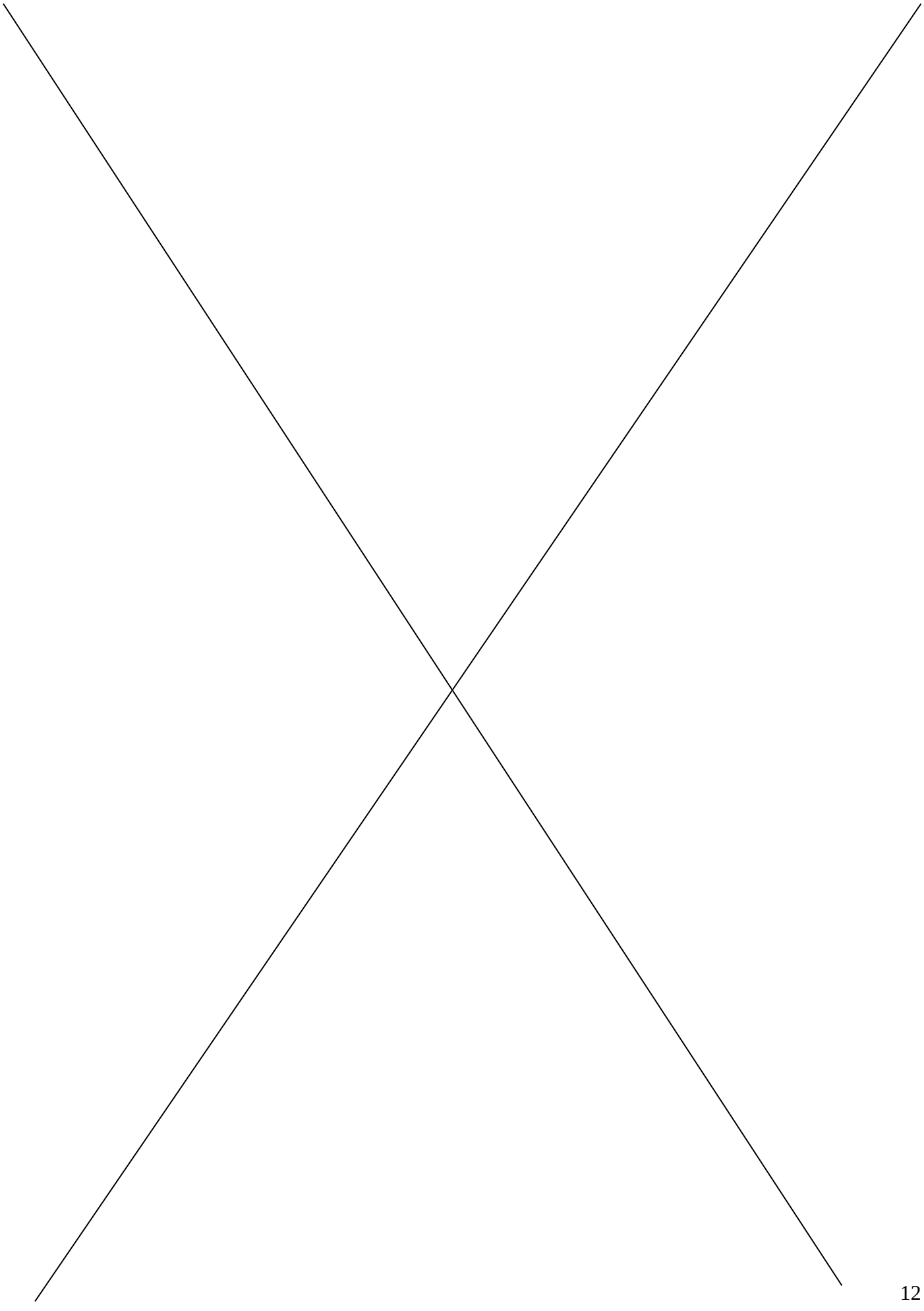
semestre Automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Calculatrice : Toutes les calculatrices sont autorisées.
Aucun document

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 12 pages numérotées de 1 à 12

Thermodynamique
Cyril Pailler-Mattei



2ème année de Pharmacie, UELC Ingénieur 1
Thermodynamique
Session 1

L. Heinrich-Balard & C. Pailler-Mattei

jeudi 11 janvier 2024

Durée de l'examen : 2h
Le sujet comporte 3 exercices
Aucun document autorisé, toutes calculatrices autorisées
La qualité de la rédaction sera prise en compte dans la notation

Exercice 1 : Dilatation isobare

Soit un gaz quelconque dont les variables pression p, volume ϑ et température T vérifient, pour **une mole**, l'équation suivante :

$$p\,(\vartheta - b) = RT \tag{1}$$

avec b et R des constantes.

Une mole de ce gaz subit une dilatation isobare, en passant de l'état 1, caractérisé par sa pression $p_1 = 1,61 \times 10^6$ Pa, sa température $T_1 = 110$ K, son volume $\vartheta_1 =$ 0,60 L, à l'état 2 caractérisé par sa pression p_2, sa température T_2 et son volume $\vartheta_2 = 2\vartheta_1$.

On rappelle que le coefficient de dilatation isobare α est tel que : $\alpha = \dfrac{1}{\vartheta}\left(\dfrac{\partial \vartheta}{\partial T}\right)_p$.

On donne R=8,3 J.mol^{-1}.K^{-1}.

1- L'équation (1) est-elle une équation d'état ? **Vous justifierez votre réponse**.

2- Quelles sont les valeurs de p_2 et T_2 ? Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

3- Donnez l'expression du coefficient de dilatation isobare, α, en fonction de R, T, b et p.

4- Calculez α lorsque le gaz est dans l'état final 2. Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

5- Que vaudrait α pour un gaz parfait dans le même état final 2 ? Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

Exercice 2 : Transformation cyclique d'un gaz parfait

Soit n moles d'un gaz parfait monoatomique de coefficient adiabatique $\gamma = 5/3$, subissant, lors d'un cycle, les transformations réversibles suivantes : chauffage isochore entre A et B, puis détente isobare entre B et C, refroidissement isochore entre C et D et compression isotherme entre D et A.
On donne : n= 2 moles, ϑ_A=2 L, $p_A = 8 \times 10^5$ Pa, T_B = 150 K, T_C = 275 K, où p_i représente la pression à l'état i, ϑ_i le volume à l'état i et T_i la température à l'état i.
On notera R la constante des gaz parfaits, telle que R=8,3 J.mol^{-1}.K^{-1}.

1- Représentez ce cycle dans un diagramme de Clapeyron (**justifiez votre réponse**)
2- Que valent T_A, ϑ_B, p_B, p_C, ϑ_C, T_D, ϑ_D, p_D ?
3- Que vaut la variation d'énergie interne ΔU au cours de ce cycle ?
4- Calculez le travail échangé sur chacune des branches de ce cycle.
5- En déduire le travail total échangé lors du cycle. Ce cycle est-il moteur ou récepteur ?
6- Quel est le transfert thermique (quantité de chaleur) échangé lors de ce cycle ?
7- Quelle est la variation d'énergie interne ΔU_{AC} lorsque le système passe de l'état A à l'état C ?
8- Quel est le transfert thermique (quantité de chaleur) échangé lors de la transformation BC ?

Exercice 3 : Efficacité du cycle de Beau de Rochas

Le moteur à explosion a été inventé au XIX^e siécle par Beau de Rochas. Le moteur à explosion est un moteur à combustion interne dont l'allumage est commandé et réalisé grâce à des bougies (éclateurs produisant des étincelles). Schématiquement, on fait subir à une mole de mélange (air + carburant), supposée se comporter comme un gaz parfait, un cycle constitué de deux adiabatiques et de deux isochores. Ce cycle est appellé cycle Beau de Rochas.
Le cycle Beau de Rochas est représenté sur le diagramme de Clapeyron ci-après.

- AB et CD adiabatiques réversibles
- BC et DA isochores

On notera T_A, T_B, T_C et T_D les températures du système thermodynamique (air + carburant) respectivement en A, B, C et D.

1- Donner les expressions des transferts thermique Q_{BC} et Q_{DA} le long des transformations BC et DA en fonction de T_A, T_B, T_C, T_D et C_ϑ la capacité thermique à volume constant.
2- Donner l'expression de l'efficacité η de ce cycle moteur en fonction de T_A, T_B, T_C et T_D.

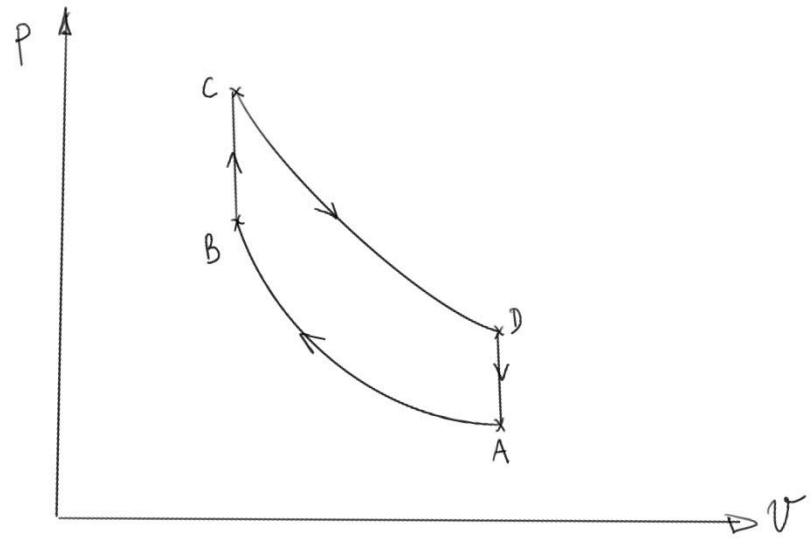
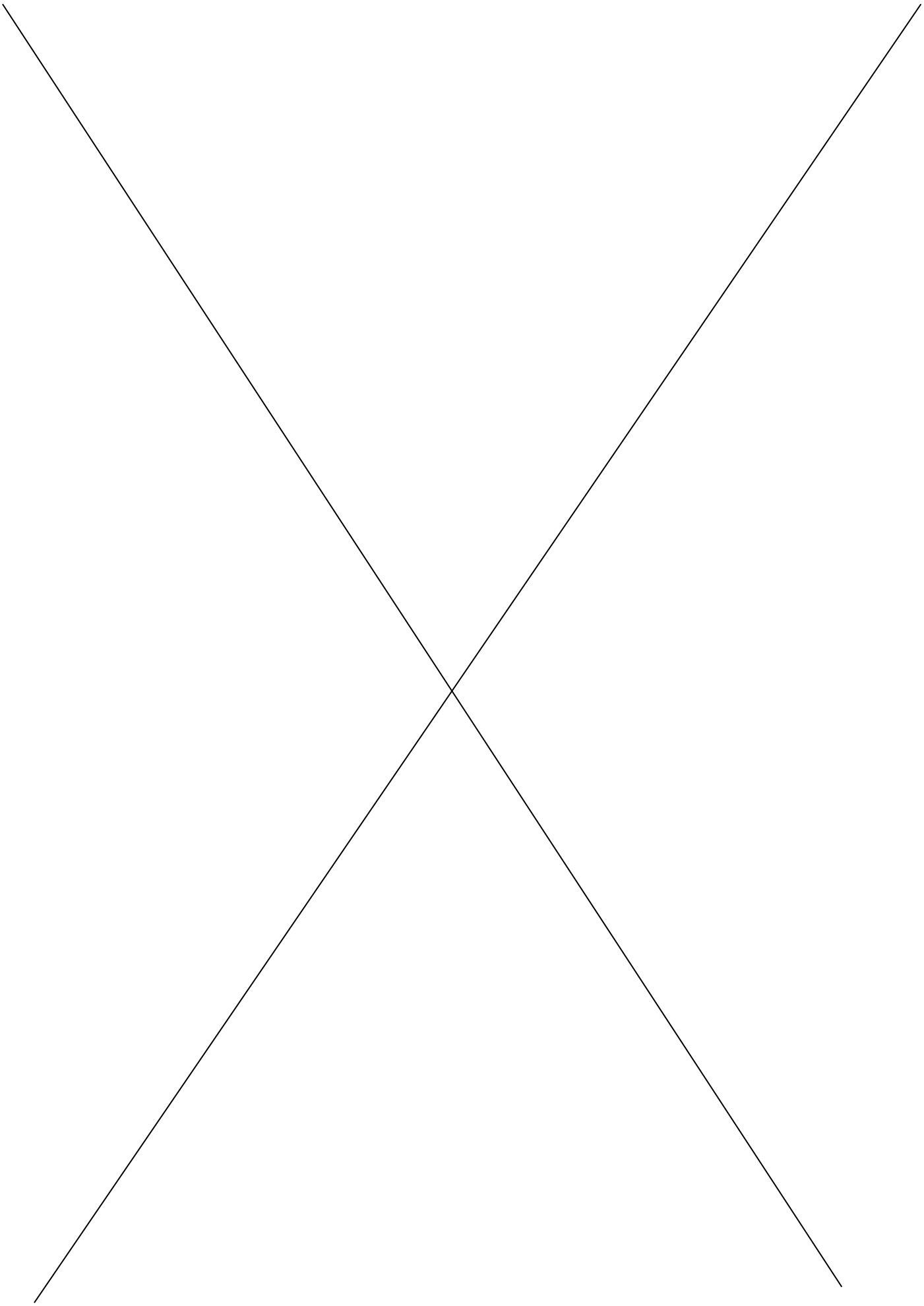


FIGURE 1 – *Diagramme de Clapeyron du cycle Beau de Rochas.*



Université Claude Bernard Lyon 1
UV Ingénieurs-Pharmaciens-4A **janvier 2024**

Nom : **Prénom :** **Numéro de carte d'étudiant :**

Contrôle final de « Thermodynamique de l'Ingénieur ». Durée : 2 heures. Tous documents autorisés. Composer sur l'énoncé.

Dans l'article Vijaya Kumar *et al*. (1996), Activity coefficient and excess Gibbs free energies of allyl alcohol with trichlorethylene, *Thermochimica Acta*, *287*, 7-11 sont reportés des résultats concernant les propriétés de la solution liquide binaire alcool allylique (composé 1) – trichloréthylène (composé 2). La pression et la composition de la phase liquide étant fixées, les auteurs ont mesuré la température d'ébullition du liquide, c'est à dire la température d'apparition de la première bulle de vapeur. Ils ont aussi calculé les valeurs des coefficients d'activité. Les données rassemblées dans le Tableau I concernent une composition fixe de la phase liquide pour plusieurs pressions et températures d'ébullition. On trouve aussi dans ce tableau $P_{lv,i}$, les pressions d'équilibre liquide-vapeur des corps purs à la température mesurée.

P^{exp} (mmHg)	T (K)	x_1 (fraction molaire dans le liquide)	γ_1	γ_2	$P_{lv,1}$ (mmHg)	$P_{lv,2}$ (mmHg)	P^{th} (mmHg)	Δg^e (J.mol^{-1})
200	320,35	0,5516	1,2866	1,6532	83,1	192,3	******	******
500	343,15	0,5516	1,2760	1,6156	258,8	441,2		
705	352,85	0,5516	1,2717	1,6009	390,4	605,5	******	******

Tableau I : données extraites de Vijaya Kumar *et al*. (1996), *Thermochimica Acta*, *287*, 7-11

a) Donner l'expression de la quantité $\frac{\Delta g^e}{RT}$ où Δg^e est l'enthalpie libre molaire d'excès. Compléter le Tableau I pour P^{exp} = 500 mmHg.

Réponses : $\frac{\Delta g^e}{RT}$ = et valeur de Δg^e dans le Tableau I

b) Exprimer les conditions générales d'équilibre liquide – vapeur des composés 1 et 2.

Réponse :

c) Quel modèle peut-on retenir pour la phase vapeur ? Justifier.

Réponse :

d) La convention symétrique est-elle applicable à la phase liquide ?
Démarche :

Réponse :

e) Exprimer les conditions d'équilibre pour les composés 1 et 2 compte tenu des réponses aux questions c) et d).
Réponse : composé 1 : composé 2 :

f) A partir des résultats de la question e) exprimer P^{th}, la pression théorique correspondant au point d'ébullition et compléter le Tableau I pour P^{exp} = 500 mmHg. Conclusion.
Démarche :

Réponse : expression de P^{th} : P^{th} = et valeur de P^{th} dans le Tableau I

Conclusion :

A l'aide des données disponibles dans l'article en référence, on a tracé les figures 1 et 2 représentant $Ln(\gamma_i)$ en fonction de $\frac{1}{T}$ à composition du liquide fixée.

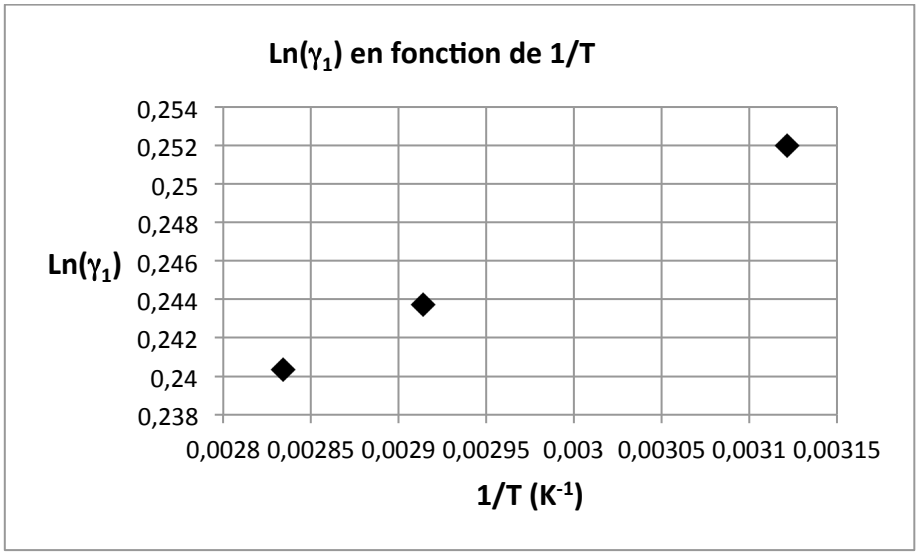


Figure 1 : composé 1

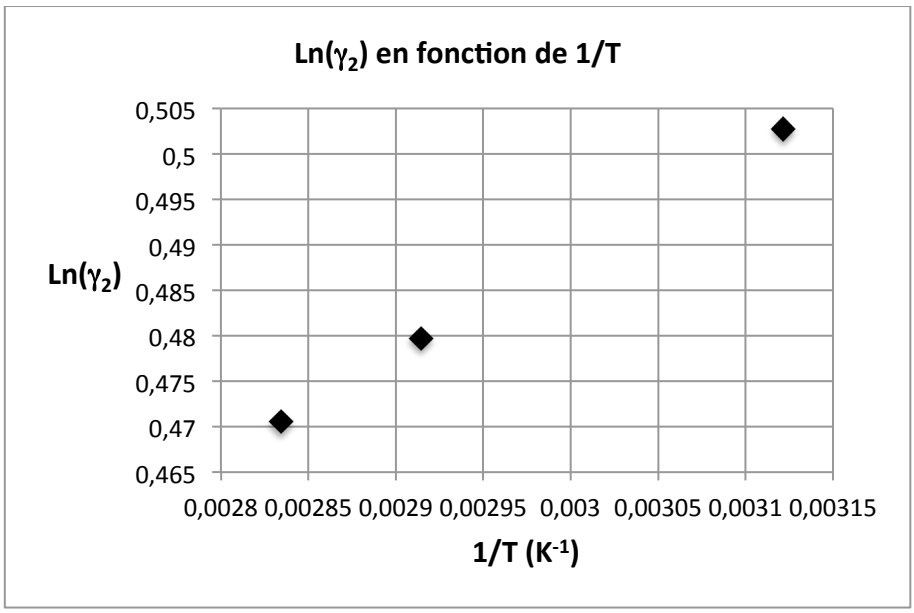


Figure 2 : composé 2

g) En précisant l'hypothèse adoptée, déterminer les enthalpies partielles molaires d'excès Δh_i^e des deux constituants dans la phase liquide. Les figures servent uniquement à justifier les hypothèses adoptées.

On pourra utiliser les valeurs disponibles dans le Tableau I pour faire les calculs.
Démarche :

Réponse : $\Delta h_1^e =$ $\Delta h_2^e =$

h) A partir de la définition du potentiel chimique d'excès $\Delta\mu_i^e$, en déduire les entropies partielles molaires d'excès Δs_i^e des deux constituants dans la phase liquide à $T = 343{,}15$ K.
Démarche :

Réponse : $\Delta s_1^e =$ $\Delta s_2^e =$

On considère le bouilleur représenté figure 3 fonctionnant en régime permanent.

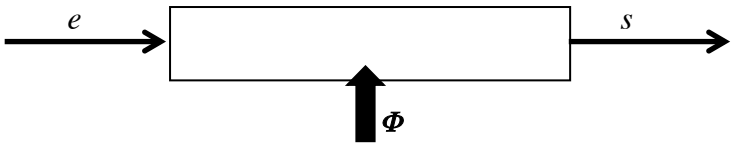


Figure 3 : schéma d'un bouilleur

Cet échangeur de chaleur fonctionne à une pression de $P = 705$ mmHg et est alimenté par un flux liquide à une température inférieure à sa température d'ébullition.

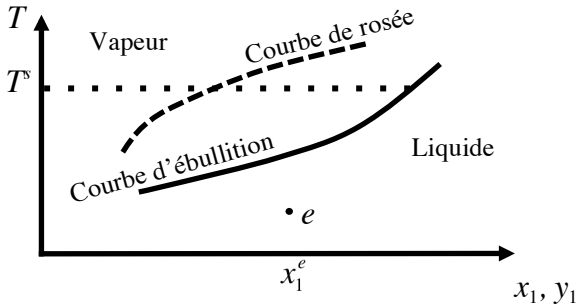


Figure 4 : configuration des phases dans l'échangeur

Le débit molaire à l'entrée est $F^e = 20$ mol.s^{-1} pour une fraction molaire en composé 1 de $x_1^e = 0{,}45$. L'échangeur reçoit un flux de chaleur Φ tel que le flux de matière en sortie s est diphasique, constitué

d'un flux de vapeur *v* de débit V^s et d'un flux de liquide *l* de débit L^s, ces deux phases étant supposées à l'équilibre thermodynamique à la température de $T^s = 352{,}85$ K .

i) La figure 4 représente schématiquement la configuration des phases dans l'échangeur. Placer sur cette figure les points représentatifs des flux *s*, *v* et *l*.

Réponse : sur la figure 4

j) Quelle est la valeur de x_1^s, la fraction molaire de composé 1 dans le liquide en sortie ? Calculer y_1^s, la fraction molaire de composé 1 dans la vapeur en sortie.
Démarche :

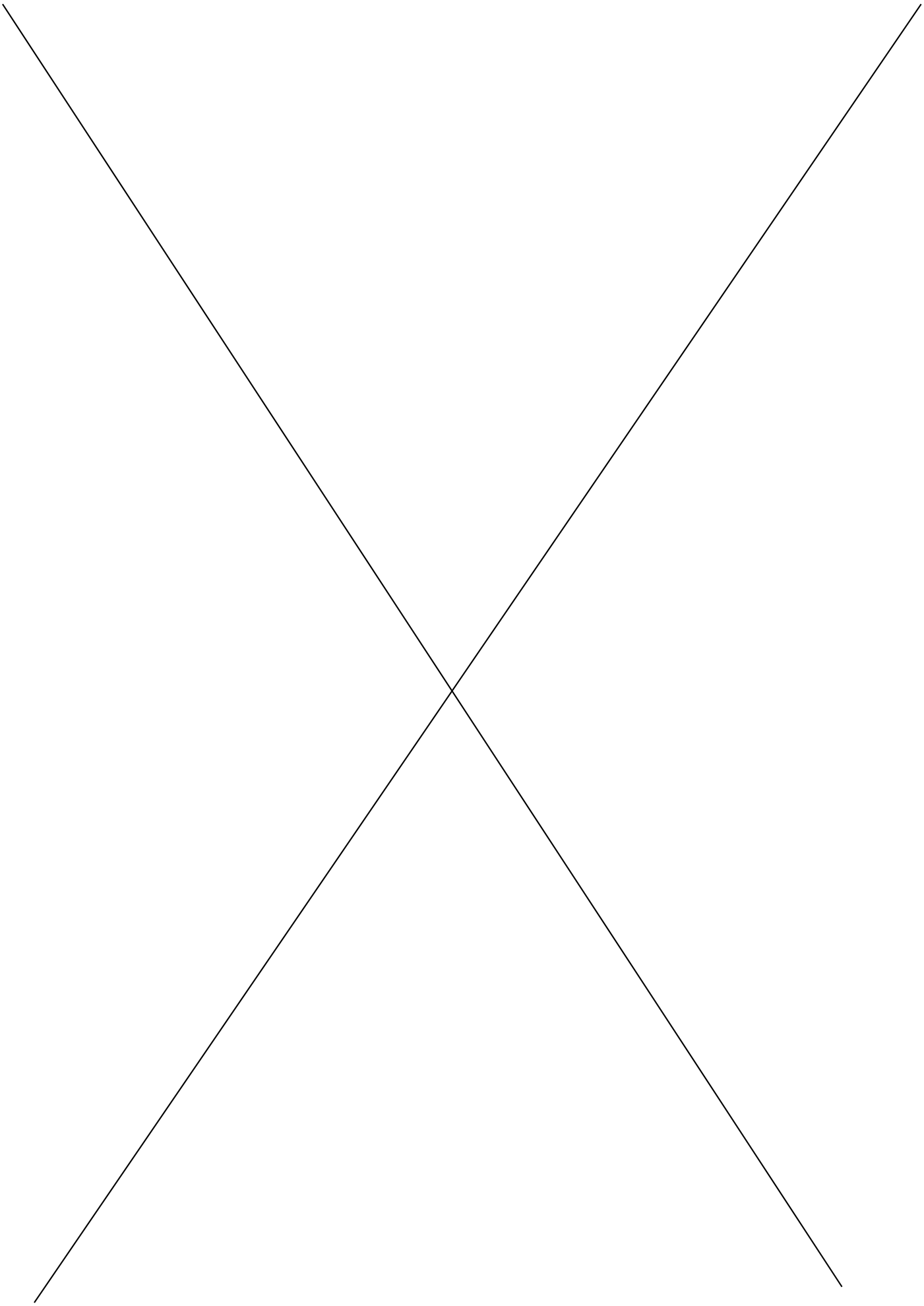
Réponse : $x_1^s =$ $y_1^s =$

k) Calculer les débits molaires V^s et L^s.
Démarche :

Réponse : $V^s =$ $L^s =$

Rappels et propriétés :

- $R = 8{,}314$ J.mol^{-1}.K^{-1} ;
- $\left(\frac{\partial Ln\gamma_i}{\partial\left(\frac{1}{T}\right)}\right) = \frac{\Delta h_i^e}{R}$ où Δh_i^e est l'enthalpie partielle molaire d'excès du composé *i* ;
- on néglige l'influence de la pression sur les propriétés des phases liquides.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice de Chimie analytique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Correcteur : Lars Petter Jordheim

UELC Préparation internat 1
Nom du responsable : Magali Larger

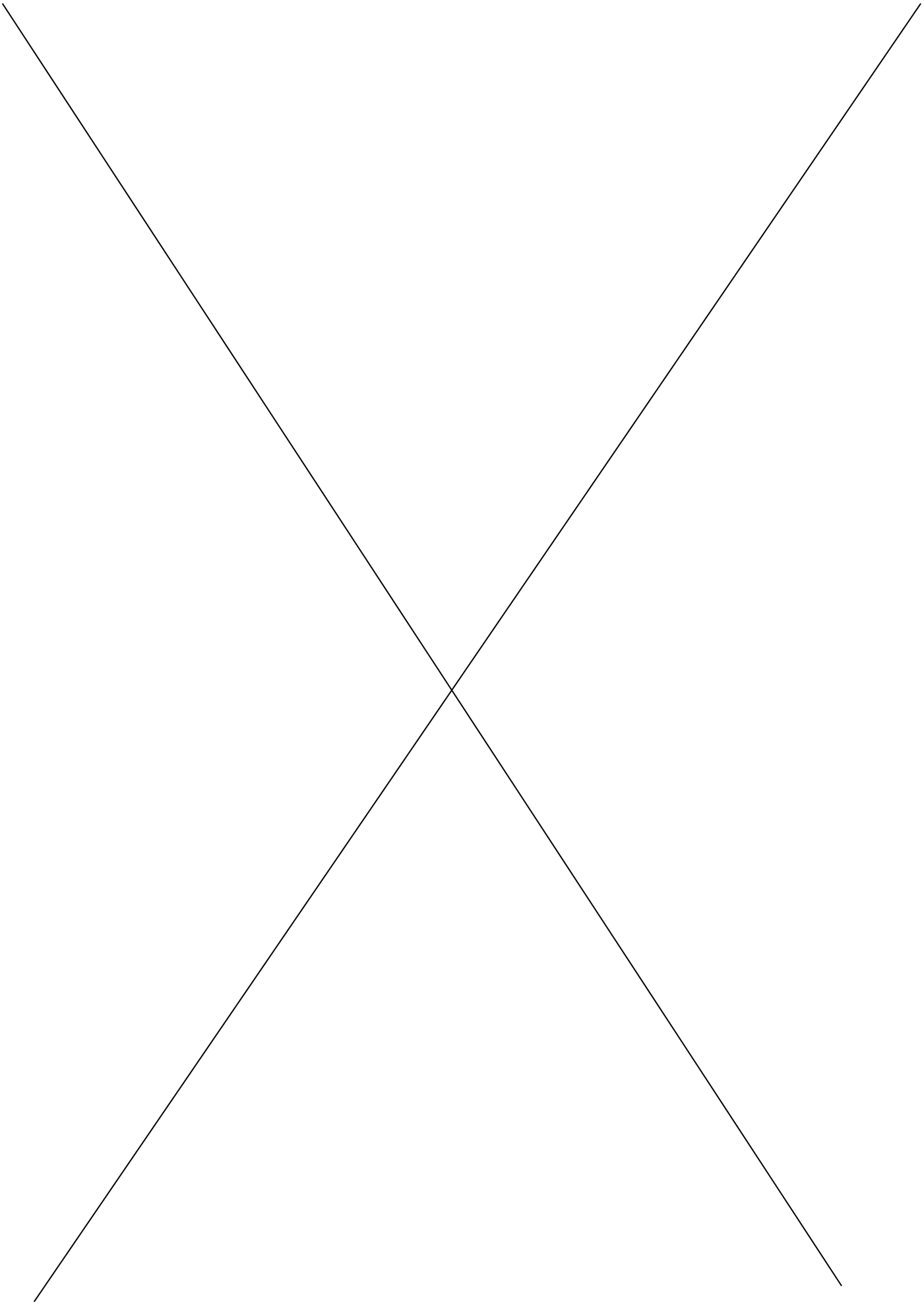
Vous avez une solution aqueuse d'acide propanoïque à 0,45 mol/L.

Question 1. Calculer le pH de la solution

Question 2. On mélange 50 mL de cette solution avec 20 mL de KOH à 0,5 mol/L. Calculer le pH de la solution obtenue.

Données :

- Masse molaire de l'acide propanoïque: 74 g/mol
- pKa ($C_3H_6O_2/C_3H_5O_2^-$) : 4,9



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 2

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 exercice de Biophysique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Correcteur : Sophie Lancelot

UELC Préparation internat 1
Nom du responsable : Magali Larger

Le carbone 11, dont le numéro atomique est 6, est un radionucléide qui présente un excès de protons et se désintègre en bore 11 (^{11}B). Cet élément perd 20% de son activité en 6,563 minutes.

On donne
$N_A = 6{,}02.10^{23}$ mol^{-1}
m (^{11}C) = 11,01143260 u
m (^{11}B) = 11,0093054 u
1 u = 931,5 MeV/c^2

Question 1. Calculer la constante radioactive, la période et la durée de vie moyenne de ce radionucléide.

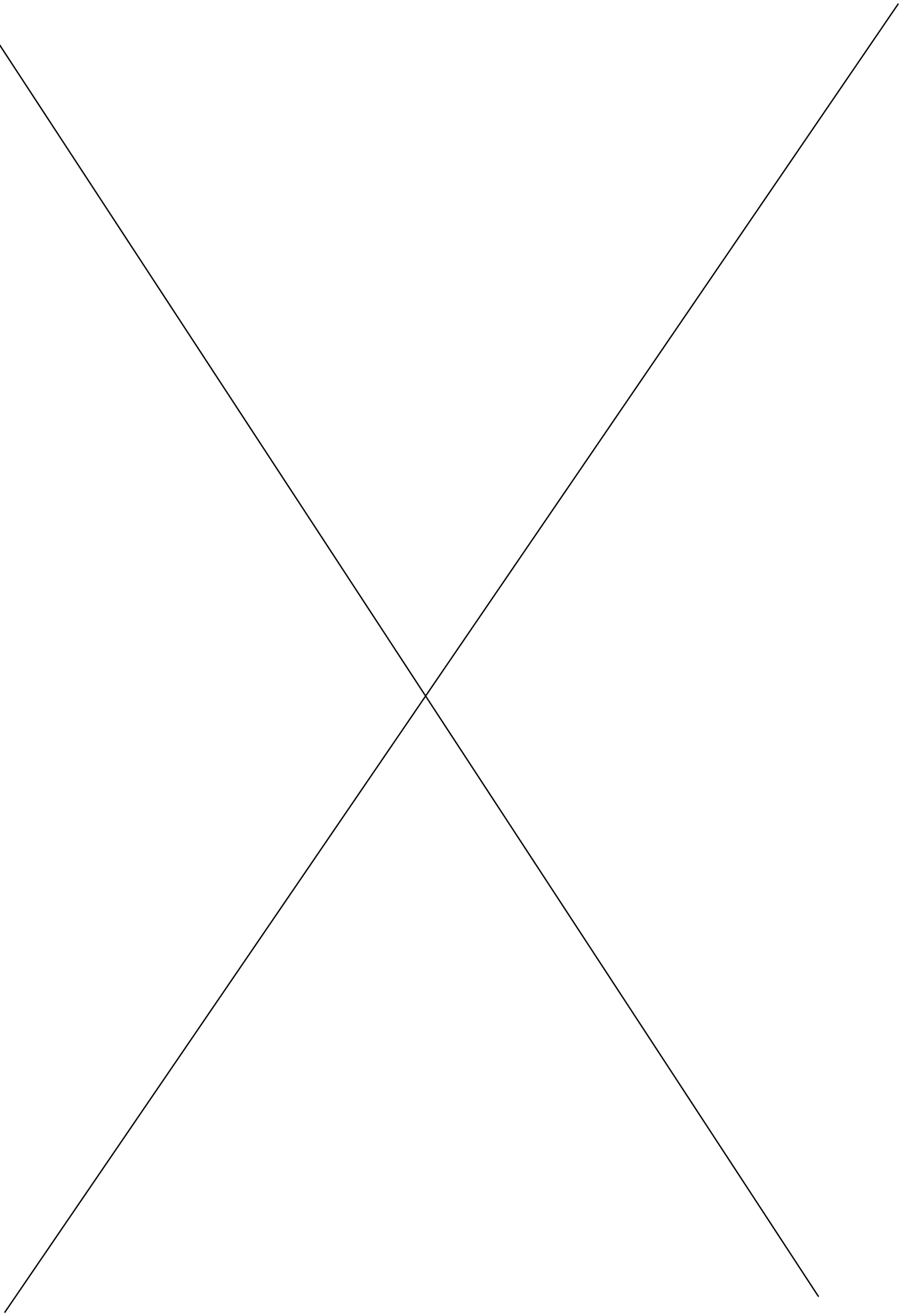
Question 2. Quelle(s) est(sont) le(s) type(s) de désintégration nucléaire du ^{11}C ? Justifiez votre réponse et écrivez l'(les) équation(s) de désintégration correspondante(s).

Question 3. Calculer, en GBq, l'activité d'une mole d'atomes de ^{11}C.

Question 4. La méthionine, de formule brute $C_5H_{11}NO_2S$, peut être marquée avec du ^{11}C. Quelle est l'activité molaire maximale qu'il est possible d'obtenir ?

Question 5. Si l'activité molaire de la méthionine obtenue est de $2{,}0468.10^{13}$ $GBq.mol^{-1}$, quel est le rendement de marquage ?

Question 6. On injecte de la méthionine marquée au ^{11}C à un patient. La dose préparée par le radiopharmacien est de 300 MBq. Quelle sera la masse de ^{11}C injectée au patient s'il reçoit son injection 10 minutes après sa préparation ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 3

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice d'Enzymologie

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

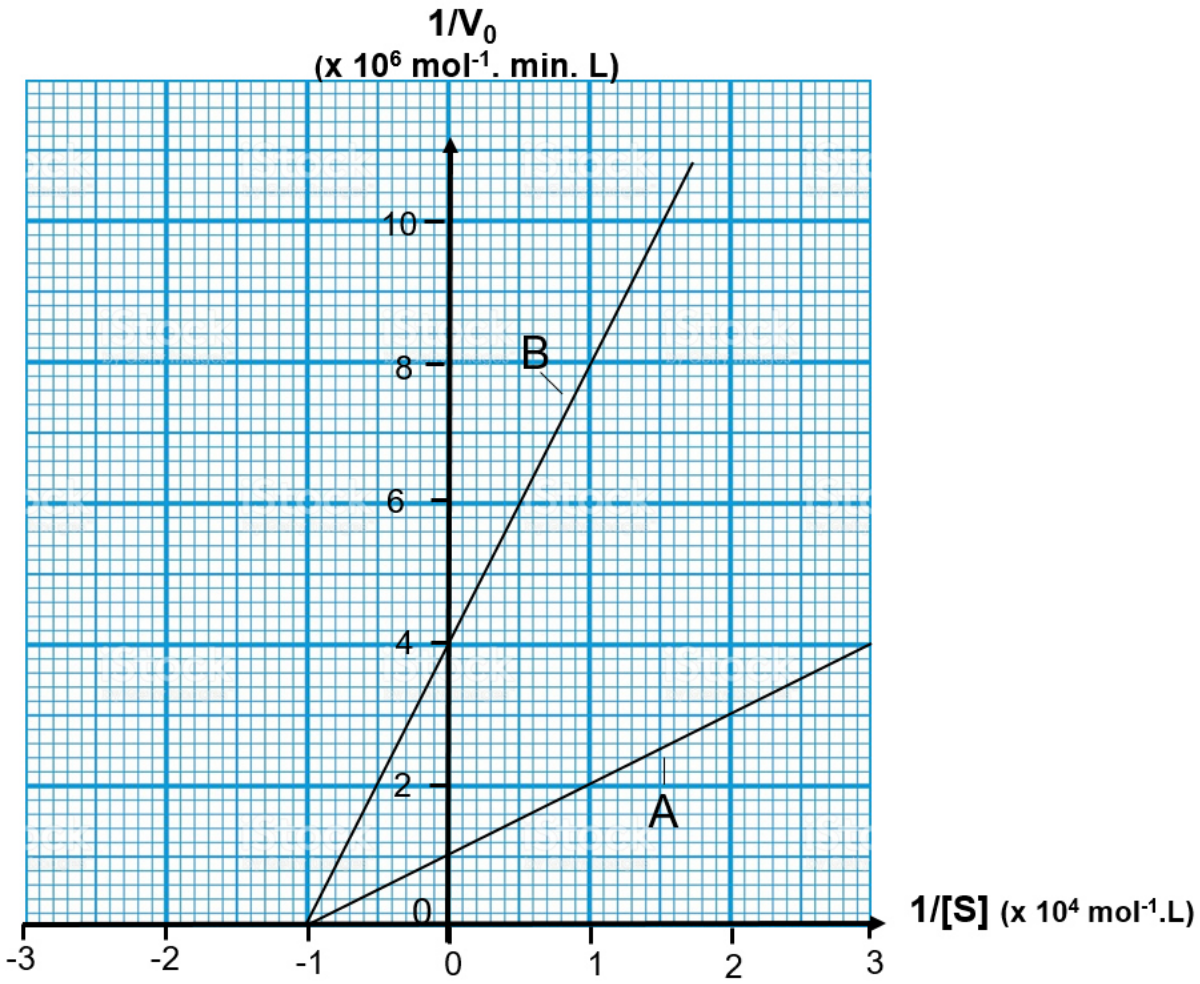
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Correcteur : Karim Chikh

UELC Préparation internat 1
Nom du responsable : Magali Larger

La droite A est une représentation des variations de la vitesse initiale d'une réaction catalysée par une enzyme E en présence de concentrations variables de son substrat S, les autres conditions opératoires étant parfaitement définies.

La droite B est une représentation des variations de la vitesse initiale de la même réaction dans les mêmes conditions opératoires mais en présence d'un inhibiteur I dont la concentration est de 6. 10^{-5} M.



Question n° 1 : Calculer la valeur de la constante de Michaelis (Km) du couple enzyme-substrat.

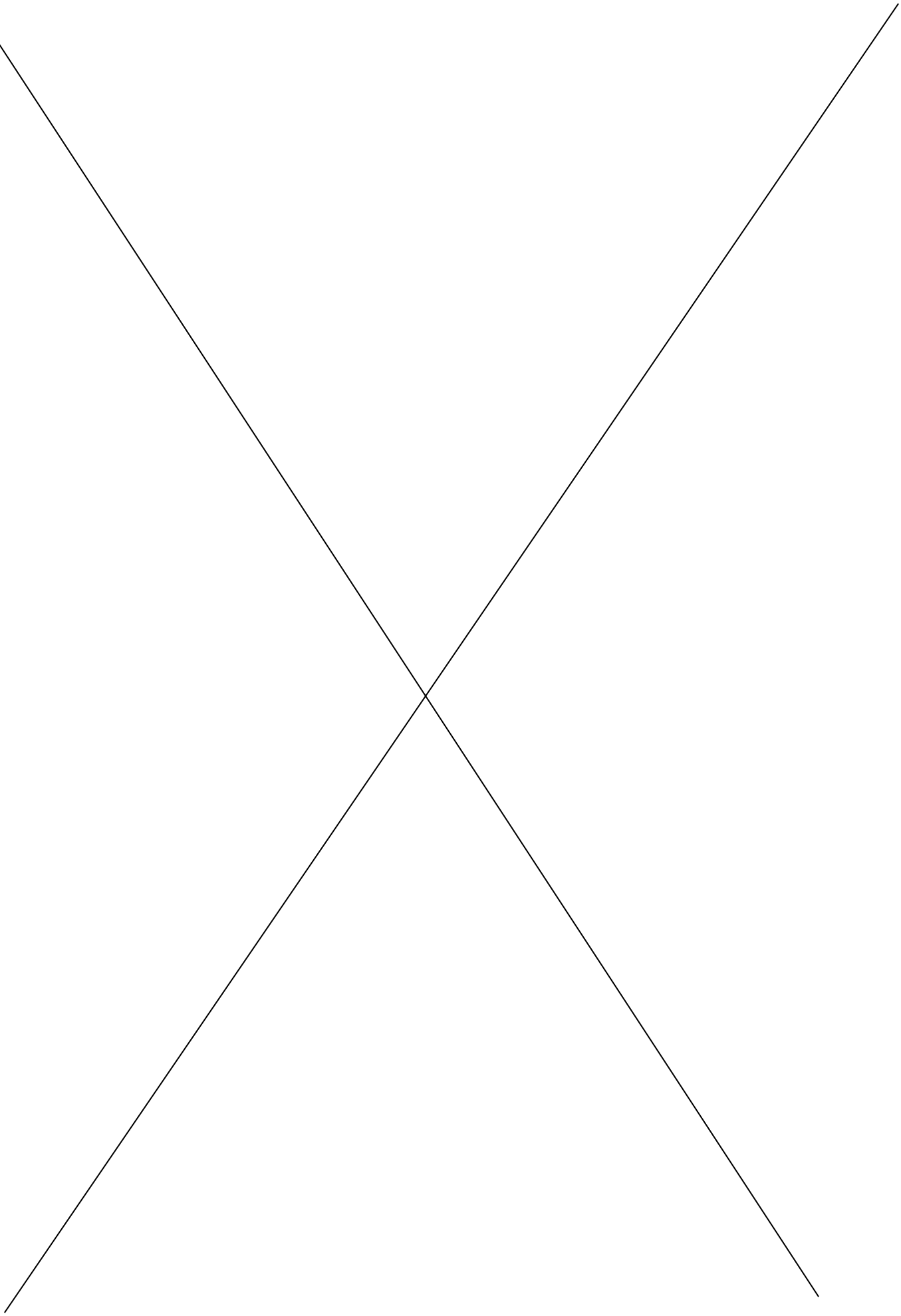
Question n° 2 : Calculer la valeur de la vitesse initiale maximale (Vmax).

Question n° 3 : Calculer la valeur de la constante de Michaelis apparente (Km app) du couple enzyme-substrat en présence de l'inhibiteur I à 6. 10^{-5} M.

Question n° 4 : Calculer la valeur de la vitesse initiale maximale apparente (Vmax app) en présence de l'inhibiteur I à 6. 10^{-5} M.

Question n° 5 : Quel est le type d'inhibition le plus probable ? (Justifier votre réponse)

Question n° 6 : Calculer la constante d'inhibition Ki de ce couple inhibiteur-enzyme.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n° 4

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 1 exercice de Pharmacocinétique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

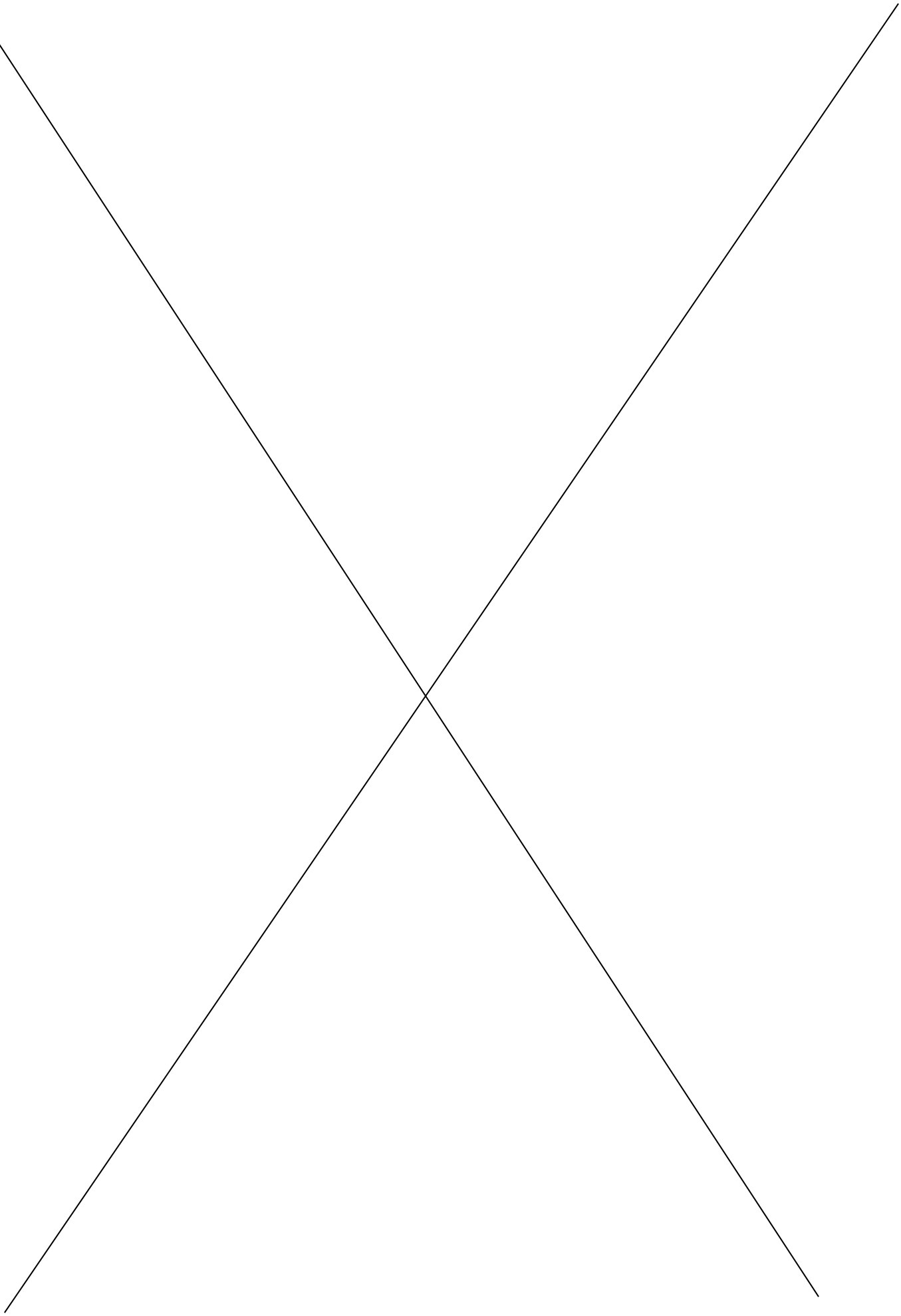
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Correcteur : Magali Larger

UELC Préparation internat 1
Nom du responsable : Magali Larger

Un antibiotique est administré par voie intraveineuse bolus à la dose de 100 mg à un homme de 72 kg. Les concentrations plasmatiques 2 heures et 5 heures après l'administration sont de 1,2 et 0,3 mg/L respectivement. La cinétique suit un modèle à un compartiment. Le médicament est lié à 15% aux protéines plasmatiques. Le débit sanguin hépatique du patient est de 72 L/h.
Les urines du patient ont été recueillies pendant 12 heures. 40 mg de médicament ont été retrouvés sous forme inchangée dans les urines.

Question 1. Montrer que la demi-vie du médicament est de 1,5 heures.
Question 2. Calculer la concentration 4 heures après l'administration.
Question 3. Calculer le volume de distribution.
Question 4 : Déterminer la biodisponibilité.
Question 5 : Calculer la clairance totale.
Question 6 : Le temps de recueil des urines est-il suffisant ? Justifier votre réponse.
Question 7. Calculer la clairance rénale.
Question 8. Déterminer le mécanisme d'excrétion rénale sachant que la clairance de la créatinine du patient est de 90 mL/min.
Question 9. De quel(s) paramètre(s) dépend la clairance hépatique de cet antibiotique ? Justifier votre réponse.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 1

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 5

UELC3 Préparation à l'internat
Responsables-enseignants de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : Lars Jordheim

Vous avez une solution aqueuse d'acide citrique ($C_6H_8O_7$) à 96 g/L.

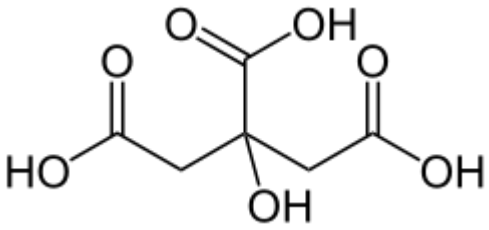
a) Calculer le pH de la solution

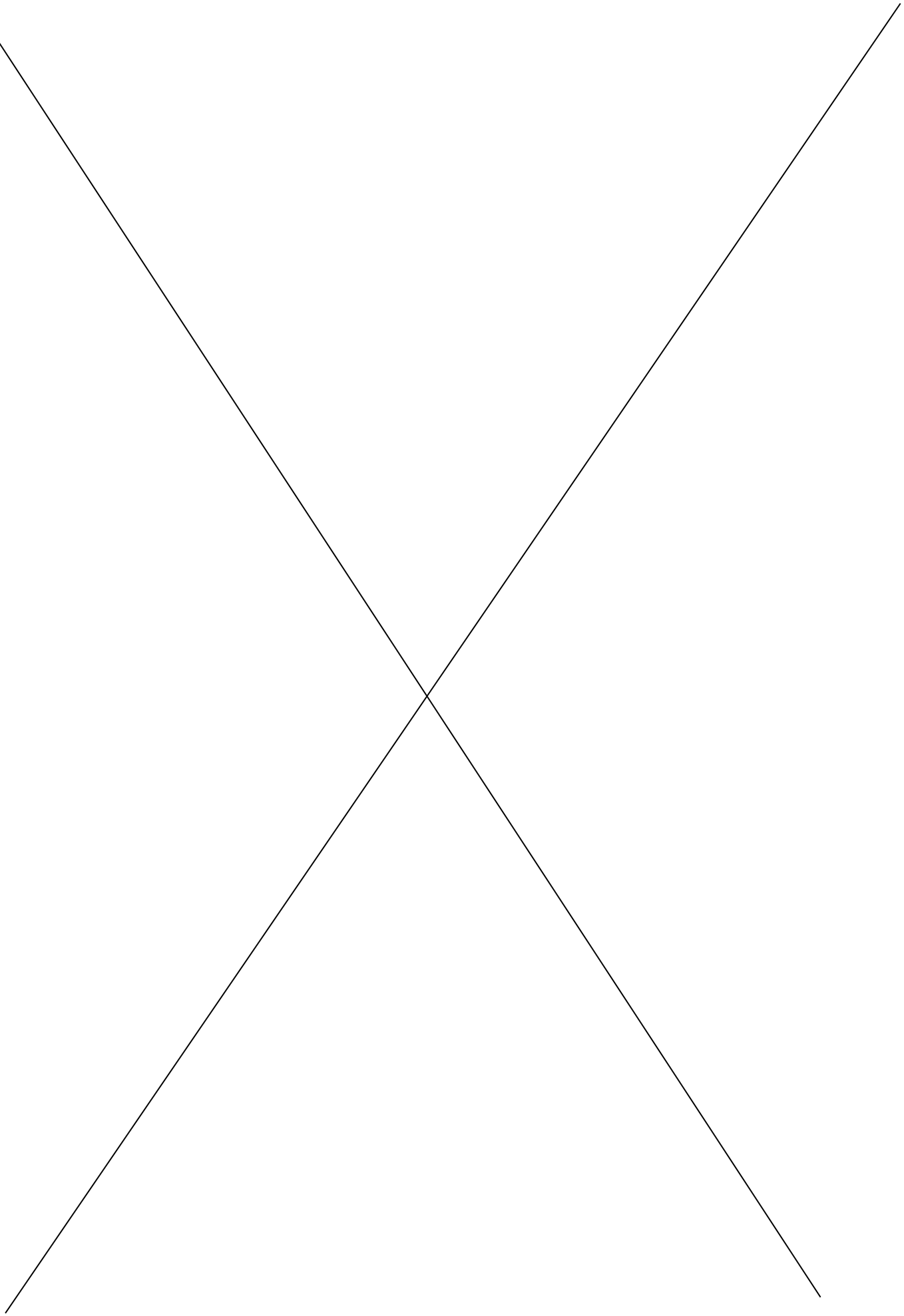
On mélange 15 mL de cette solution avec 40 mL de KOH à 0,5 mol/L

b) Calculer le pH de la solution obtenue
c) Quel est la molarité de la solution obtenue :
d) Quel est l'osmolarité de la solution obtenue :

Données :

- Masse molaire de l'acide citrique : 192 g/mol
- pKa ($C_6H_8O_7/C_6H_7O_7^-/C_6H_6O_7^{2-}/C_6H_5O_7^{3-}$) : 3,1 / 4,8 / 6,4
- Formule développée de l'acide citrique :





Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 1

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 5

UELC3 Préparation à l'internat
Responsables-enseignants de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : Lars Jordheim

Vous avez une solution aqueuse d'acide citrique ($C_6H_8O_7$) à 96 g/L.

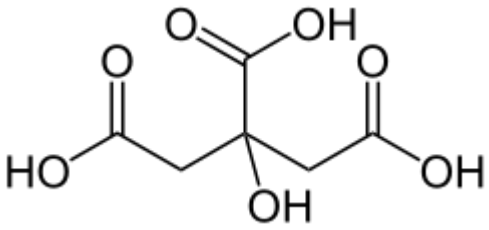
a) Calculer le pH de la solution

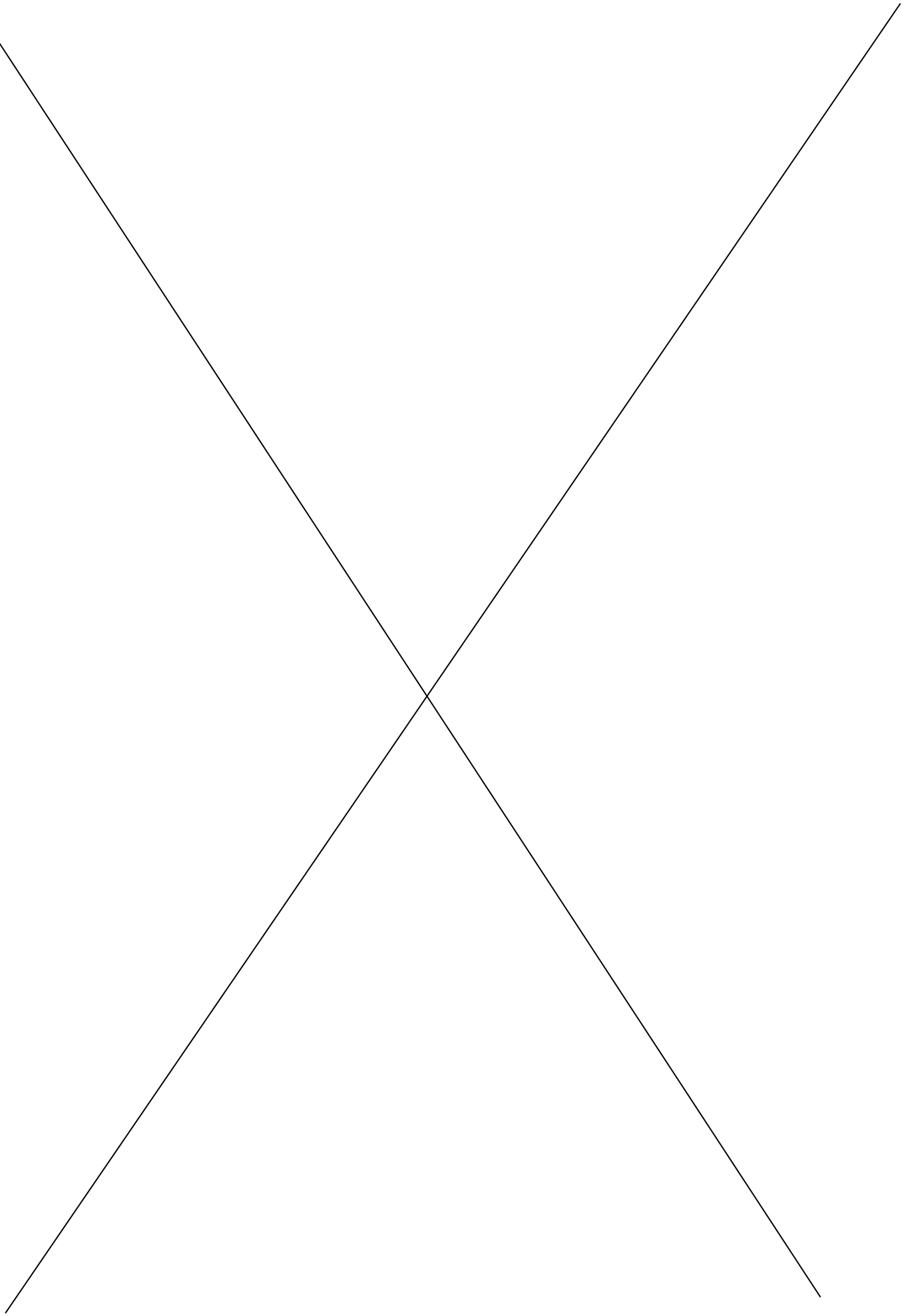
On mélange 15 mL de cette solution avec 40 mL de KOH à 0,5 mol/L

b) Calculer le pH de la solution obtenue
c) Quel est la molarité de la solution obtenue :
d) Quel est l'osmolarité de la solution obtenue :

Données :

- Masse molaire de l'acide citrique : 192 g/mol
- pKa ($C_6H_8O_7/C_6H_7O_7^-/C_6H_6O_7^{2-}/C_6H_5O_7^{3-}$) : 3,1 / 4,8 / 6,4
- Formule développée de l'acide citrique :





Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 2

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 5

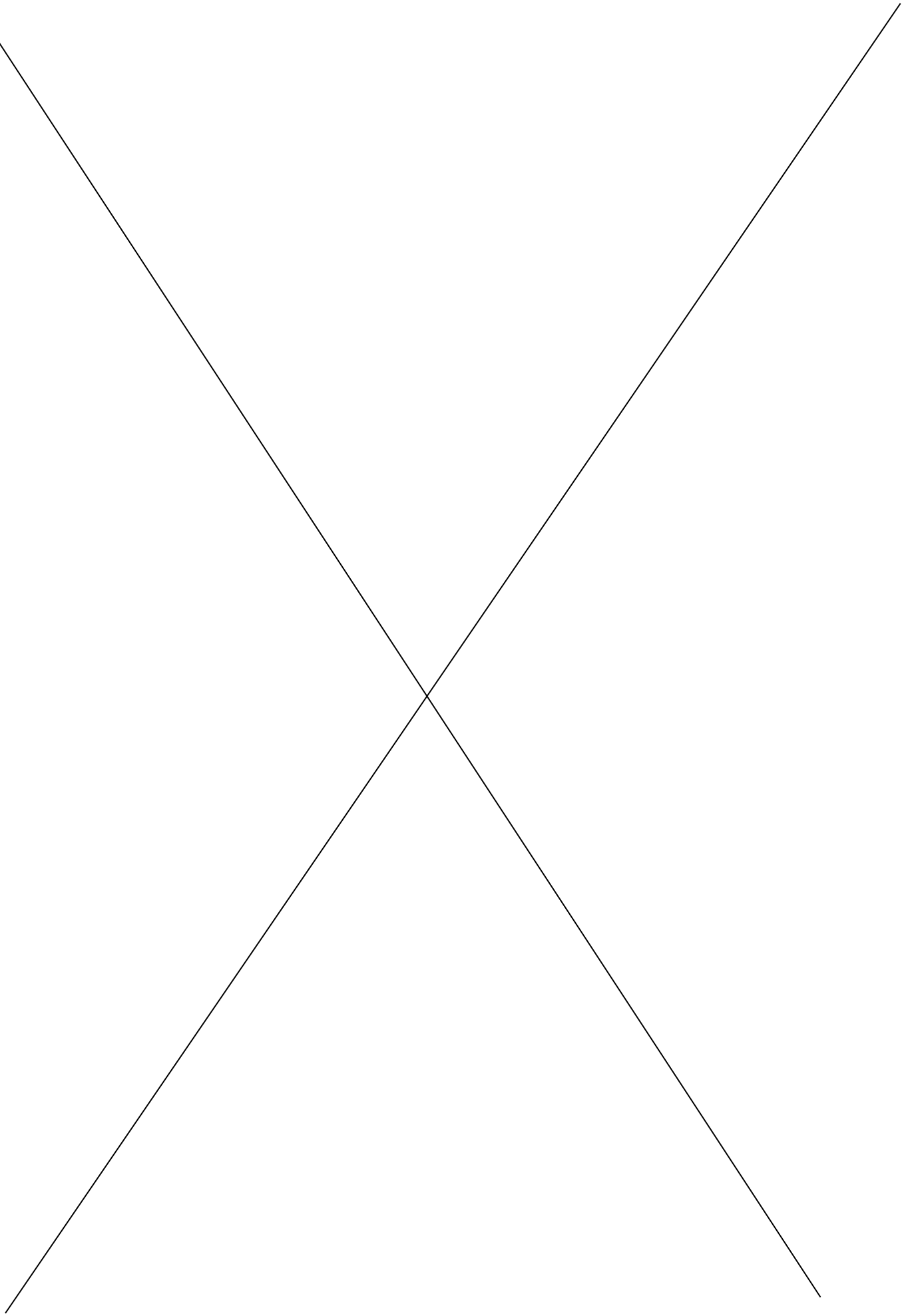
UELC3 Préparation à l'internat
Responsables-enseignants de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : Magali Bolon

Un médicament est administré par perfusion intraveineuse à la vitesse de 10 mg/h pendant 30 minutes. Deux heures et dix heures après la fin de la perfusion, les concentrations plasmatiques retrouvées sont de 0,163 et 0,003 mg/L respectivement. Le médicament suit une cinétique monocompartimentale. La liaison aux protéines plasmatiques de ce médicament est de 20%.

Question 1. Calculer la constante d'élimination du médicament.
Question 2. Calculer la demi vie d'élimination du médicament.
Question 3. Calculer la concentration à la fin de la perfusion.
Question 4. Calculer la clairance totale du médicament.
Question 5. Calculer le volume de distribution du médicament.

Après administration de ce même médicament par voie intraveineuse bolus à la dose de 100 mg, la quantité de principe actif retrouvée sous forme inchangée dans les urines est de 40mg.
Question 6. Quel est le mécanisme d'excrétion rénale du médicament chez ce patient dont la clairance de la créatinine est de 90 mL/min. Justifier votre réponse.
Question 7. De quel(s) facteur(s) dépend la clairance hépatique ? Justifier votre réponse.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 3

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 6

UELC3 Préparation à l'internat
Responsables-enseignants de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : David Kryza

Le gallium 68 (^{68}Ga) est un radionucléide émetteur de positons, utilisé dans le marquage de nombreux peptides pour l'imagerie tumorale en Médecine nucléaire. Il est obtenu à l'aide d'un générateur d'isotope par filiation radioactive à partir du germanium 68 (^{68}Ge). On considère que les conditions d'équilibre séculaire sont satisfaites : constante radioactive du ^{68}Ge négligeable devant celle du ^{68}Ga ($\lambda_1 << \lambda_2$).

Données :

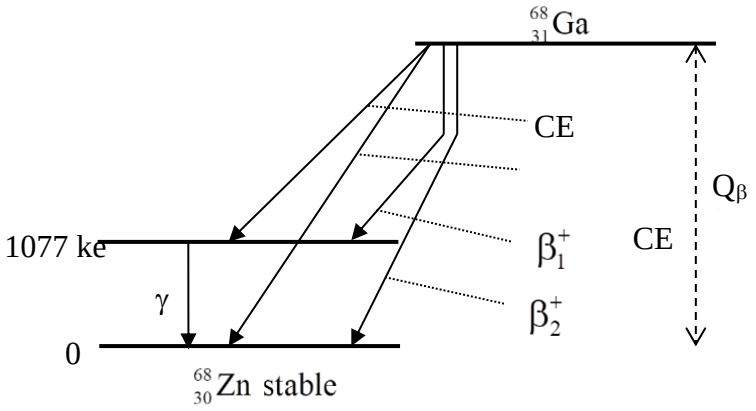
- constante d'Avogadro : $N_A = 6{,}02.10^{23}$ mol^{-1}
- équivalent énergétique de l'unité de masse atomique : 1 u = 931,5 MeV/c^2
- masse des atomes : $M(^{68}_{31}\text{Ga}) = 67{,}927980$ u et $M(^{68}_{30}\text{Zn}) = 67{,}924848$ u
- masse de l'électron : $m_e = 0{,}511$ MeV/c^2
- périodes radioactives : $T_1 = 271$ jours pour le germanium 68 et $T_2 = 68$ min pour le gallium 68

Question 1 :

a) Le germanium 68 est préparé par bombardement d'une cible par des particules alpha selon la réaction suivante : $^{A}_{Z}\text{X} + \alpha \rightarrow {}^{68}_{32}\text{Ge} + 2\,{}^{1}_{0}\text{n}$. Déterminer le nombre de masse A et le numéro atomique Z du noyau X.

b) Le germanium 68 se désintègre en gallium 68 par capture électronique dans 100% des cas. Ecrire la réaction de transformation nucléaire en précisant le numéro atomique et le nombre de masse des différents nucléides ainsi que la ou les particule(s) émise(s).

Question 2 : Le gallium 68 se désintègre soit par capture électronique (CE), soit par émission β^+ selon le schéma simplifié ci-après :



a) Ecrire l'équation de désintégration β_1^+ du ^{68}Ga (en précisant le numéro atomique et le nombre de masse des différents nucléides ainsi que la (ou les) particule(s) et rayonnement émis).

b) Calculer, en MeV, l'énergie Q_{β^+} mise en jeu lors de la désintégration β^+.

c) Calculer, en MeV, l'énergie cinétique maximale $E_{\beta_1^+ \max}$ des positons β_1^+ émis.

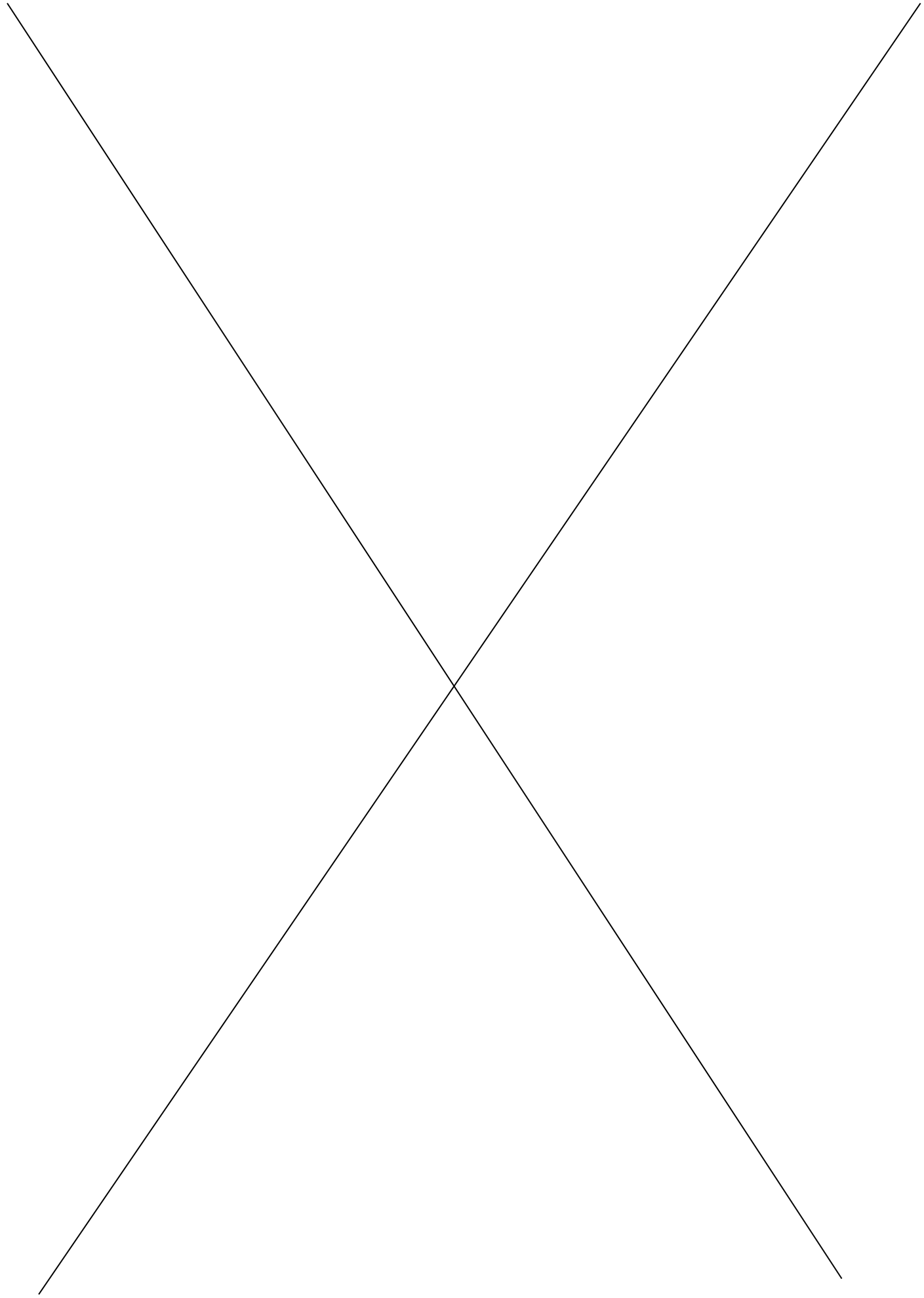
Question 3 : La radiopharmacie reçoit un générateur ^{68}Ge / ^{68}Ga dont l'activité en ^{68}Ge est de 1850 MBq au temps initial (t_0). On considère qu'à t_0, seul ^{68}Ge est présent. On donne le temps au bout duquel l'activité en ^{68}Ga est maximale t_M = 14,2 h.

a) Calculer la masse de ^{68}Ge fixée sur la colonne du générateur au temps t_0.

b) Quelle est l'activité maximale théorique en ^{68}Ga qu'il est possible d'éluer au bout d'un intervalle de temps Δt = 14,2 h ?

c) Calculer le rendement d'élution R du générateur (rapport de l'activité en ^{68}Ga réellement éluée à l'activité en ^{68}Ga disponible) si l'activité en ^{68}Ga éluée est de 1200 MBq.

d) L'activité en ^{68}Ga au temps t (A_{2t}) peut s'exprimer en fonction de l'activité en ^{68}Ge au temps t_0 (A_{10}) par la relation $A_{2t} \approx A_{10} \cdot \left(1 - e^{-\lambda_2 t}\right)$. Calculer les rendements d'élution en ^{68}Ga (R_1 et R_2) qu'il est possible d'obtenir au bout d'un intervalle de temps $\Delta t_1 = T_2$ (T_2 période radioactive du ^{68}Ga) et au bout d'un intervalle de temps $\Delta t_2 = 2T_2$?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC pédiatrie***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'UELC

Année 2023/ 2024

Semestre automne
Contrôle Terminal

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure

Ce fascicule comprend 6 pages :

- Calculatrice autorisée

UELC Pédiatrie
Responsable : Delphine HOEGY

QROC 1. (5 points) Généralités

1. Citer 3 particularités concernant l'usage des médicaments dans la population pédiatrique

-

-

-

2. Expliquer le principe du dépistage néo-natal à 3 jours de vie

3. Citer 2 maladies dépistées en néo-natal en France

-

-

QROC 2. (2 points) Adhésion thérapeutique et éducation thérapeutique

1. Donnez 3 exemples de déterminants de l'adhésion en pédiatrie

-

-

-

2. Citer 3 particularités de l'éducation thérapeutique en pédiatrie ?

-

-

-

QROC 3. (2 points) Nutrition

Texte à trou :

Allaiter, pendant une courte durée, est toujours _____ pour la santé de _____ ; car allaiter permet de : _____ , de _____ , et de _____ .

L'apport lacté doit être majoritaire dans l'alimentation de l'enfant jusqu'à _____ ans.

QROC 4. (1 point) Infectiologie

Entourer V pour Vrai et F pour Faux pour chacune des propositions :

1. La bronchiolite à VRS est à risque pour les enfants de < 6 mois. V F
2. Un enfant de 2 ans qui présente une température à 37.5°C a une fièvre. V F
3. Pour protéger un enfant de < 6 mois de toute infection, il est intéressant d'éviter les contacts avec des personnes malades. V F
4. L'agent infectieux le plus souvent responsable de gastro est le rotavirus. V F
5. Un pharmacien d'officine peut faire un TROD angine à un enfant de 17 ans. V F

QROC 5. (1 point) Anaphylaxie

1. Combien existe-t-il d'autoinjecteurs d'adrénaline en France ? Inscrire les noms de spécialités de ces autoinjecteurs.

QROC 6. (4 points) Galénique

1. A partir de quel âge en moyenne est-il possible d'avaler des formes orales solides ?

2. Quelles sont les alternatives ?

3. Une solution buvable de médicament à 5mg/mL est disponible sur le marché français :
   Imaginez-vous infirmier : Combien de mL allez-vous administrer à un patient pour lequel la prescription indique 50mg ?

4. Entourer la bonne réponse :
   Selon vous, est-il possible d'administrer le nombre de mL proposé ci-dessous à un enfant de :
   - 1 an ? OUI NON
   - 5 ans ? OUI NON
   - 10 ans ? OUI NON

5. Si vous avez répondu NON (à une ou plusieurs des questions ci-dessus), pourquoi ?

QROC 7. (4 points) Gestion des risques & pharmacie clinique

1. Comment pourrait-on prévenir les erreurs médicamenteuses en pédiatrie ?
   Donner succinctement 3 idées
   -
   -
   -

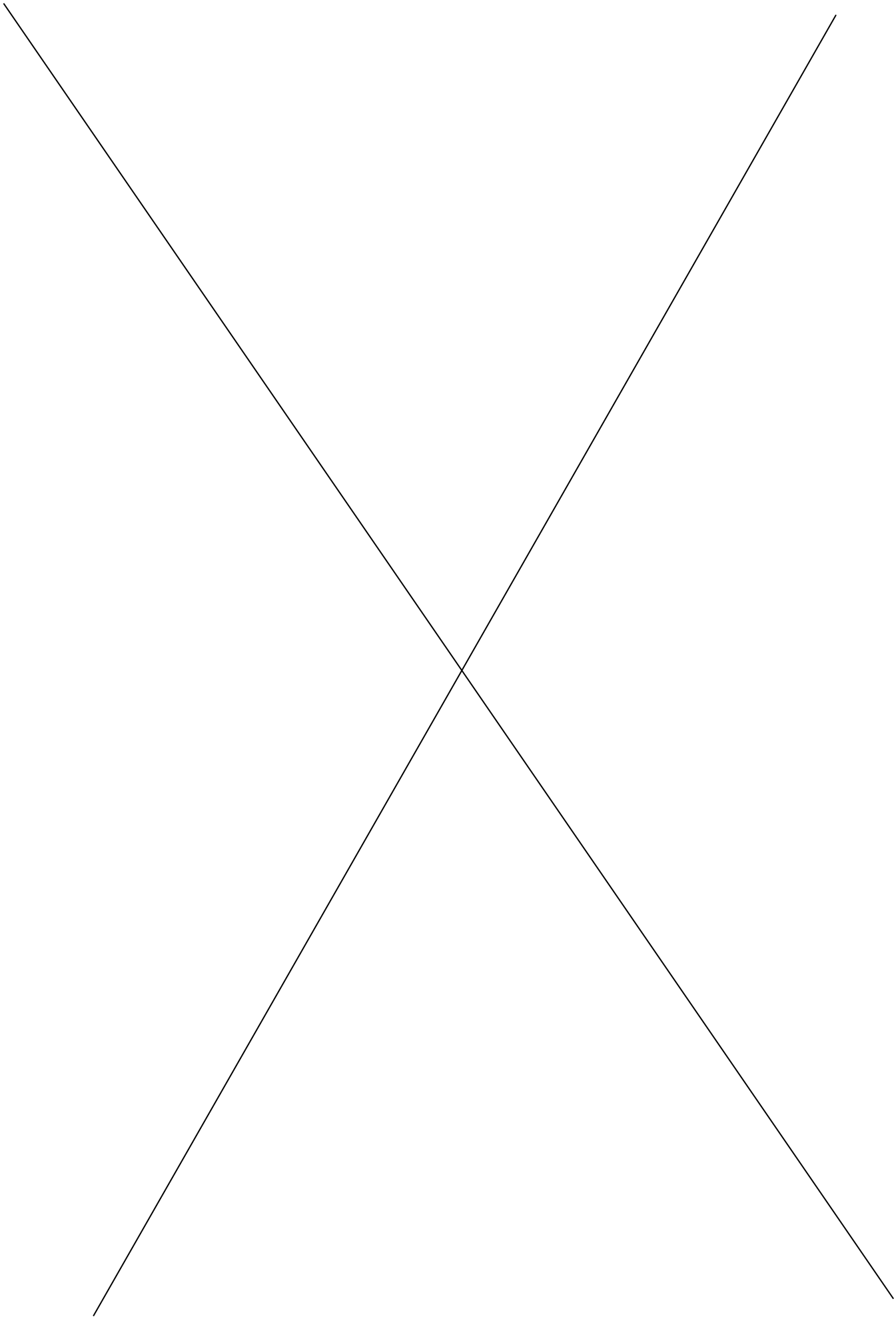
2. Quelle particularité de la communication en pédiatrie ?

3. Quel moment est particulièrement à risque de rupture de soins dans le parcours de soins d'un patient atteint de maladie chronique ?

QROC 8. (1 point) Vaccination

Entourer V pour Vrai et F pour Faux pour chacune des propositions :

1. Le vaccin contre la varicelle fait partie des vaccinations obligatoires de l'enfant. V F
2. Un enfant immunodéprimé doit recevoir tous les vaccins, même vivant atténué. V F
3. La vaccination obligatoire avant 18 mois concerne 11 germes. V F
4. La vaccination papillomavirus (HPV) est recommandée à partir 16 ans. V F
5. L'entretien motivationnel permet de promouvoir la vaccination. V F



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC pédiatrie***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'UELC

Année 2023/ 2024

Semestre automne
Contrôle Terminal

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure

Ce fascicule comprend 6 pages :

- Calculatrice autorisée

UELC Pédiatrie
Responsable : Delphine HOEGY

QROC 1. (5 points) Généralités

1. Citer 3 particularités concernant l'usage des médicaments dans la population pédiatrique

-

-

-

2. Expliquer le principe du dépistage néo-natal à 3 jours de vie

3. Citer 2 maladies dépistées en néo-natal en France

-

-

QROC 2. (2 points) Adhésion thérapeutique et éducation thérapeutique

1. Donnez 3 exemples de déterminants de l'adhésion en pédiatrie

-

-

-

2. Citer 3 particularités de l'éducation thérapeutique en pédiatrie ?

-

-

-

QROC 3. (2 points) Nutrition

Texte à trou :

Allaiter, pendant une courte durée, est toujours _____ pour la santé de _____ ; car allaiter permet de : _____ , de _____ , et de _____ .

L'apport lacté doit être majoritaire dans l'alimentation de l'enfant jusqu'à _____ ans.

QROC 4. (1 point) Infectiologie

Entourer V pour Vrai et F pour Faux pour chacune des propositions :

1. La bronchiolite à VRS est à risque pour les enfants de < 6 mois. V F
2. Un enfant de 2 ans qui présente une température à 37.5°C a une fièvre. V F
3. Pour protéger un enfant de < 6 mois de toute infection, il est intéressant d'éviter les contacts avec des personnes malades. V F
4. L'agent infectieux le plus souvent responsable de gastro est le rotavirus. V F
5. Un pharmacien d'officine peut faire un TROD angine à un enfant de 17 ans. V F

QROC 5. (1 point) Anaphylaxie

1. Combien existe-t-il d'autoinjecteurs d'adrénaline en France ? Inscrire les noms de spécialités de ces autoinjecteurs.

QROC 6. (4 points) Galénique

1. A partir de quel âge en moyenne est-il possible d'avaler des formes orales solides ?

2. Quelles sont les alternatives ?

3. Une solution buvable de médicament à 5mg/mL est disponible sur le marché français :
   Imaginez-vous infirmier : Combien de mL allez-vous administrer à un patient pour lequel la prescription indique 50mg ?

4. Entourer la bonne réponse :
   Selon vous, est-il possible d'administrer le nombre de mL proposé ci-dessous à un enfant de :
   - 1 an ? OUI NON
   - 5 ans ? OUI NON
   - 10 ans ? OUI NON

5. Si vous avez répondu NON (à une ou plusieurs des questions ci-dessus), pourquoi ?

QROC 7. (4 points) Gestion des risques & pharmacie clinique

1. Comment pourrait-on prévenir les erreurs médicamenteuses en pédiatrie ?
   Donner succinctement 3 idées
   -
   -
   -

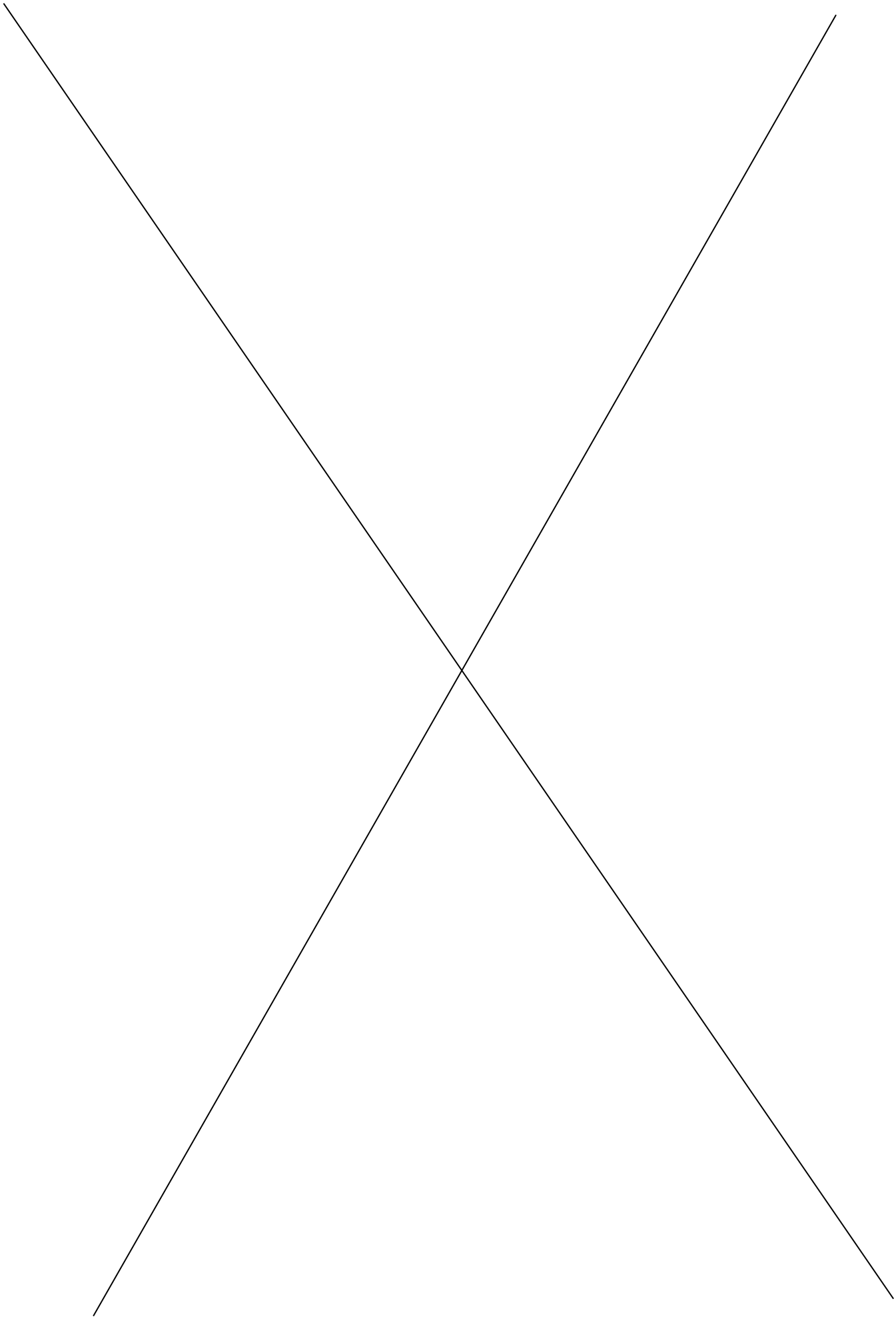
2. Quelle particularité de la communication en pédiatrie ?

3. Quel moment est particulièrement à risque de rupture de soins dans le parcours de soins d'un patient atteint de maladie chronique ?

QROC 8. (1 point) Vaccination

Entourer V pour Vrai et F pour Faux pour chacune des propositions :

1. Le vaccin contre la varicelle fait partie des vaccinations obligatoires de l'enfant. V F
2. Un enfant immunodéprimé doit recevoir tous les vaccins, même vivant atténué. V F
3. La vaccination obligatoire avant 18 mois concerne 11 germes. V F
4. La vaccination papillomavirus (HPV) est recommandée à partir 16 ans. V F
5. L'entretien motivationnel permet de promouvoir la vaccination. V F



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Épreuve de : **UELC PED** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

ÉPREUVE DE PHARMACIENS ET PAYS EN DÉVELOPPEMENT

UELC
Année 2023-2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 1 h

Ce fascicule comprend :

- 4 questions rédactionnelles

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

UELC Pharmaciens et pays en développement

Fascicule 1
*Partie **S. AZZOUZ-MAACHE***

***Responsable** : S. AZZOUZ-MAACHE*

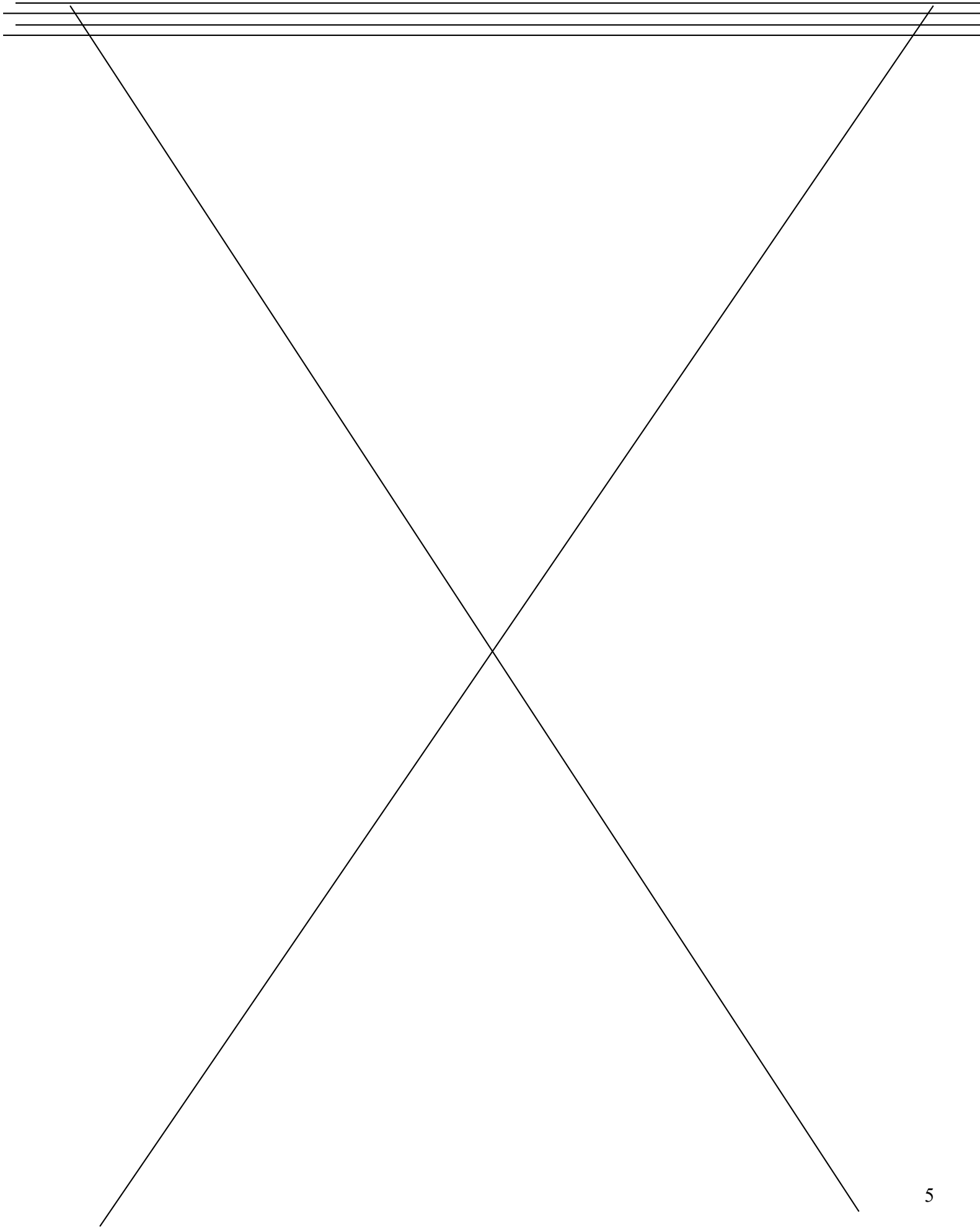
Enseignant(s) de l'UE : E. BLOND, C. HERLEDAN, A. DOLEANS-JORDHEIM, S. AZZOUZ-MAACHE

Cours Mme Azzouz-Maache (4,5 points+ 4 points exposés)
Question 1 : Donnez les définitions de pays en développement, pays moins avancés, nouveaux pays industrialisés en donnant 2 critères de définitions.

Question 2 : quelle est l'importance de lister les médicaments essentiels dans les pays en développement

Question 3 : définissez un médicament contrefait et discutez les problèmes liés à l'utilisation de ces médicaments dans les PED.

Questions 4 : Pourquoi, à votre avis, la médecine traditionnelle à une place importante dans les PED ? voyez-vous un problème à l'utilisation de cette médecine ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Épreuve de : **UELC PED** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

ÉPREUVE DE PHARMACIENS ET PAYS EN DÉVELOPPEMENT

UELC
Année 2023-2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 1 h

Ce fascicule comprend :

- 1 cas clinique avec 7 sous-questions rédactionnelles

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

UELC Pharmaciens et pays en développement

Fascicule *2*

*Partie **A. DOLEANS-JORDHEIM***

Responsable : S. AZZOUZ-MAACHE

Enseignant(s) de l'UE : E. BLOND, C. Herledan, A. DOLEANS-JORDHEIM, S. AZZOUZ-MAACHE

Mr et Me Z, âgés respectivement de 28 et 29 ans, sans antécédents médicaux ni pathologies chroniques, souhaitent partir en Inde. Ils préparent avec soin leur voyage et se renseignent auprès de différents spécialistes, dont vous faites partie.

1 / Quelles questions pouvez/devez-vous leur poser avant de répondre à leurs interrogations sur ce voyage ?

2 / Quels sont les trois principaux aspects que vous allez aborder avec eux pour leur permettre de bien préparer leur voyage. Illustrer chacun de ces points.

Six mois plus tard, Mr et Me Z reviennent en France. Me Z revient vous voir dans votre officine et vous annonce que son conjoint est malade. Elle est très inquiète car un diagnostic de <u>fièvre typhoïde</u> a été posé.

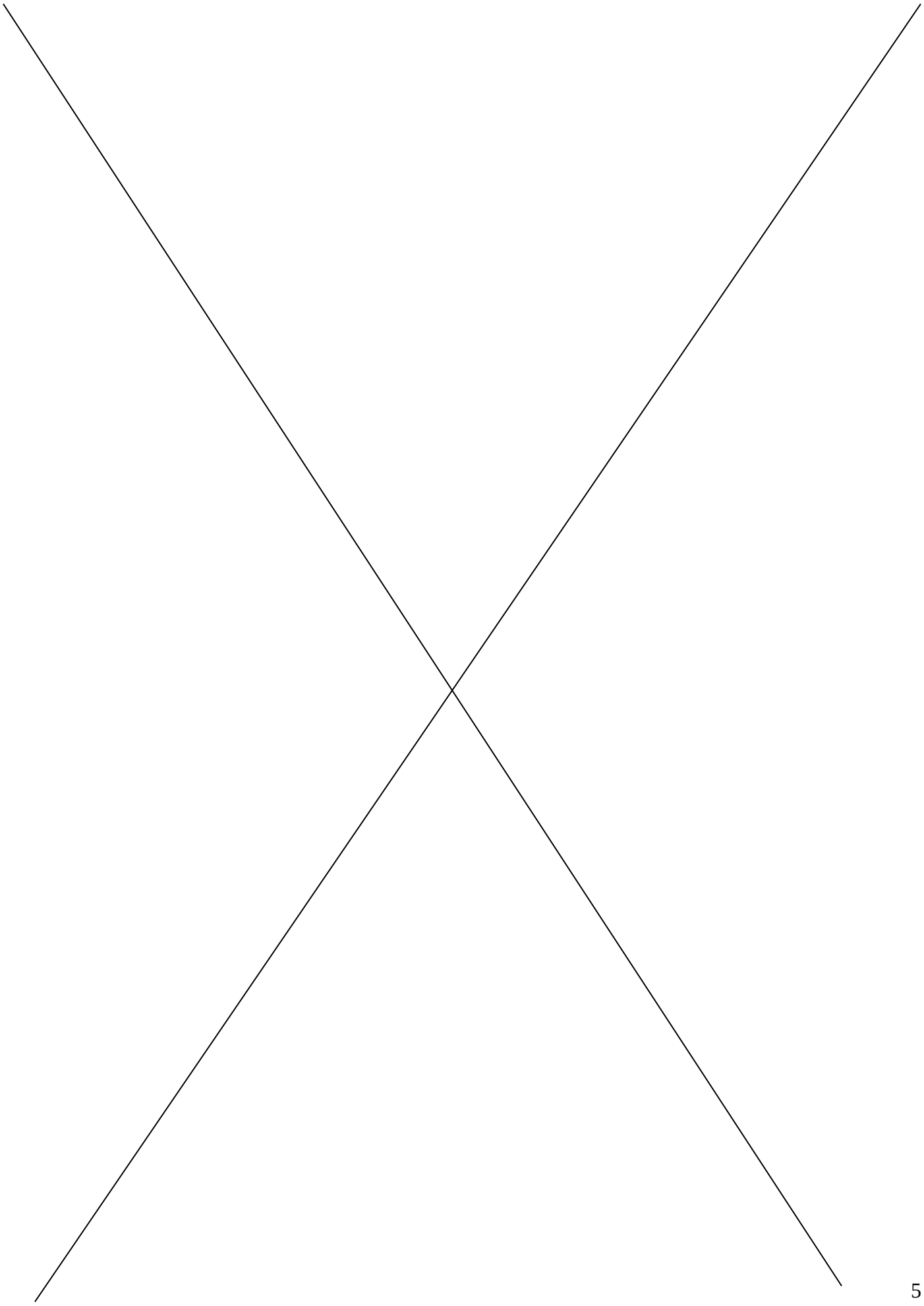
3 / Quel est l'agent responsable de cette pathologie et quel aspect microscopique a-t-il après coloration de Gram ?

4 / Quel est le mode de transmission de cette pathologie ?

5 / Quels sont les classes d'antibiotiques les plus souvent prescrites dans ce type d'infection ?

6 / Quels sont les symptômes de cette pathologie ?

7 / Cette pathologie est à Déclaration Obligatoire. Que signifie cette notion ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Épreuve de : **UELC PED** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

ÉPREUVE DE PHARMACIENS ET PAYS EN DÉVELOPPEMENT

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre automne
1ère Session

FASCICULE n° 3 (de 1 à 3)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 h

Ce fascicule N°3 comprend :

- 2 questions rédactionnelles

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

UELC Pharmaciens et pays en développement

Fascicule 3 - Emilie BLOND

Responsable : *S. AZZOUZ-MAACHE*

Enseignant(s) de l'UE : E. BLOND, C. HERLEDAN, A. DOLEANS-JORDHEIM, S. AZZOUZ-MAACHE

Cours Emilie BLOND (3.75 points)

Question 1 : La sous-nutrition constitue une cause de malnutrition dans de nombreux pays en voie de développement.

a) **Qu'est-ce que le marasme et la kwashiorkor ?**
Définir le marasme et la kwashiorkor et les signes cliniques qui les caractérisent.

b) **Comment prendre en charge la re-nutrition de ces populations ?**
Donner les grandes lignes de l'accompagnement nutritionnel à mettre en place dans le cadre de cette problématique de sous nutrition.

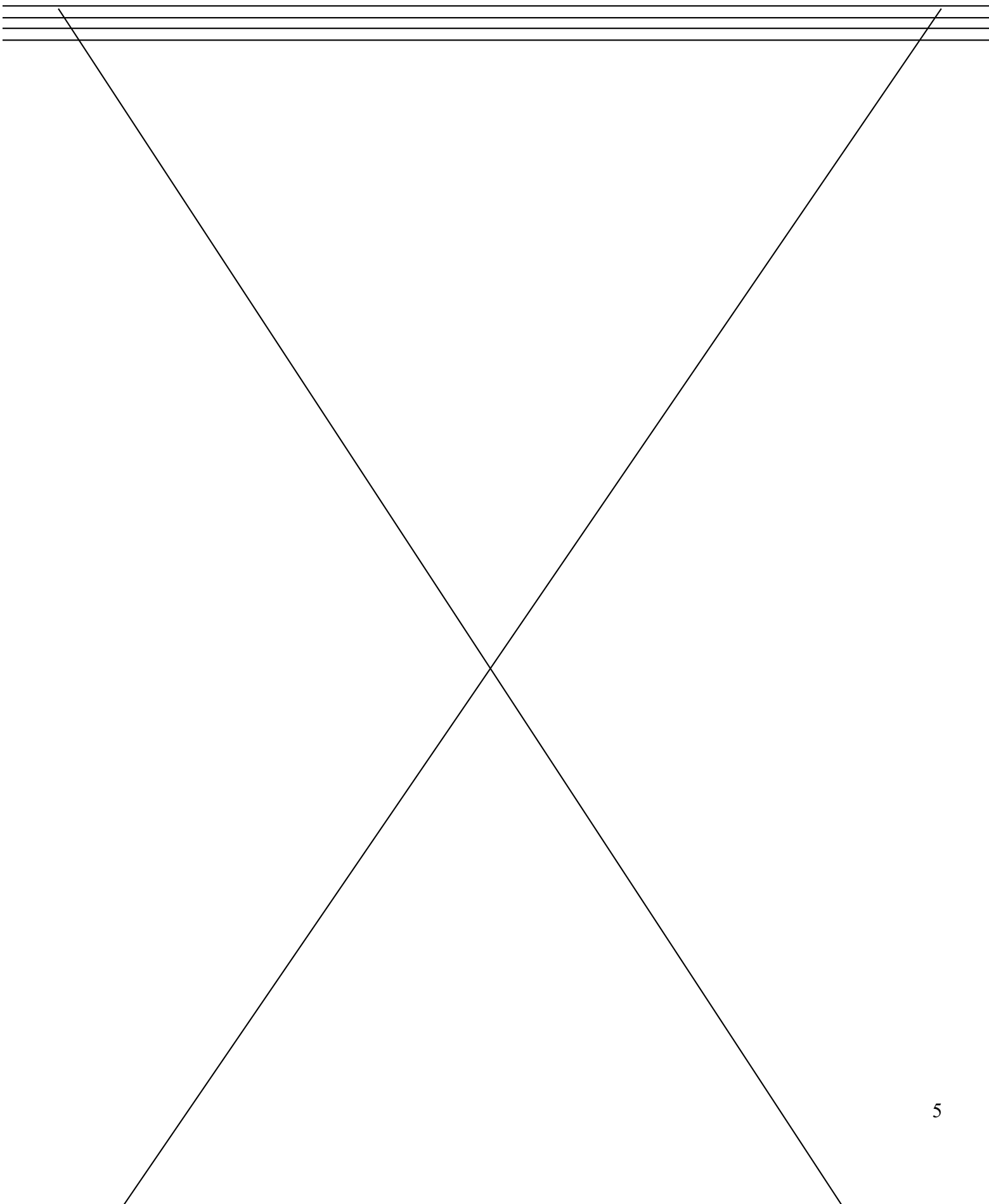
c) **Sur quels critères se base-t-on pour définir l'insécurité alimentaire des populations à risque de sous nutrition dans les pays en voie de développement pour mettre en place une politique d'action nutritionnelle.**
Après rappel de ce qu'est l'insécurité alimentaire, citer 5 critères utilisés pour grader cette insécurité alimentaire.

Question 2 : La pandémie d'obésité est une autre forme de malnutrition qui touche également les pays en voie de développement

a) **Définir ce qu'est la transition nutritionnelle**

b) Expliquer comment la transition nutritionnelle pourrait expliquer la progression de l'épidémie d'obésité dans les pays en voie de développement.

c) Citer et expliquer sur quels déterminants de l'obésité il serait opportun d'agir pour prévenir la progression de cette épidémie d'obésité.
Donner 3 exemples et les justifier



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : **UELC PED** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE PHARMACIENS ET PAYS EN DÉVELOPPEMENT

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session initiale

FASCICULE n°4

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 2 questions rédactionnelles

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

UELC Pharmaciens et pays en développement

Responsable : S. AZZOUZ-MAACHE

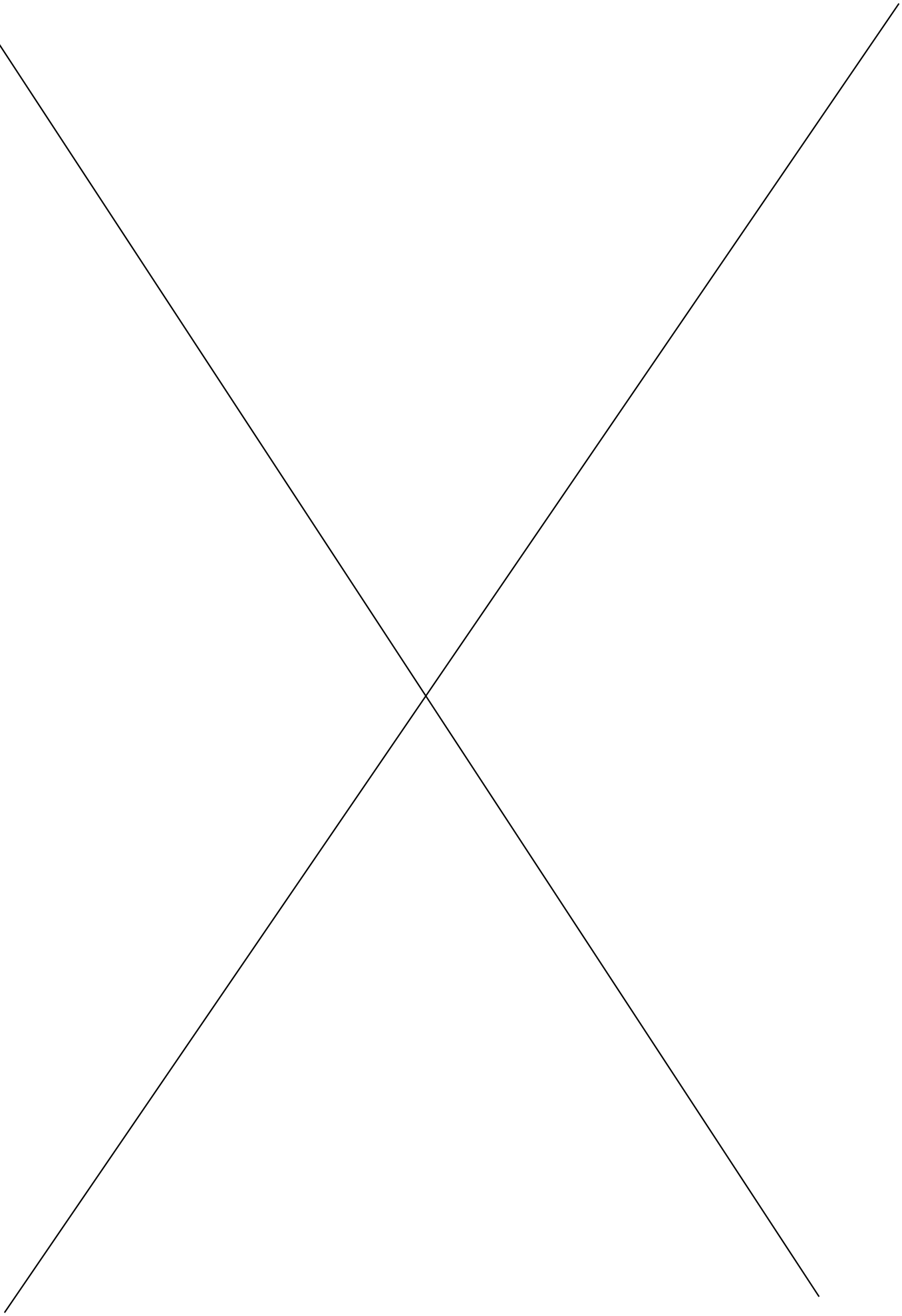
Cours Mme Chloé Herledan (3,75 points)

Question 1 :

a) Définir la mortalité infantile.

b) Quelle est la tendance d'évolution de cet indicateur dans les différentes régions du monde et comment peut-on expliquer cette évolution ?

Question 2 : Quelles sont les principales causes des difficultés d'accès aux médicaments dans les pays à revenus faible ou intermédiaires ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Épreuve de : **UELC PED** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

ÉPREUVE DE PHARMACIENS ET PAYS EN DÉVELOPPEMENT

UELC
Année 2023-2024

Semestre automne
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 1 h

Ce fascicule comprend :

- 1 cas clinique avec 7 sous-questions rédactionnelles

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

UELC Pharmaciens et pays en développement

Fascicule *2*

*Partie **A. DOLEANS-JORDHEIM***

Responsable : S. AZZOUZ-MAACHE

Enseignant(s) de l'UE : E. BLOND, C. Herledan, A. DOLEANS-JORDHEIM, S. AZZOUZ-MAACHE

Mr et Me Z, âgés respectivement de 28 et 29 ans, sans antécédents médicaux ni pathologies chroniques, souhaitent partir en Inde. Ils préparent avec soin leur voyage et se renseignent auprès de différents spécialistes, dont vous faites partie.

1 / Quelles questions pouvez/devez-vous leur poser avant de répondre à leurs interrogations sur ce voyage ?

2 / Quels sont les trois principaux aspects que vous allez aborder avec eux pour leur permettre de bien préparer leur voyage. Illustrer chacun de ces points.

Six mois plus tard, Mr et Me Z reviennent en France. Me Z revient vous voir dans votre officine et vous annonce que son conjoint est malade. Elle est très inquiète car un diagnostic de <u>fièvre typhoïde</u> a été posé.

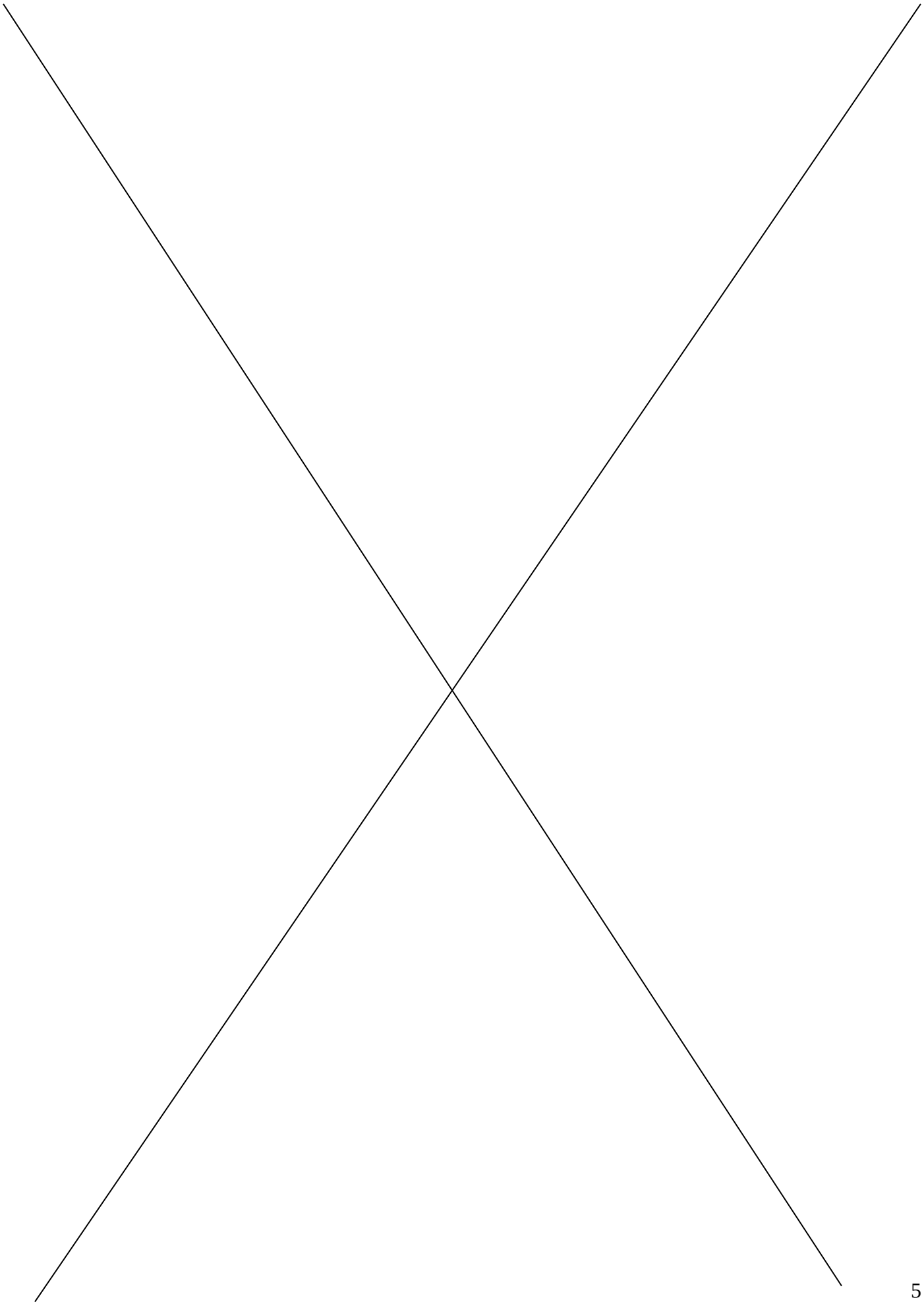
3 / Quel est l'agent responsable de cette pathologie et quel aspect microscopique a-t-il après coloration de Gram ?

4 / Quel est le mode de transmission de cette pathologie ?

5 / Quels sont les classes d'antibiotiques les plus souvent prescrites dans ce type d'infection ?

6 / Quels sont les symptômes de cette pathologie ?

7 / Cette pathologie est à Déclaration Obligatoire. Que signifie cette notion ?



Année universitaire 2023-2024

Université Lyon 1
Faculté de Pharmacie

UELC

Session Printemps

ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

QCM

EPREUVE DE UELC6A

Année 2023/2024

Semestre printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS A

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : **30 min**, comprenant 1 fascicule (QCM)

Ce fascicule comprend :

- 20 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : **autorisée**

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **8** pages numérotées de 1 à 8*

UELC6A
Catherine Rioufol

QCM 1. Quel est votre jeu de questions ?

A. Jeu A
B. Jeu B

QCM 2. Quelle est la juridiction compétente, en première instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Tribunal judiciaire
B. Tribunal de grande instance
C. Tribunal administratif
D. Tribunal de police
E. Tribunal ordinal

QCM 3. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 4. Quelle est la juridiction compétente, lors de l'introduction d'une requête en cassation relative à une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 5. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une plainte disciplinaire, déposée contre un pharmacien, responsable de l'industrie pharmaceutique ?

A. Cour d'appel
B. Cour d'appel administrative
C. Conseil d'Etat
D. Cour de cassation
E. Conseil national de l 'Ordre des pharmaciens

QCM 6. A propos des enquêtes ENEIS (enquêtes nationales sur les évènements indésirables liés aux soins), indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Ces enquêtes concernent uniquement les évènements indésirables liés aux médicaments.
B. Elles ont révélé qu'environ 50% des évènements indésirables liés aux médicaments sont évitables.
C. L'enquête ENEIS 3 de 2019 a montré une réduction des événements indésirables par rapport aux enquêtes ENEIS de 2004 et 2009.
D. Ces enquêtes ont permis de mettre en évidence l'importance de l'iatrogénie médicamenteuse.
E. Les infections nosocomiales ne font pas partie du périmètre des enquêtes ENEIS.

QCM 7. A propos du système management qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Repose uniquement sur des procédures et protocoles écrits.
B. Est un moyen déployé pour sécuriser la prise en charge médicamenteuse du patient.
C. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a priori*.
D. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a posteriori.*
E. Doit être impulsé, soutenu et accompagné par la direction de l'hôpital.

QCM 8. Concernant la gestion des essais cliniques à l'hôpital, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments expérimentaux sont dispensés sur ordonnance nominative
B. Les médicaments expérimentaux sont toujours stockés à température contrôlée
C. Toutes les PUI peuvent effectuer des préparations de médicaments expérimentaux
D. Le promoteur de l'essai clinique peut être un CHU
E. Pour certains essais cliniques, l'unité de traitement à dispenser est attribuée par un système informatique en fonction du bras de randomisation du patient

QCM 9. Concernant les CarT cells, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Il existe plusieurs Car-T cells différents, ayant des AMM différentes
B. Un mois avant l'administration du Car-T cell, les patients doivent recevoir une chimiothérapie lymphodéplétive
C. Les Car-T cells sont stockés dans la vapeur d'azote à -80°C.
D. Le contact de la peau avec l'azote liquide entraine un risque de brûlure
E. Le traitement par Car-T cells expose le patient à un risque de syndrome de relargage

QCM 10. Concernant la Radiopharmacie, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Un médicament radiopharmaceutique comporte dans sa structure un atome fluorescent
B. Différentes populations cellulaires peuvent être marquées *in vitro* avec un isotope radioactif à des fins diagnostiques
C. La préparation et la dispensation des médicaments radiopharmaceutiques sont réalisées dans une enceinte blindée.
D. La qualité de préparation des médicaments radiopharmaceutiques est contrôlée grâce notamment à des techniques radiochromatographiques.
E. Le principal isotope radioactif utilisé en Radiopharmacie est le plutonium 239.

QCM 11. Concernant les missions du pharmacien clinicien, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les missions du pharmacien clinicien sont par exemple l'analyse pharmaceutique des prescriptions, sa participation aux staffs médicaux et paramédicaux mais pas celles de la formation, réservée aux instituts de formation ou à la faculté.
B. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'adhésion du patient à son traitement.
C. Le parcours patient implique une prise en charge globale, structurée et continue du patient, avec la mise en place d'un lien ville hôpital et pour des pathologies chroniques.
D. L'éducation thérapeutique du patient n'est proposée et réalisée que par les pharmaciens d'officine
E. La conciliation médicamenteuse n'implique pas le patient dans sa réalisation

QCM 12. Concernant la pharmacie clinique en milieu carcéral, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. L'analyse pharmaceutique peut se faire dans l'unité sanitaire
B. Lors de l'analyse pharmaceutique, le dossier médical et la biologie sont consultés
C. Aucun suivi des neuroleptiques n'est nécessaire
D. Certains antidépresseurs inhibiteurs de la recapture de la sérotonine allongent l'intervalle QT
E. Les benzodiazépines à demi-vie courte sont à préférer chez la personne âgée

QCM 13. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A- Tous les médicaments utilisés à l'hôpital peuvent être dispensés aux patients ambulatoires dans le contexte d'une rétrocession
B- La majorité des médicaments contre le VHC ne sont disponibles qu'à l'hôpital
C- Les médicaments sous AAC ou AAP ne sont pas disponibles en officine
D- La majorité des médicaments rétrocédables sont disponibles en officine
E- Toutes les PUI n'ont pas une activité de rétrocession

QCM 14. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A- Les médicaments utilisés dans le contexte du VHC et du VIH ne sont disponibles qu'à l'hôpital via la rétrocession hospitalière
B- La vancomycine injectable est disponible en rétrocession hospitalière
C- La rétrocession de médicaments concerne à la fois des patients ambulatoires et des patients hospitalisés
D- Lorsqu'il y a des médicaments en rupture d'approvisionnement en ville (officine), la rétrocession prend parfois le relai pour dispenser ces médicaments
E- Le paracétamol IV peut être rétrocédé dans le contexte de la prise en charge de la douleur chronique rebelle.

QCM 15. Parmi les activités listées ci-dessous, lesquelles permettent de renforcer le bon usage des médicaments en accès dérogatoire :

A. rédaction d'une notice à destination du patient
B. participation aux procédures de référencement du médicament au sein de l'établissement
C. rédaction d'une fiche d'information à destination des professionnels de santé
D. réalisation d'un entretien pharmaceutique lors de l'initiation du traitement
E. rédaction d'une déclaration de pharmacovigilance

QCM 16. Quelles sont les missions du pharmacien en charge des approvisionnements :

A. Mettre en place un process permettant d'assurer la sécurité et la continuité d'approvisionnement
B. Contractualiser des marchés avec les fournisseurs
C. Préparer des poches de nutrition entérale extemporanément
D. S'assurer de la conformité des conditions de stockage pour garantir la bonne conservation des produits
E. Garantir un niveau de stock suffisant tout en maitrisant les valeurs de stock

QCM 17. Pour sécuriser la préparation des anticancéreux injectables, quelles sont les opérations à mettre en place dans une unité de production sous responsabilité pharmaceutique dans un établissement de santé ?

A. utilisation d'une enceinte de préparation en classe B
B. respect d'une marche en avant
C. respect de gradients de pression dans les locaux
D. la formation continue des personnels
E. utilisation d'une hotte à flux d'air laminaire horizontal

QCM 18. Concernant les activités de pharmacie hospitalière suivantes, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. La conciliation médicamenteuse n'est réalisée qu'à l'entrée du patient car c'est l'étape la plus à risque d'erreurs médicamenteuses.

B. Les entretiens pharmaceutiques peuvent être réalisés dans le cadre des hospitalisations mais aussi dans le cadre d'un hôpital de jour.

C. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'observance du patient à son traitement.

D. Dans le cadre d'une activité de préparations magistrales non stériles, la validation pharmaceutique n'est pas indispensable car les préparations ne sont pas stériles

E. Le métier de pharmacien hospitalier n'est pas transversal

QCM 19. A propos de la fabrication des poches de nutrition parentérale magistrales (à la carte), quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A. En pharmacie hospitalière sous isolateur ou sous hotte à flux laminaire

B. En unité de soins par perfusion de solutions séparées

C. Dans une zone d'atmosphère contrôlée ZAC

D. Avec une stérilisation finale du produit par la chaleur

E. Par une filtration stérilisante avec un filtre 0.8 µm

QCM 20. Concernant la nutrition parentérale, quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

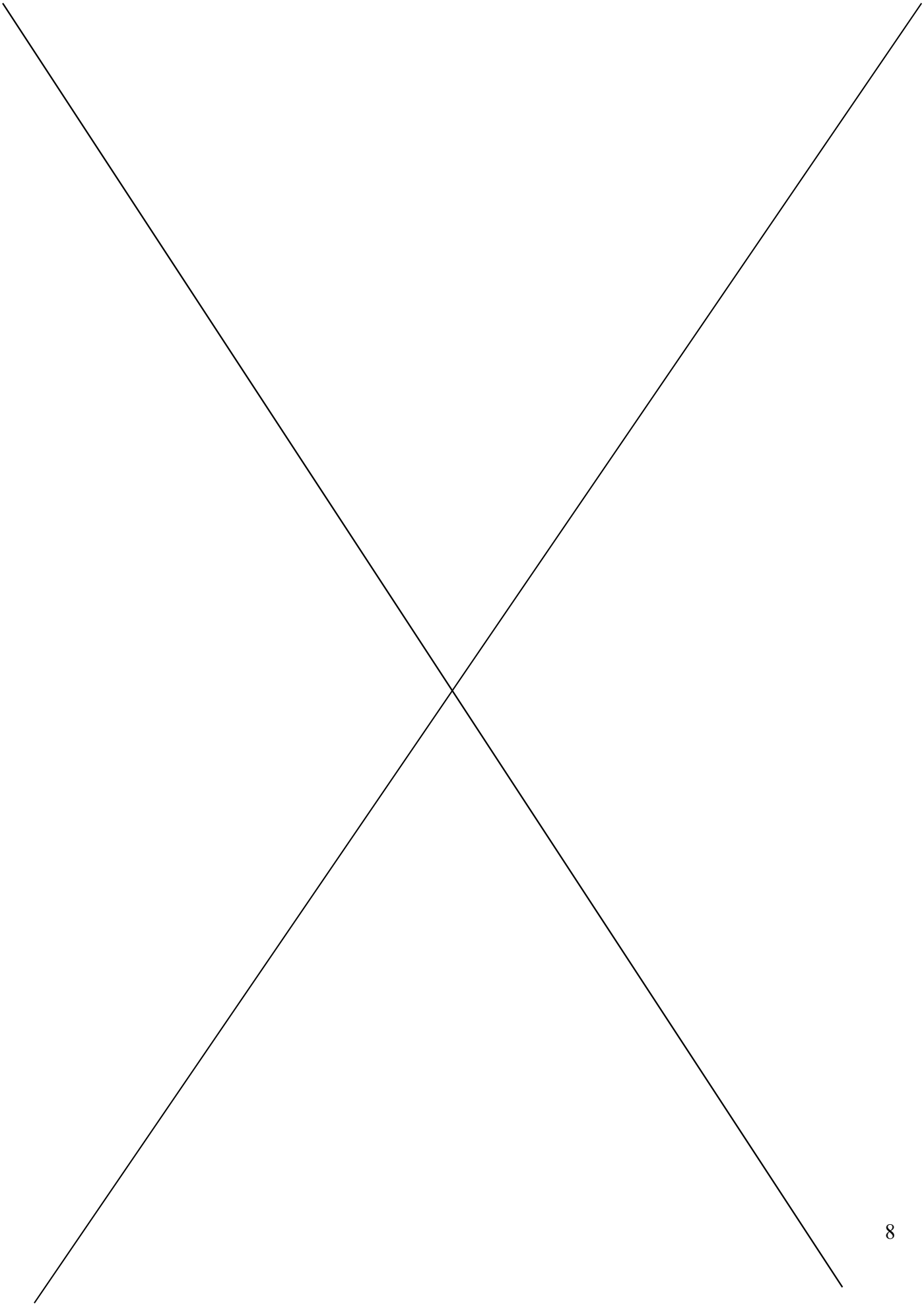
A - En cas d'administration par voie veineuse périphérique, l'apport osmolaire doit être inférieur à 800 mOsm/kg

B - La nutrition parentérale peut être administrée par jéjunostomie

C - En cas de nécessité de perfuser du sang en même temps qu'une nutrition parentérale, une administration en Y est possible

D - Elle est choisie en première intention en cas de dénutrition modérée

E – Elle est dite binaire quand elle ne contient que des glucides et des lipides



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

QCM

EPREUVE DE UELC6A

Année 2023/2024

Semestre printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS B

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : **30 min**, comprenant 1 fascicule (QCM)

Ce fascicule comprend :

- 20 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : **autorisée**

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **8** pages numérotées de 1 à 8*

UELC6A
Catherine Rioufol

QCM 1. Quel est votre jeu de questions ?

A. Jeu A

B. Jeu B

QCM 2. Concernant la nutrition parentérale, quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A - En cas d'administration par voie veineuse périphérique, l'apport osmolaire doit être inférieur à 800 mOsm/kg

B - La nutrition parentérale peut être administrée par jéjunostomie

C - En cas de nécessité de perfuser du sang en même temps qu'une nutrition parentérale, une administration en Y est possible

D - Elle est choisie en première intention en cas de dénutrition modérée

E – Elle est dite binaire quand elle ne contient que des glucides et des lipides

QCM 3. A propos de la fabrication des poches de nutrition parentérale magistrales (à la carte), quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A. En pharmacie hospitalière sous isolateur ou sous hotte à flux laminaire

B. En unité de soins par perfusion de solutions séparées

C. Dans une zone d'atmosphère contrôlée ZAC

D. Avec une stérilisation finale du produit par la chaleur

E. Par une filtration stérilisante avec un filtre 0.8 µm

QCM 4. Concernant les activités de pharmacie hospitalière suivantes, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. La conciliation médicamenteuse n'est réalisée qu'à l'entrée du patient car c'est l'étape la plus à risque d'erreurs médicamenteuses.

B. Les entretiens pharmaceutiques peuvent être réalisés dans le cadre des hospitalisations mais aussi dans le cadre d'un hôpital de jour.

C. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'observance du patient à son traitement.

D. Dans le cadre d'une activité de préparations magistrales non stériles, la validation pharmaceutique n'est pas indispensable car les préparations ne sont pas stériles

E. Le métier de pharmacien hospitalier n'est pas transversal

QCM 5. Pour sécuriser la préparation des anticancéreux injectables, quelles sont les opérations à mettre en place dans une unité de production sous responsabilité pharmaceutique dans un établissement de santé ?

A. utilisation d'une enceinte de préparation en classe B
B. respect d'une marche en avant
C. respect de gradients de pression dans les locaux
D. la formation continue des personnels
E. utilisation d'une hotte à flux d'air laminaire horizontal

QCM 6. Quelles sont les missions du pharmacien en charge des approvisionnements :

A. Mettre en place un process permettant d'assurer la sécurité et la continuité d'approvisionnement
B. Contractualiser des marchés avec les fournisseurs
C. Préparer des poches de nutrition entérale extemporanément
D. S'assurer de la conformité des conditions de stockage pour garantir la bonne conservation des produits
E. Garantir un niveau de stock suffisant tout en maitrisant les valeurs de stock

QCM 7. Parmi les activités listées ci-dessous, lesquelles permettent de renforcer le bon usage des médicaments en accès dérogatoire :

A. rédaction d'une notice à destination du patient
B. participation aux procédures de référencement du médicament au sein de l'établissement
C. rédaction d'une fiche d'information à destination des professionnels de santé
D. réalisation d'un entretien pharmaceutique lors de l'initiation du traitement
E. rédaction d'une déclaration de pharmacovigilance

QCM 8. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments utilisés dans le contexte du VHC et du VIH ne sont disponibles qu'à l'hôpital via la rétrocession hospitalière
B. La vancomycine injectable est disponible en rétrocession hospitalière
C. La rétrocession de médicaments concerne à la fois des patients ambulatoires et des patients hospitalisés
D. Lorsqu'il y a des médicaments en rupture d'approvisionnement en ville (officine), la rétrocession prend parfois le relai pour dispenser ces médicaments
E. Le paracétamol IV peut être rétrocédé dans le contexte de la prise en charge de la douleur chronique rebelle.

QCM 9. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Tous les médicaments utilisés à l'hôpital peuvent être dispensés aux patients ambulatoires dans le contexte d'une rétrocession
B. La majorité des médicaments contre le VHC ne sont disponibles qu'à l'hôpital
C. Les médicaments sous AAC ou AAP ne sont pas disponibles en officine
D. La majorité des médicaments rétrocédables sont disponibles en officine
E. Toutes les PUI n'ont pas une activité de rétrocession

QCM 10. Concernant la pharmacie clinique en milieu carcéral, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. L'analyse pharmaceutique peut se faire dans l'unité sanitaire
B. Lors de l'analyse pharmaceutique, le dossier médical et la biologie sont consultés
C. Aucun suivi des neuroleptiques n'est nécessaire
D. Certains antidépresseurs inhibiteurs de la recapture de la sérotonine allongent l'intervalle QT
E. Les benzodiazépines à demi-vie courte sont à préférer chez la personne âgée

QCM 11. Concernant les missions du pharmacien clinicien, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les missions du pharmacien clinicien sont par exemple l'analyse pharmaceutique des prescriptions, sa participation aux staffs médicaux et paramédicaux mais pas celles de la formation, réservée aux instituts de formation ou à la faculté.
B. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'adhésion du patient à son traitement.
C. Le parcours patient implique une prise en charge globale, structurée et continue du patient, avec la mise en place d'un lien ville hôpital et pour des pathologies chroniques.
D. L'éducation thérapeutique du patient n'est proposée et réalisée que par les pharmaciens d'officine
E. La conciliation médicamenteuse n'implique pas le patient dans sa réalisation

QCM 12. Concernant la Radiopharmacie, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Un médicament radiopharmaceutique comporte dans sa structure un atome fluorescent
B. Différentes populations cellulaires peuvent être marquées *in vitro* avec un isotope radioactif à des fins diagnostiques
C. La préparation et la dispensation des médicaments radiopharmaceutiques sont réalisées dans une enceinte blindée.
D. La qualité de préparation des médicaments radiopharmaceutiques est contrôlée grâce notamment à des techniques radiochromatographiques.
E. Le principal isotope radioactif utilisé en Radiopharmacie est le plutonium 239.

QCM 13. Concernant les CarT cells, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Il existe plusieurs Car-T cells différents, ayant des AMM différentes
B. Un mois avant l'administration du Car-T cell, les patients doivent recevoir une chimiothérapie lymphodéplétive
C. Les Car-T cells sont stockés dans la vapeur d'azote à -80°C.
D. Le contact de la peau avec l'azote liquide entraine un risque de brûlure
E. Le traitement par Car-T cells expose le patient à un risque de syndrome de relargage cytokinique et de neurotoxicité

QCM 14. Concernant la gestion des essais cliniques à l'hôpital, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments expérimentaux sont dispensés sur ordonnance nominative
B. Les médicaments expérimentaux sont toujours stockés à température contrôlée
C. Toutes les PUI peuvent effectuer des préparations de médicaments expérimentaux
D. Le promoteur de l'essai clinique peut être un CHU
E. Pour certains essais cliniques, l'unité de traitement à dispenser est attribuée par un système informatique en fonction du bras de randomisation du patient

QCM 15. A propos du système management qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Repose uniquement sur des procédures et protocoles écrits.
B. Est un moyen déployé pour sécuriser la prise en charge médicamenteuse du patient.
C. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a priori*.
D. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a posteriori.*
E. Doit être impulsé, soutenu et accompagné par la direction de l'hôpital.

QCM 16. A propos des enquêtes ENEIS (enquêtes nationales sur les évènements indésirables liés aux soins), indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Ces enquêtes concernent uniquement les évènements indésirables liés aux médicaments.
B. Elles ont révélé qu'environ 50% des évènements indésirables liés aux médicaments sont évitables.
C. L'enquête ENEIS 3 de 2019 a montré une réduction des événements indésirables par rapport aux enquêtes ENEIS de 2004 et 2009.
D. Ces enquêtes ont permis de mettre en évidence l'importance de l'iatrogénie médicamenteuse.
E. Les infections nosocomiales ne font pas partie du périmètre des enquêtes ENEIS.

QCM 17. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une plainte disciplinaire, déposée contre un pharmacien, responsable de l'industrie pharmaceutique ?

A. Cour d'appel
B. Cour d'appel administrative
C. Conseil d'Etat
D. Cour de cassation
E. Conseil national de l 'Ordre des pharmaciens

QCM 18. Quelle est la juridiction compétente, lors de l'introduction d'une requête en cassation relative à une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

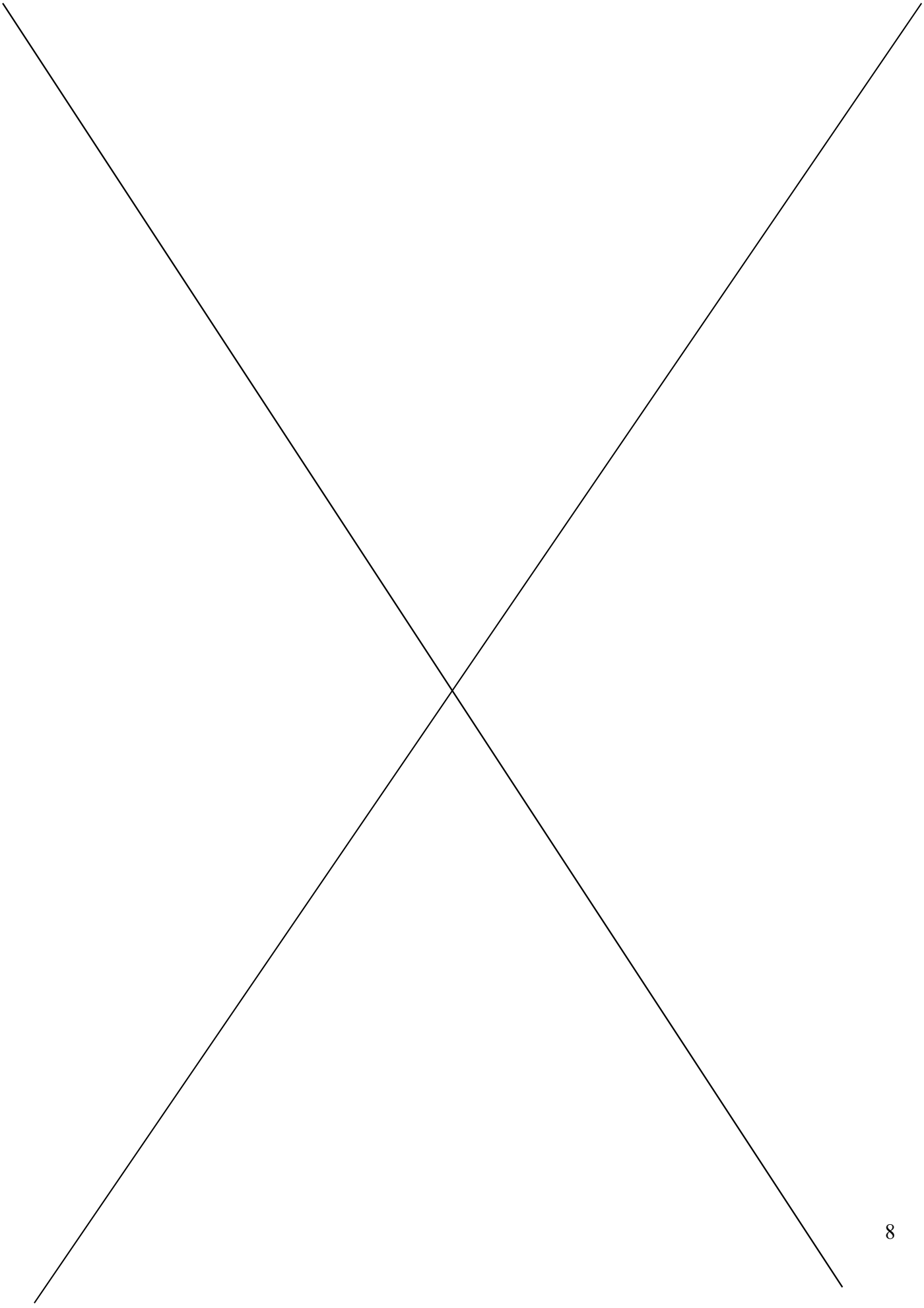
A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 19. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 20. Quelle est la juridiction compétente, en première instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Tribunal judiciaire
B. Tribunal de grande instance
C. Tribunal administratif
D. Tribunal de police
E. Tribunal ordinal



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

QCM

EPREUVE DE UELC6A

Année 2023/2024

Semestre printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS A

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : **30 min**, comprenant 1 fascicule (QCM)

Ce fascicule comprend :

- 20 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : **autorisée**

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **8** pages numérotées de 1 à 8*

UELC6A
Catherine Rioufol

QCM 1. Quel est votre jeu de questions ?

A. Jeu A
B. Jeu B

QCM 2. Quelle est la juridiction compétente, en première instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Tribunal judiciaire
B. Tribunal de grande instance
C. Tribunal administratif
D. Tribunal de police
E. Tribunal ordinal

QCM 3. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 4. Quelle est la juridiction compétente, lors de l'introduction d'une requête en cassation relative à une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 5. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une plainte disciplinaire, déposée contre un pharmacien, responsable de l'industrie pharmaceutique ?

A. Cour d'appel
B. Cour d'appel administrative
C. Conseil d'Etat
D. Cour de cassation
E. Conseil national de l 'Ordre des pharmaciens

QCM 6. A propos des enquêtes ENEIS (enquêtes nationales sur les évènements indésirables liés aux soins), indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Ces enquêtes concernent uniquement les évènements indésirables liés aux médicaments.
B. Elles ont révélé qu'environ 50% des évènements indésirables liés aux médicaments sont évitables.
C. L'enquête ENEIS 3 de 2019 a montré une réduction des événements indésirables par rapport aux enquêtes ENEIS de 2004 et 2009.
D. Ces enquêtes ont permis de mettre en évidence l'importance de l'iatrogénie médicamenteuse.
E. Les infections nosocomiales ne font pas partie du périmètre des enquêtes ENEIS.

QCM 7. A propos du système management qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Repose uniquement sur des procédures et protocoles écrits.
B. Est un moyen déployé pour sécuriser la prise en charge médicamenteuse du patient.
C. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a priori*.
D. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a posteriori.*
E. Doit être impulsé, soutenu et accompagné par la direction de l'hôpital.

QCM 8. Concernant la gestion des essais cliniques à l'hôpital, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments expérimentaux sont dispensés sur ordonnance nominative
B. Les médicaments expérimentaux sont toujours stockés à température contrôlée
C. Toutes les PUI peuvent effectuer des préparations de médicaments expérimentaux
D. Le promoteur de l'essai clinique peut être un CHU
E. Pour certains essais cliniques, l'unité de traitement à dispenser est attribuée par un système informatique en fonction du bras de randomisation du patient

QCM 9. Concernant les CarT cells, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Il existe plusieurs Car-T cells différents, ayant des AMM différentes
B. Un mois avant l'administration du Car-T cell, les patients doivent recevoir une chimiothérapie lymphodéplétive
C. Les Car-T cells sont stockés dans la vapeur d'azote à -80°C.
D. Le contact de la peau avec l'azote liquide entraine un risque de brûlure
E. Le traitement par Car-T cells expose le patient à un risque de syndrome de relargage

QCM 10. Concernant la Radiopharmacie, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Un médicament radiopharmaceutique comporte dans sa structure un atome fluorescent
B. Différentes populations cellulaires peuvent être marquées *in vitro* avec un isotope radioactif à des fins diagnostiques
C. La préparation et la dispensation des médicaments radiopharmaceutiques sont réalisées dans une enceinte blindée.
D. La qualité de préparation des médicaments radiopharmaceutiques est contrôlée grâce notamment à des techniques radiochromatographiques.
E. Le principal isotope radioactif utilisé en Radiopharmacie est le plutonium 239.

QCM 11. Concernant les missions du pharmacien clinicien, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les missions du pharmacien clinicien sont par exemple l'analyse pharmaceutique des prescriptions, sa participation aux staffs médicaux et paramédicaux mais pas celles de la formation, réservée aux instituts de formation ou à la faculté.
B. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'adhésion du patient à son traitement.
C. Le parcours patient implique une prise en charge globale, structurée et continue du patient, avec la mise en place d'un lien ville hôpital et pour des pathologies chroniques.
D. L'éducation thérapeutique du patient n'est proposée et réalisée que par les pharmaciens d'officine
E. La conciliation médicamenteuse n'implique pas le patient dans sa réalisation

QCM 12. Concernant la pharmacie clinique en milieu carcéral, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. L'analyse pharmaceutique peut se faire dans l'unité sanitaire
B. Lors de l'analyse pharmaceutique, le dossier médical et la biologie sont consultés
C. Aucun suivi des neuroleptiques n'est nécessaire
D. Certains antidépresseurs inhibiteurs de la recapture de la sérotonine allongent l'intervalle QT
E. Les benzodiazépines à demi-vie courte sont à préférer chez la personne âgée

QCM 13. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A- Tous les médicaments utilisés à l'hôpital peuvent être dispensés aux patients ambulatoires dans le contexte d'une rétrocession
B- La majorité des médicaments contre le VHC ne sont disponibles qu'à l'hôpital
C- Les médicaments sous AAC ou AAP ne sont pas disponibles en officine
D- La majorité des médicaments rétrocédables sont disponibles en officine
E- Toutes les PUI n'ont pas une activité de rétrocession

QCM 14. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A- Les médicaments utilisés dans le contexte du VHC et du VIH ne sont disponibles qu'à l'hôpital via la rétrocession hospitalière
B- La vancomycine injectable est disponible en rétrocession hospitalière
C- La rétrocession de médicaments concerne à la fois des patients ambulatoires et des patients hospitalisés
D- Lorsqu'il y a des médicaments en rupture d'approvisionnement en ville (officine), la rétrocession prend parfois le relai pour dispenser ces médicaments
E- Le paracétamol IV peut être rétrocédé dans le contexte de la prise en charge de la douleur chronique rebelle.

QCM 15. Parmi les activités listées ci-dessous, lesquelles permettent de renforcer le bon usage des médicaments en accès dérogatoire :

A. rédaction d'une notice à destination du patient
B. participation aux procédures de référencement du médicament au sein de l'établissement
C. rédaction d'une fiche d'information à destination des professionnels de santé
D. réalisation d'un entretien pharmaceutique lors de l'initiation du traitement
E. rédaction d'une déclaration de pharmacovigilance

QCM 16. Quelles sont les missions du pharmacien en charge des approvisionnements :

A. Mettre en place un process permettant d'assurer la sécurité et la continuité d'approvisionnement
B. Contractualiser des marchés avec les fournisseurs
C. Préparer des poches de nutrition entérale extemporanément
D. S'assurer de la conformité des conditions de stockage pour garantir la bonne conservation des produits
E. Garantir un niveau de stock suffisant tout en maitrisant les valeurs de stock

QCM 17. Pour sécuriser la préparation des anticancéreux injectables, quelles sont les opérations à mettre en place dans une unité de production sous responsabilité pharmaceutique dans un établissement de santé ?

A. utilisation d'une enceinte de préparation en classe B
B. respect d'une marche en avant
C. respect de gradients de pression dans les locaux
D. la formation continue des personnels
E. utilisation d'une hotte à flux d'air laminaire horizontal

QCM 18. Concernant les activités de pharmacie hospitalière suivantes, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. La conciliation médicamenteuse n'est réalisée qu'à l'entrée du patient car c'est l'étape la plus à risque d'erreurs médicamenteuses.

B. Les entretiens pharmaceutiques peuvent être réalisés dans le cadre des hospitalisations mais aussi dans le cadre d'un hôpital de jour.

C. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'observance du patient à son traitement.

D. Dans le cadre d'une activité de préparations magistrales non stériles, la validation pharmaceutique n'est pas indispensable car les préparations ne sont pas stériles

E. Le métier de pharmacien hospitalier n'est pas transversal

QCM 19. A propos de la fabrication des poches de nutrition parentérale magistrales (à la carte), quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A. En pharmacie hospitalière sous isolateur ou sous hotte à flux laminaire

B. En unité de soins par perfusion de solutions séparées

C. Dans une zone d'atmosphère contrôlée ZAC

D. Avec une stérilisation finale du produit par la chaleur

E. Par une filtration stérilisante avec un filtre 0.8 µm

QCM 20. Concernant la nutrition parentérale, quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

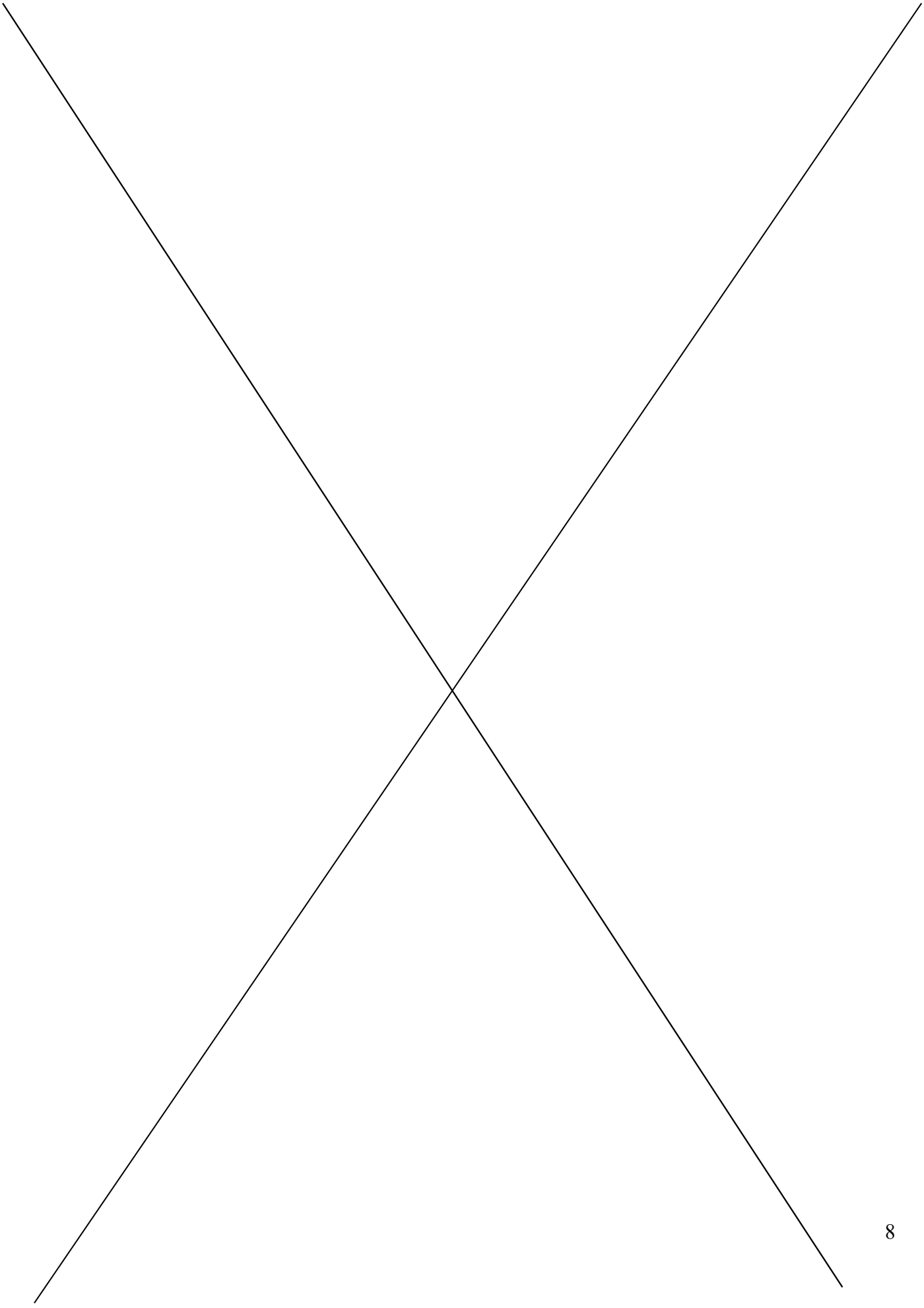
A - En cas d'administration par voie veineuse périphérique, l'apport osmolaire doit être inférieur à 800 mOsm/kg

B - La nutrition parentérale peut être administrée par jéjunostomie

C - En cas de nécessité de perfuser du sang en même temps qu'une nutrition parentérale, une administration en Y est possible

D - Elle est choisie en première intention en cas de dénutrition modérée

E – Elle est dite binaire quand elle ne contient que des glucides et des lipides



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

QCM

EPREUVE DE UELC6A

Année 2023/2024

Semestre printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS B

Cette lettre est à reporter sur votre grille de réponse (première question)

DUREE DE L'EPREUVE : **30 min**, comprenant 1 fascicule (QCM)

Ce fascicule comprend :

- 20 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : **autorisée**

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **8** pages numérotées de 1 à 8*

UELC6A
Catherine Rioufol

QCM 1. Quel est votre jeu de questions ?

A. Jeu A

B. Jeu B

QCM 2. Concernant la nutrition parentérale, quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A - En cas d'administration par voie veineuse périphérique, l'apport osmolaire doit être inférieur à 800 mOsm/kg

B - La nutrition parentérale peut être administrée par jéjunostomie

C - En cas de nécessité de perfuser du sang en même temps qu'une nutrition parentérale, une administration en Y est possible

D - Elle est choisie en première intention en cas de dénutrition modérée

E – Elle est dite binaire quand elle ne contient que des glucides et des lipides

QCM 3. A propos de la fabrication des poches de nutrition parentérale magistrales (à la carte), quelles sont la ou les réponses exacte(s) ?

A. En pharmacie hospitalière sous isolateur ou sous hotte à flux laminaire

B. En unité de soins par perfusion de solutions séparées

C. Dans une zone d'atmosphère contrôlée ZAC

D. Avec une stérilisation finale du produit par la chaleur

E. Par une filtration stérilisante avec un filtre 0.8 µm

QCM 4. Concernant les activités de pharmacie hospitalière suivantes, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. La conciliation médicamenteuse n'est réalisée qu'à l'entrée du patient car c'est l'étape la plus à risque d'erreurs médicamenteuses.

B. Les entretiens pharmaceutiques peuvent être réalisés dans le cadre des hospitalisations mais aussi dans le cadre d'un hôpital de jour.

C. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'observance du patient à son traitement.

D. Dans le cadre d'une activité de préparations magistrales non stériles, la validation pharmaceutique n'est pas indispensable car les préparations ne sont pas stériles

E. Le métier de pharmacien hospitalier n'est pas transversal

QCM 5. Pour sécuriser la préparation des anticancéreux injectables, quelles sont les opérations à mettre en place dans une unité de production sous responsabilité pharmaceutique dans un établissement de santé ?

A. utilisation d'une enceinte de préparation en classe B
B. respect d'une marche en avant
C. respect de gradients de pression dans les locaux
D. la formation continue des personnels
E. utilisation d'une hotte à flux d'air laminaire horizontal

QCM 6. Quelles sont les missions du pharmacien en charge des approvisionnements :

A. Mettre en place un process permettant d'assurer la sécurité et la continuité d'approvisionnement
B. Contractualiser des marchés avec les fournisseurs
C. Préparer des poches de nutrition entérale extemporanément
D. S'assurer de la conformité des conditions de stockage pour garantir la bonne conservation des produits
E. Garantir un niveau de stock suffisant tout en maitrisant les valeurs de stock

QCM 7. Parmi les activités listées ci-dessous, lesquelles permettent de renforcer le bon usage des médicaments en accès dérogatoire :

A. rédaction d'une notice à destination du patient
B. participation aux procédures de référencement du médicament au sein de l'établissement
C. rédaction d'une fiche d'information à destination des professionnels de santé
D. réalisation d'un entretien pharmaceutique lors de l'initiation du traitement
E. rédaction d'une déclaration de pharmacovigilance

QCM 8. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments utilisés dans le contexte du VHC et du VIH ne sont disponibles qu'à l'hôpital via la rétrocession hospitalière
B. La vancomycine injectable est disponible en rétrocession hospitalière
C. La rétrocession de médicaments concerne à la fois des patients ambulatoires et des patients hospitalisés
D. Lorsqu'il y a des médicaments en rupture d'approvisionnement en ville (officine), la rétrocession prend parfois le relai pour dispenser ces médicaments
E. Le paracétamol IV peut être rétrocédé dans le contexte de la prise en charge de la douleur chronique rebelle.

QCM 9. Concernant la rétrocession hospitalière, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Tous les médicaments utilisés à l'hôpital peuvent être dispensés aux patients ambulatoires dans le contexte d'une rétrocession
B. La majorité des médicaments contre le VHC ne sont disponibles qu'à l'hôpital
C. Les médicaments sous AAC ou AAP ne sont pas disponibles en officine
D. La majorité des médicaments rétrocédables sont disponibles en officine
E. Toutes les PUI n'ont pas une activité de rétrocession

QCM 10. Concernant la pharmacie clinique en milieu carcéral, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. L'analyse pharmaceutique peut se faire dans l'unité sanitaire
B. Lors de l'analyse pharmaceutique, le dossier médical et la biologie sont consultés
C. Aucun suivi des neuroleptiques n'est nécessaire
D. Certains antidépresseurs inhibiteurs de la recapture de la sérotonine allongent l'intervalle QT
E. Les benzodiazépines à demi-vie courte sont à préférer chez la personne âgée

QCM 11. Concernant les missions du pharmacien clinicien, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les missions du pharmacien clinicien sont par exemple l'analyse pharmaceutique des prescriptions, sa participation aux staffs médicaux et paramédicaux mais pas celles de la formation, réservée aux instituts de formation ou à la faculté.
B. Créer et renforcer le lien ville-hôpital est une des missions du pharmacien hospitalier et ce, pour améliorer l'adhésion du patient à son traitement.
C. Le parcours patient implique une prise en charge globale, structurée et continue du patient, avec la mise en place d'un lien ville hôpital et pour des pathologies chroniques.
D. L'éducation thérapeutique du patient n'est proposée et réalisée que par les pharmaciens d'officine
E. La conciliation médicamenteuse n'implique pas le patient dans sa réalisation

QCM 12. Concernant la Radiopharmacie, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Un médicament radiopharmaceutique comporte dans sa structure un atome fluorescent
B. Différentes populations cellulaires peuvent être marquées *in vitro* avec un isotope radioactif à des fins diagnostiques
C. La préparation et la dispensation des médicaments radiopharmaceutiques sont réalisées dans une enceinte blindée.
D. La qualité de préparation des médicaments radiopharmaceutiques est contrôlée grâce notamment à des techniques radiochromatographiques.
E. Le principal isotope radioactif utilisé en Radiopharmacie est le plutonium 239.

QCM 13. Concernant les CarT cells, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Il existe plusieurs Car-T cells différents, ayant des AMM différentes
B. Un mois avant l'administration du Car-T cell, les patients doivent recevoir une chimiothérapie lymphodéplétive
C. Les Car-T cells sont stockés dans la vapeur d'azote à -80°C.
D. Le contact de la peau avec l'azote liquide entraine un risque de brûlure
E. Le traitement par Car-T cells expose le patient à un risque de syndrome de relargage cytokinique et de neurotoxicité

QCM 14. Concernant la gestion des essais cliniques à l'hôpital, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Les médicaments expérimentaux sont dispensés sur ordonnance nominative
B. Les médicaments expérimentaux sont toujours stockés à température contrôlée
C. Toutes les PUI peuvent effectuer des préparations de médicaments expérimentaux
D. Le promoteur de l'essai clinique peut être un CHU
E. Pour certains essais cliniques, l'unité de traitement à dispenser est attribuée par un système informatique en fonction du bras de randomisation du patient

QCM 15. A propos du système management qualité de la prise en charge médicamenteuse du patient, indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Repose uniquement sur des procédures et protocoles écrits.
B. Est un moyen déployé pour sécuriser la prise en charge médicamenteuse du patient.
C. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a priori*.
D. Fait appel à des méthodes de gestion des risques *a posteriori.*
E. Doit être impulsé, soutenu et accompagné par la direction de l'hôpital.

QCM 16. A propos des enquêtes ENEIS (enquêtes nationales sur les évènements indésirables liés aux soins), indiquez-la (les) proposition(s) exacte(s) :

A. Ces enquêtes concernent uniquement les évènements indésirables liés aux médicaments.
B. Elles ont révélé qu'environ 50% des évènements indésirables liés aux médicaments sont évitables.
C. L'enquête ENEIS 3 de 2019 a montré une réduction des événements indésirables par rapport aux enquêtes ENEIS de 2004 et 2009.
D. Ces enquêtes ont permis de mettre en évidence l'importance de l'iatrogénie médicamenteuse.
E. Les infections nosocomiales ne font pas partie du périmètre des enquêtes ENEIS.

QCM 17. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une plainte disciplinaire, déposée contre un pharmacien, responsable de l'industrie pharmaceutique ?

A. Cour d'appel
B. Cour d'appel administrative
C. Conseil d'Etat
D. Cour de cassation
E. Conseil national de l 'Ordre des pharmaciens

QCM 18. Quelle est la juridiction compétente, lors de l'introduction d'une requête en cassation relative à une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

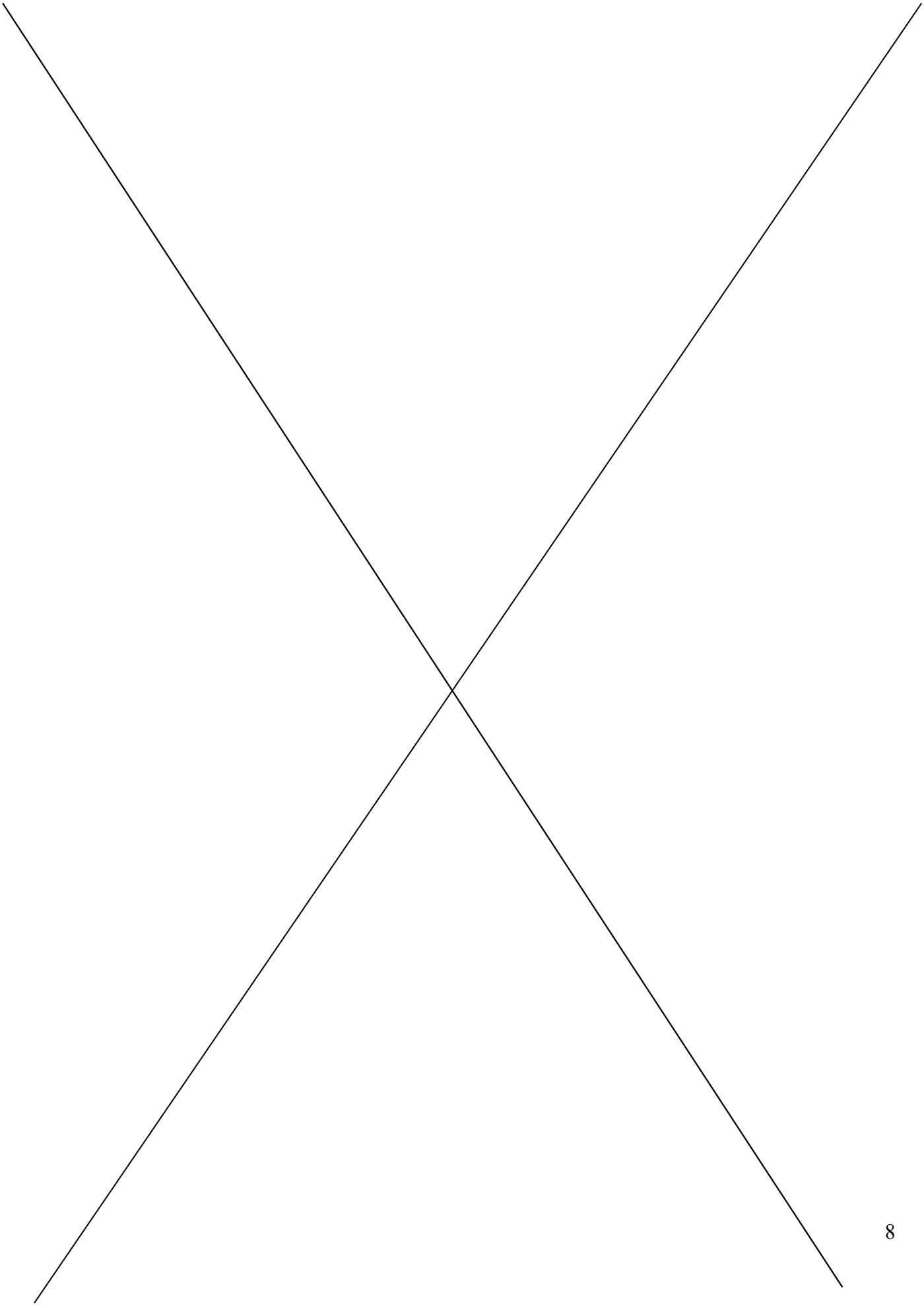
A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 19. Quelle est la juridiction compétente, en seconde instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Cour européenne des droits de l'Homme
B. Cour de cassation
C. Cour d'appel administrative
D. Cour d'appel
E. Conseil d'Etat

QCM 20. Quelle est la juridiction compétente, en première instance, lors d'une demande d'indemnisation d'un patient et/ou de sa famille, en cas d'accident thérapeutique intervenu dans un service hospitalier ?

A. Tribunal judiciaire
B. Tribunal de grande instance
C. Tribunal administratif
D. Tribunal de police
E. Tribunal ordinal



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Thérapeutiques alternatives - niveau 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE THERAPEUTIQUES ALTERNATIVES

4ème année - OFFICINE
Année 2023/ 2024

Semestre Printemps
1ère Session

FASCICULE 1

➢ QROC
(Homéopathie)

Répondre directement sur le fascicule

Calculatrice : non autorisée
Aucun document autorisé

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 3 pages numérotées de 1 à 3

UE– Thérapeutiques alternatives – Niveau 2
S Michalet-MG Dijoux-Franca
Responsable de l'UE : V. Siranyan
Enseignants de l'UE : Mme ROUX

QROC . Homéopathie et chimiothérapie

Les médicaments utilisés en prévention des effets secondaires de la chimiothérapie :

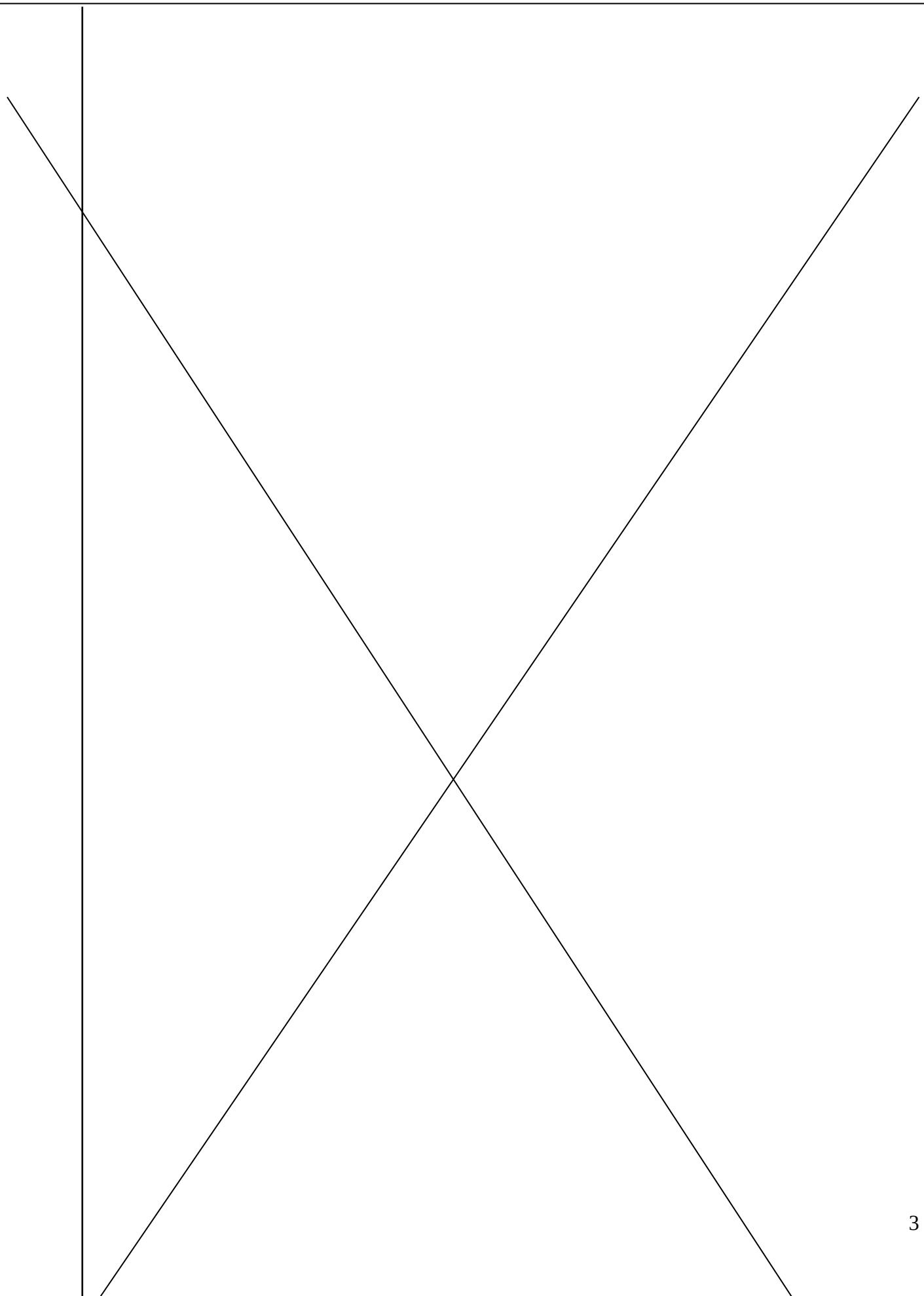
A/ Citer les 2 souches utilisées dans le traitement des nausées avec leur modalité principale de choix, et leurs posologies et dilutions.

B/ Citer une souche utilisée contre chacun des symptômes suivants– donner également les signes cliniques traités, ainsi que les posologies et les dilutions.

La fatigue :

Les gingivites :

Les troubles du sommeil :



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Module Thérapeutiques Alternatives*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE

DFASP1
UELC ACTUALITES DE LA PHARMACIE D'OFFICINE - 2
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 2 – THERAPEUTIQUES ALTERNATIVES PHYTOTHERAPIE

DUREE DE L'EPREUVE : 30 minutes comprenant 3 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 4 QROCs

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule n°2 comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 3 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 3

Module Thérapeutiques Alternatives - Phytothérapie
S. Michalet

Question 1

En phytothérapie on dit que l'activité du *totum* est supérieure à celle des fractions ou des composés isolés. Quels sont les éléments qui pourraient permettre d'expliquer cela ?

Question 2

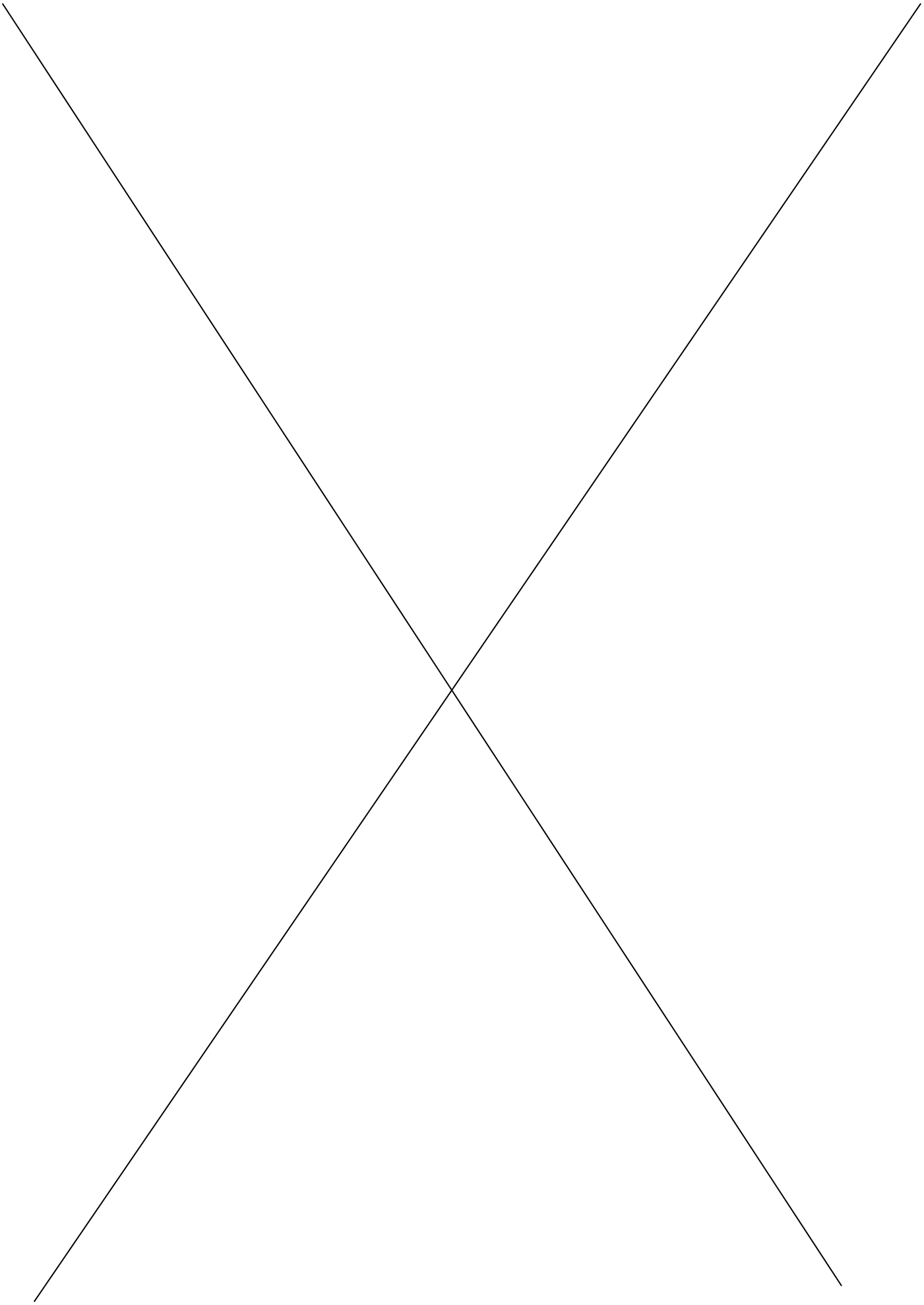
Citer 5 exemples de disciplines pouvant être rattachées aux études ethnopharmacologiques

Question 3

Qu'est-ce qu'un Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) ?

Question 4

Citer 5 éléments obligatoires et spécifiques aux produits à base de plantes à mentionner dans un essai clinique randomisé selon la grille CONSORT



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Module Thérapeutiques Alternatives*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE

DFASP1
UELC ACTUALITES DE LA PHARMACIE D'OFFICINE - 2
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 3 – THERAPEUTIQUES ALTERNATIVES AROMATHERAPIE

DUREE DE L'EPREUVE : 30 minutes comprenant 3 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 4 QCM (entourer les réponses justes)

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule n°3 comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 3 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 3

Module Thérapeutiques Alternatives - Aromathérapie
L. Montreuil, M. Jullien

Entourez les réponses justes

Question n°1

Un homme d'une trentaine d'années se présente à vous et vous dit :
« Bonjour, je viens vous voir car j'ai des nausées depuis hier soir. J'étais à une soirée, j'ai beaucoup mangé et pas mal arrosé ce repas.
Est-ce que vous auriez quelque chose à me conseiller pour éviter ces nausées ? Je suis particulièrement intéressé par les huiles essentielles (HE). »
Suite aux questions que vous lui posez, vous apprenez qu'il ne prend aucun traitement, n'a pas de pathologie chronique, pas d'antécédents particuliers ni d'allergie. Quel conseil lui proposez-vous ?

A. Vous lui proposez d'utiliser de l'HE de Thym à géraniol (*Thymus vulgaris* CT géraniol*)* 1 goutte 3 à 6 fois par jour pendant 48h. Cette HE sera prise sur un peu de mie de pain ou sur un sucre ou mélangée dan un peu de miel

B. Vous lui proposer de l'HE de Menthe poivrée (*Mentha* x *piperita*), prendre 1 goutte 3 à 6 fois par jour dans une cuillère à soupe d'huile végétale pendant 48h

C. Vous lui proposez d'utiliser de l'HE de Menthe poivrée (*Mentha* x *piperita*) 1 gouttes 3 à 6 fois par jour pendant 48h, en olfaction.

D. Vous lui proposez de l'HE de Gaulthérie couchée (*Gaultheria procumbens*), 1 goutte 3 à 6 fois/jour en olfaction.

E. Vous lui proposez de l'HE de Citron (*Citrus limon*), 1 goutte 3 à 6 fois/jour. Cette HE sera diluée dans un verre d'eau chaude qui sera bu.

Question n°2

Un patient se présente à vous à la pharmacie et vous évoque ses douleurs articulaires au genou. Il souhaiterait un conseil en aromathérapie pour les soulager.
Après interrogation, vous retenez qu'il n'a ni antécédents médicaux, ni pathologies associées.
Citez 2 huiles essentielles (nom vernaculaire + nom latin + partie distillée) ainsi qu'une voie d'administration que vous pouvez lui proposer :

Question n°3

Une patiente d'une vingtaine d'années vient vous voir à la pharmacie en vous évoquant une insomnie à l'endormissement.

Suite aux questions que vous lui posez, vous retenez les informations suivantes : elle est sous contraception orale, n'a pas d'enfant ni de pathologie chronique. Vous lui proposez de choisir parmi 2 propositions suivant ses préférences. Lesquelles ?

A. Vous lui proposez de l'HE de Lavande vraie (*Lavandula angustifolia*), 3 gouttes 3 à 6 fois/jour pures sous la langue.

B. Vous lui proposez de faire un mélange chez elle avec de l'HE de Menthe poivrée (*Mentha* x *piperita*), de Clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*) et d'HE d'Immortelle (*Helichrysum italicum*), 1 goutte 3 à 6 fois/jour en olfaction.

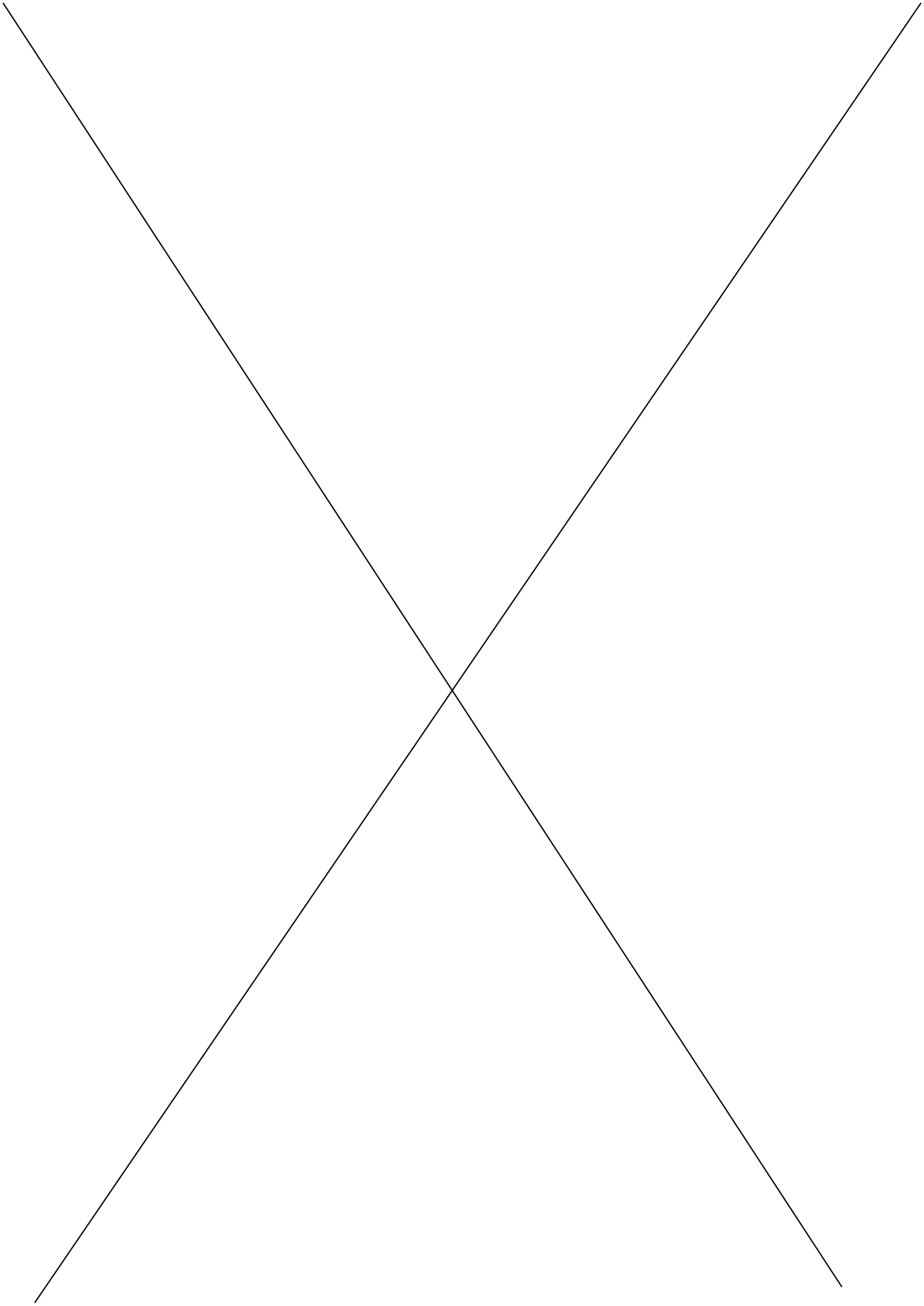
C. Vous lui proposez de l'HE de Petit grain Bigaradier (*Citrus aurantium* ssp *aurantium*), 1 goutte 3 à 6 fois/jour en olfaction, notamment le soir avant le repas et au coucher.

D. Vous lui proposez de l'HE de Gaulthérie couchée (*Gaultheria procumbens*) 1 goutte 3 à 6 fois/jour en olfaction, notamment le soir avant le repas et au coucher.

E. Vous lui proposez de l'HE de Lavande vraie (*Lavandula angustifolia*), 1 goutte 3 à 6 fois/jour en olfaction, notamment le soir avant le repas et au coucher.

Question n°4 :

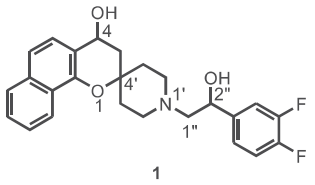
Citez deux huiles essentielles à fort pouvoir antibactérien (nom vernaculaire + nom latin + partie distillée) :



1. Introduction

Malaria remains a global and deadly infectious disease, with over 200 million annual cases and about half of the world's population at risk.[1–3] The heaviest burden of the disease is in sub-Sahara Africa, accounting for about 90% of all deaths predominantly children under five years.[3] Malaria is caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, which destroy infected red blood cells. *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* are the most prevalent of the five *Plasmodium* species known to cause the human disease.[4,5] The development of multi-drug resistant parasites has particularly made current available drugs less effective. Most drugs used for the treatment of malaria were either developed over 30 years ago or derived from older drugs, which makes the search for a novel line of therapy imperative.[6–9]

Natural products (NPs) and their derivatives or mimics have been a productive source of most of the active ingredients in drug development.[10–12] Besides their diversity, they are known to occupy biologically important chemical space with interesting physiochemical properties.[10,11] Interestingly, researchers have shown that the higher the fraction of saturated carbons, also known as the Fsp^3 character, the more bioavailable it will be.[13,14] Despite the advantages and successes of NPs, their use in drug discovery and development have declined due to the complexity of NP structures leading to synthetic challenges and concerns about intellectual property rights.[10,11] With a view to identify novel antimalarial scaffolds that could overcome the problem of drug resistance, screening of a set of compounds with NP-based sub-structural motifs led to the discovery of a spirocyclic chromane **1** (Fig. 1) with promising antimalarial activity against a chloroquine-resistant Dd2 strain and a chloroquine sensitive 3D7 strain of the parasite. Compound **1** exhibited excellent potency with a 50% effective concentration (EC_{50}) of 350 nM against the chloroquine-resistant Dd2 strain displaying a selectivity of over 50 against human liver HepG2 cells. Analysis of the physiochemical properties of spirocyclic compound **1** showed close compliance with Lipinski's parameters with an acceptable physiochemical profile. Biological evaluation indicated that spirocyclic chromane **1** is early-acting blocking parasite development at all erythrocytic stages including ring, trophozoite and schizont development as well as merozoite invasion. Most likely, spirocyclic chromane **1** also



1

Fig. 1. Structure of spirocyclic chromane **1**.

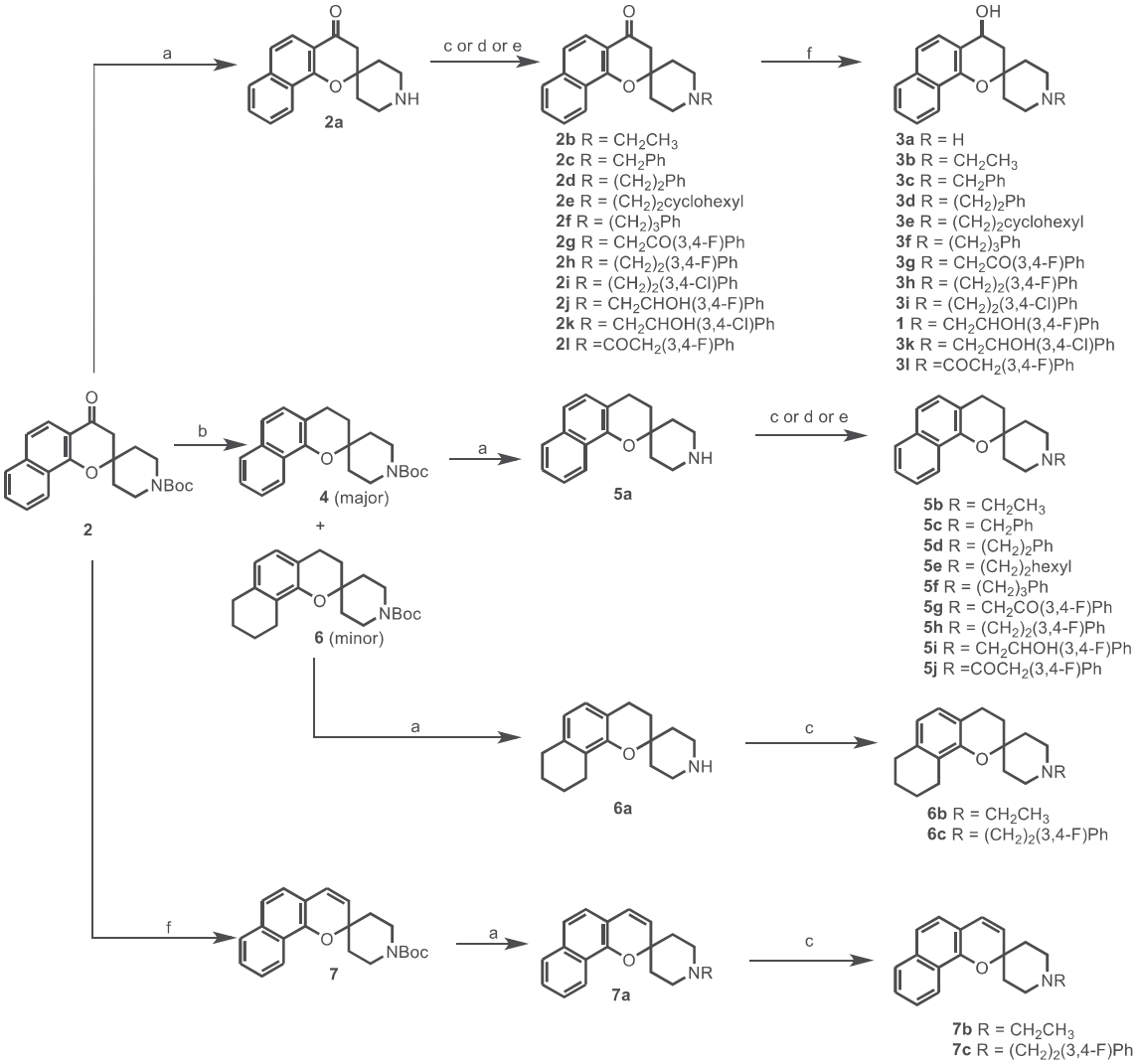
exhibits a cellular mechanism of action distinct from current antimalarials.[15]

2. Results and discussion

2.1. Chemistry

The synthesis of spirocyclic chromane **1** from α-naphthol was first reported by Roberts *et al.*[12,13] Due to its promising antimalarial activity and physicochemical properties, detailed structure activity relationship (SAR) and structure-property relationship (SPR) studies were carried out. The initial SAR study focused on determining the importance of the spirocyclic chromane moiety to its activity while also exploring the essence of the two alcohol groups. This study was considered to deduce if the stereogenic carbons were integral for the potency of spirocyclic chromane **1**. Various analogues of spirocyclic chromane **1** were synthesized from 4-oxo-3,4-dihydrospiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidine]-1′-carboxylate **2** as described below (Scheme 1).

The BOC-deprotection of *tert*-butyl 4-oxo-3,4-dihydrospiro[benzo[*h*]chromene-2,4′piperidine]-1′-carboxylate **2** using trifluoroacetic acid in dichloromethane afforded amine **2a** which was alkylated with alkyl halides to **2b**-i in moderate to good yields. Sodium borohydride reduction of the corresponding alkylated carbonyl compounds yielded the hydroxy analogues **3a-f** and **3**h-i. For spirocyclic chromanes **2j-k**, the corresponding epoxide, which was prepared from the sulfur ylide epoxidation of the aldehyde,[16] was refluxed with amine **2a** in ethanol and subsequently reduced to afford the hydroxy analogues **3h-i** in good yields. The bis-chlorinated analogues **2i**, **2k**, **3i** and **3k** were inspired by the studies carried out by Medicine for Malaria Ventures and GlaxoSmithKline (GSK).[17] Flexibility was also evaluated by altering the linker length between the spirocyclic moiety and the bis-fluorophenyl moiety. Commercially available benzylbromide, 2-phenethylbromide, and (3-bromopropyl)benzene were used to alkylate secondary amine **2a** to tertiary amines **2c**, **2d** and **2f**, which were then reduced to afford their 4-hydroxy analogues **3c**, **3d** and **3f**. The rigidified amide analogues were also prepared in an EDCI amide coupling reaction with 2-(3,4-



Scheme 1. Synthesis of analogues **2**, **3**, **5**, **6** and **7Reagents and conditions:** (a) TFA, DCM; (b) i) $NaBH_4$, EtOH, reflux ii) Pd/C, H_2, EtOH; (c) for **2b-2i**, **3a-3l**, **5b-5h**, **6b-6c** and **7b-7c**, RBr, K_2CO_3, DMF; (d) for **2j**, **2 k** and **5i** 2-(3,4-difluorophenyl)oxirane or 2-(3,4-dichlorophenyl)oxirane, EtOH reflux (e) for **2l** and **5j** 3,4-difluorobenzoic acid, EDCI, DMAP, DCM; (f) i) $NaBH_4$, EtOH, reflux ii) PTSA(cat.), THF, reflux.

difluorophenyl)acetic acid and amine **2a** to afford amide **2l**, which was then reduced to its 4-hydroxy analogue **3l**. All attempts to dehydroxylate alcohols **3a-3l** using Pd/C, Pd/$BaSO_4$ or Raney Nickel to afford the corresponding dehyroxylated products failed. An alternate approach consisting of an initial reduction of the carbonyl group of chromane **2** with sodium borohydride and subsequent hydrogenolysis of the 4-hydroxyl group using Pd/C in ethanol afforded the desired spirocyclic chromane **4** in good yield. However, a slightly less polar side product was also formed albeit in low yields. Interestingly, upon isolation and characterization, the side product was identified to be analogue **6**, whose outermost aromatic ring was fully saturated. Compound **6** was considered an interesting analogue to study the effect of increased Fsp^3 character by partial reduction of the naphthalene ring of the original compound **1**. Boc-deprotection of *tert*-butyl carboxylate **4** and subsequent alkylation of the resultant amine **5a** afforded the alkylated amines **5b-5h** in good yields. Treatment of amine **5a** with 2-(3,4-difluorophenyl)oxirane or 2-(3,4difluorophenyl)acetic acid afforded alcohol **5i** or amide **5j** respectively. Deprotection of *tert*-butyl carboxylate **6** with TFA in DCM and subsequent alkylation afforded alkylated analogues **6a-6c**. In order to study analogues with extended conjugation, 4-chromanone **2** was converted to chromene **7** via a carbonyl reduction followed by a PTSA-catalyzed dehydration. Boc-deprotection and *N*-alkylation afforded unsaturated analogues **7a-7c** in good yields (Scheme 1).

The spirocyclic piperidine ring in analogue **1** was examined to determine whether the original angle of 180° between the benzo[*h*]4-chromanone plane and the trajectory of the *N*-substituent of the piperidine ring was optimal. Chiral spirocyclic chromanes were synthesized from easily available starting materials as outlined in scheme 2.

Aldol condensation and cyclization of 1-(1-hydroxynaphthalen2-yl) ethan-1-one with Boc-protected piperidin-3-one in methanol using pyrrolidine afforded the racemic spirocyclic 4-chromanone **8** in moderate yield which was then deprotected. Resolution of the racemic spiro [benzo[*h*]chromene-2,3′-piperidin]-4(3*H*)-one (**8a**) was carried out by attaching the chiral auxiliary (*R*)-2-acetoxy-2-phenylacetic acid and separating the resulting two diastereomers (1*R*, 2*R*)-**9a** and (1*R*, 2*S*)-**9b** in good yield.[18] The more polar diastereomer was crystallized using vapor diffusion with dimethyl sulfoxide (DMSO) as the solution solvent and hexanes as the diffusion solvent and its absolute configuration was determined through single crystal X-ray diffraction analysis to be *S* at C11 and *R* at C19 (Fig. S1). Acid-catalyzed removal of the chiral auxiliary followed by chromatographic purification afforded the enantiomerically pure amines (2*R*)-**10a** and (2*S*)-**10d** that were then alkylated with selected alkyl bromides to corresponding amines (2*R*)-**10b-10c** and (2*S*)-**10e-10f**. The sodium borohydride reduction of the carbonyl group yielded 4-hydroxy analogues (2*R*)-**11a-11b** and (2*S*)-**11c-11d** in good yields (Scheme 2).

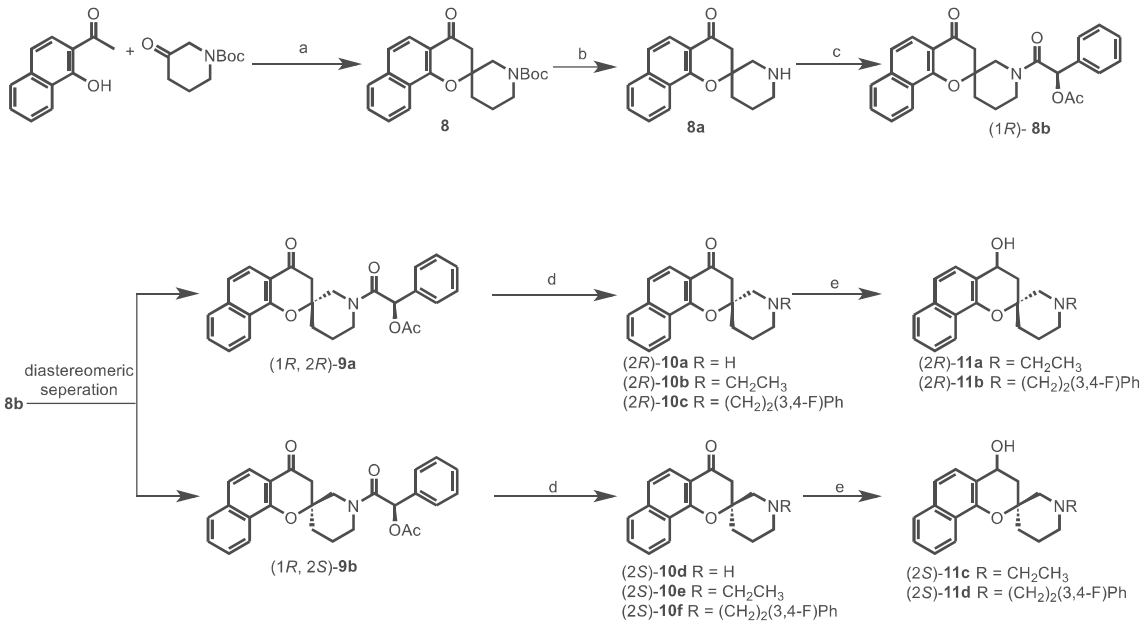
Lastly, the enantiopure isomers of the original spirocyclic compound **1** were synthesized (Scheme 3).

The enantiopure bisfluoro epoxides (1*R*)-**14a** and (1*S*)-**14b** were prepared in a 3-step synthesis starting from 1-(3,4-difluorophenyl) ethan-1-one which was brominated using cupric bromide in a mixture of chloroform and ethyl acetate to afford halide **12** in good yield. Reduction with (-)DIP-chloride™ or (+)-DIP-chloride™ at −41 °C in THF for 60 h afforded the enantiopure alcohol (1*R*)-**13a** and (1*S*)-**13b,** respectively.[19] The enantiopurity of (1*R*)-**13a** and (1*S*)-**13b** were determined by chiral SFC to be ≥ 98% (Fig. S2). Ring-opening reaction of both enantiopure epoxides (1*R*)-**14a** and (1*S*)-**14b** with amine **2a** yielded the enantiopure spirocyclic chromanes (1′*R*)-**2ma** and (1′*S*)-**2mb** which retained the excellent enantiomeric excess despite the base-catalyzed epoxidation and the subsequent epoxide ring-opening reaction (Fig. S3). Initial attempts to stereoselectively reduce the carbonyl group on (1′*R*)-**2ma** and (1′*S*)-**2mb** using (-)DIP-chloride™ or (+)-DIP-chloride™ failed, nevertheless ruthenium (II) catalyzed asymmetric transfer hydrogenation using formic acid and trimethylamine azeotropic mixture was successful in converting the carbonyl group to the required hydroxyl group. To a solution of ketone (1′*R*)-**2ma** in formic acid-trimethylamine azeotrope was added (*R*)-RuCl[(1*R*,2*R*)-p-TsNCH(C_6H_5)CH(C_6H_5)NH_2] (η^6-mesitylene) or (*S*)-RuCl[(1*S*,2*S*)-p- TsNCH(C_6H_5)CH(C_6H_5)NH_2](η^6-mesitylene), then stirred at room temperature for 48 h to afford the alcohol (4*R*,1′*R*)-**3ma** and (4*S*,1′*R*)-**3mb** in excellent diastereomeric excess. The diastereomeric alcohols (4*R*,1′*S*)-**3mc** and (4*S*,1′*S*)-**3md** were prepared similarly from the ketone (1′*S*)-**2mb**. (Scheme 3 and Fig. S4).[20,21]

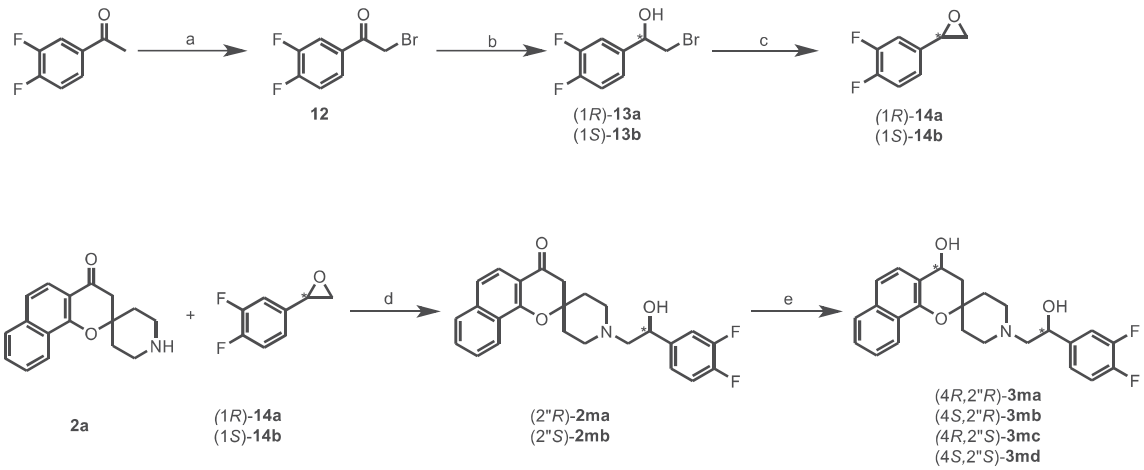
2.2. Biological evaluation

2.2.1. Structure-Activity relationship (SAR) studies

The initial SAR study focused on determining the importance of the spirocyclic chromane moiety to its activity while also exploring the



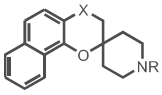
Scheme 2. Synthesis of chiral spirocyclic chromanes **Reagents and conditions:** (a) pyrrolidine, MeOH, reflux; (b) TFA, DCM; (c) (*R*)-2-acetoxy-2-phenylacetic acid, EDCI, DMAP, DCM; (d) for **10a** and **10d**, HCl, EtOH, reflux; then RBr, K_2CO_3, DMF (e) for **10b**, **10c**, **10e** and **10f**, $NaBH_4$, EtOH, reflux.



Scheme 3. Synthesis of enantiopure analogues **Reagents and conditions:** (a) $CuBr_2$, $CHCl_3$/EtOAc, reflux, 5 h; (b) (-)-DIP-Cl or (+)-DIP-Cl, THF, −41 °C, 60 h; (c) 15% NaOH/EtOH, rt, 2 h (d) EtOH, reflux; (e) Noyori (*R,R*) or Noyori (*S,S*), FA/TEA(5:2), rt, 48 h.

essence of the benzylic alcohols. This study was considered to deduce if stereogenic centers were integral for the activity of the spirocyclic chromane. Furthermore, as Fsp^3 benefits bioavailability, the optimization study focused on maintaining or increasing the Fsp^3 while improving antimalarial potency. The first sub-series of analogues was designed to probe the importance of the *N*-substituent of the piperidine ring and to test for the need of the hydroxyl groups (Table 1). The spirocyclic chromanes **2a**, **3a** and **5a**, whose piperidine nitrogen was unsubstituted, were 2-fold more potent than chromanes **2b**, **3b** and **5b** in which the piperidine's nitrogen was substituted with an ethyl chain. Replacing the hydroxyl group of the *N*-substituent by a carbonyl group or by a methylene in chromanes **3g** and **3h** reduced the potency by a factor of 10 and 2, respectively. Substituting the *ortho*-difluoro aryl group with an *ortho*-dichloro benzene moiety in compounds **3i** and **3k** did not display any significant improvements in potency. Similarly, replacement of the *ortho*-difluoro aryl group by a cyclohexyl ring **3e** did

Table 1
Optimal oxidation state of C-4 and the *N*-substituent of the piperidine ring.

Compound			Dd2EC$_{50}$ (μM)	HepG2EC$_{50}$ (μM)	Selectivity
	X	R			
2a	CO	H	2.27 ± 0.1	7	3.2
2b	CO	CH_2CH_3	>2.5	18	4.7
2c	CO	CH_2Ph	>2.5	11	4.0
2d	CO	$(CH_2)_2Ph$	0.53 ± 0.02	8	14.0
2e	CO	$(CH_2)_2$cyclohexyl	0.71 ± 0.03	16	31.2
2f	CO	$(CH_2)_3Ph$	0.48 ± 0.09	>20	>36.5
2g	CO	CH_2CO(3,4-F)Ph	1.30 ± 0.08	4	2.7
2h	CO	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	>2.5	>20	4.0
2i	CO	$(CH_2)_2$ (3,4-Cl)Ph	>2.5	n.d.	n.d.
2j	CO	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	0.85 ± 0.02	>20	>6.1
2k	CO	CH_2CHOH(3,4-Cl)Ph	>2.5	n.d.	n.d.
2l	CO	$COCH_2$(3,4-F)Ph	>2.5	18	<3.6
3a	CHOH	H	0.51 ± 0.04	>20	>54.5
3b	CHOH	CH_2CH_3	>2.5	16	3.2
3c	CHOH	CH_2Ph	0.93 ± 0.07	6	5.7
3d	CHOH	$(CH_2)_2Ph$	0.32 ± 0.09	>20	>68.9
3e	CHOH	$(CH_2)_2$cyclohexyl	0.50 ± 0.09	14	35.1
3f	CHOH	$(CH_2)_3Ph$	0.65 ± 0.03	1	2.0
3g	CHOH	CH_2CO(3,4-F)Ph	>2.5	33	<6.7
3h	CHOH	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	0.53 ± 0.04	>20	>32.5
3i	CHOH	$(CH_2)_2$ (3,4-Cl)Ph	2.10 ± 0.09	n.d.	n.d.
1	CHOH	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	0.32 ± 0.05	>20	>53.3
3k	CHOH	CH_2CHOH(3,4-Cl)Ph	1.84 ± 0.07	n.d.	n.d.
3l	CHOH	$COCH_2$(3,4-F)Ph	>2.5	5	<1
5a	CH_2	H	>2.5	>20	4.0
5b	CH_2	CH_2CH_3	0.55 ± 0.02	>20	>52.1
5c	CH_2	CH_2Ph	>2.5	>20	4.0
5d	CH_2	$(CH_2)_2Ph$	2.06 ± 0.15	>20	>9.6
5e	CH_2	$(CH_2)_2$cyclohexyl	1.47 ± 0.19	2	1.1
5f	CH_2	$(CH_2)_3Ph$	1.41 ± 0.24	>20	>45.6
5 g	CH_2	CH_2CO(3,4-F)Ph	>2.5	>20	>5.5
5 h	CH_2	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	1.91 ± 0.18	>20	4.0
5i	CH_2	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	0.53 ± 0.04	>20	>10.4
5j	CH_2	$COCH_2$(3,4-F)Ph	>2.5	5	<1

n.d. = not determined

not improve the potency as it displayed similar potency as reference compound **1**. Finally, amide analogue **3l** lacked antimalarial activity. This was consistent with other amides **2l** and **5j**. Next, the importance of the C-4 position was investigated. In this sub-series, the hydroxyl group in compounds **3e-3l** appeared to play a more important role than their close carbonyl analogues **2e-2l**. In contrast, there was no clear potency pattern observed for compounds **5a-5i**, in which the hydroxyl group in C-4 position was completely removed. However, it was evident that the hydroxyl group improved the selectivity as compound **3a** and **1** displayed the highest selectivity of > 53 against human liver HepG2 cells in this series of compounds tested. In summary, although no compounds of this first sub-series showed better potency than reference compound **1**, cyclohexyl-substituted analogue **3e** was equipotent to reference **1** with an EC_{50} value of 0.32 μM. The next sub-series of spirocyclic chromanes **2c-2f**, **3c-3f** and **5c-5f** were synthesized to study the linker length between the piperidine nitrogen and the terminal aromatic residue. For example, for 4-hydroxy-substituted homologues **3c-3f**, a potency trend was observed with compound **3d** with two methylene units being more potent than analogue **3c** containing one methylene unit, which was more potent than molecule **3f** with three methylene units. Though such an activity pattern was not definite for compounds with a carbonyl or methylene group at the C-4 position, homologues **2c** and **5c** with a one methylene unit linker were the least potent in this sub-series. 4-Hydroxysubstituted analogue **3d** with an EC_{50} of 0.32 μM was equipotent as reference compound **1** and it displays a slightly higher selectivity over HepG2 (Table 1).

On reduction of the outermost ring of benzo[*h*]chromane yielded 7,8,9,10-tetrahydrobenzo[*h*] chromane **6a-6c**, the antiplasmodial potency against the Dd2 strain was lost (Table 2). Next, a small set of benzo[*h*]chromenes **7a-7c** (Table 2) were prepared and tested. Compound **7a** unsubstituted at the piperidine's nitrogen was the best in this series and slightly more potent than *N*-alkylated analogues **7b** and **7c** with EC_{50} values of 1.14 μM and 1.98 μM, respectively. Compound **7a** was also equipotent to reference compound **1** and also displayed the best selectivity in this entire sub-series.

A set of compounds **10a-10f** and **11a-11d** (Table 3) differing in the 180° angle between the benzo[*h*]4-chromane plane and the *N*-substituent of the piperidine ring of reference compound **1**. The *S*-enantiomer showed a clear pattern of at least 3-fold increase in potency compared to lthe corresponding *R*-enantiomer in all the sets of analogues made. Compound (*S*)-**10c**, the most potent compound in this sub-series with an EC_{50} value of 0.33 μM was over 5-fold more potent than (*R*)-**10f** with an EC_{50} value of 1.84 μM. Besides potency, (*S*)-**10c** is also more selective and less toxic compared to (*R*)-**10f**. In contrast to previously observed activity trends, the analogues with a carbonyl at the C-4 position **10c** and **10f** were slightly more potent than those with a hydroxyl group in the C-4 position.

Spirocyclic chromane **1** possesses two stereogenic carbons, and enantiopure analogues **3ma-3mb** (Table 4) were prepared to assess whether one of the four possible stereoisomers is more potent than others. The *cis* analogue (4*R*,2″*R*)-**3ma** was the most potent isomer with an EC_{50} value of 1.06 μM. Strikingly, isomer (4*R*,2″*R*)-**3ma** is still over 2-fold less potent compared to the reference compound **1**. In contrast, the enantiomer (4*S*,2″*S*)-**3md** was about 2-fold less potent and over 4-fold less potent than reference compound **1** comprising of four stereoisomers. This is an uncommon scenario and possibly implies a synergistic effect of the stereoisomers or the potential that the mixture of stereoisomers hit multiple targets.

A selection of promising spirocyclic chromane analogues in addition to reference compound **1** were tested against the chloroquine sensitive D6 and the artemisinin resistant ARC08-022 strains of *Plasmodium falciparum*.[22] The original compound **1** had an EC_{50} of 1.48 μM and 1.81 μM against D6 and ARC08-022 respectively. This represents at least a 3-fold loss in potency agains the chloroquine-resistant Dd2 strain and the chloroquine sensitive 3D7 strain of the parasite. In comparison to spirocyclic chromane **1**, analogues **2h** and **5i** with a hydroxyl group at *C*2″-position were more potent with 0.26 μM and 0.31 μM, respectively against the D6 strain regardless of the substitution at the C-4 position (Table 5).

2.2.2. Structure-Property relationship (SPR) studies

In parallel to the testing of spirocyclic chromanes for in vitro antimalarial activity, a structure-property relationship (SPR) study was conducted to identify potential physicochemical liabilities (Tables 6–8). The log $D_{3.0}$ and log $D_{7.4}$, the distribution coefficient between octanol and water at pH 3.0 and pH 7.4, were experimentally determined via a previously described HPLC-based method.[23] As previously disclosed, aqueous solubility at pH 7.4 was determined using a Biomek FX lab automation workstation with pION μSOL evolution software, whereas aqueous solubility at pH 2.0 was measured in an in-house implemented HPLC assay.[24] In summary, spirocyclic chromanes' aqueous solubility and distribution coefficient log $D_{3.0}$ and log $D_{7.4}$ displayed a pH dependence (Tables 6–8).

The majority of the compounds are highly soluble due to the piperidine moiety, whereas a very few analogues display a solubility below 20 μM. The majority of the compounds are slightly more soluble in more acidic environments. Similarly, the distribution coefficient log *D* is lower at low pH ranges. As the physicochemical properties of the potent compounds are well within the acceptable rages with solubility values of > 20 μM and log *D* values of 1–4, the spirocyclic chromane compound series is considered to be well equipped for the development of orally bioavailable antimalarials.

During our optimization, we also calculated the fraction of saturated carbons Fsp^3 to quantify the flatness of our molecule designs. According to the literature, compounds with an Fsp^3 value of greater than 0.45 possess good bioavailability, and our compound optimization focused on maintaining or improving the Fsp^3.[13,14] Hit compound **1** displayed an Fsp^3 value of 0.36, whereas approximately 60% of the synthesized analogues displayed Fsp^3 of 0.36 or higher (Figure 2). Molecule designs **3e** and **5e**, or **6a** and **6b** with significantly increased Fsp^3 character were combined with a loss of potency.

2.2.3. Discussion

Spirocyclic chromane **1** was identified when a compound collection containing NP-like structural motifs was screened to identify novel antimalarial compounds which interact with cellular targets different from those of current antimalarials. Its potency against the chloroquine resistant Dd2 strain underlines the possibility of its development to

Table 2
SAR studies on the benzochromane moiety.

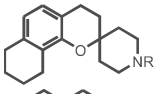
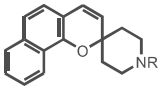
Structure	Compound	R	Dd2EC_{50} (μM)	HepG2EC_{50} (μM)	Selectivity
	**6a**	H	>2.5	>20	4.0
	6b	CH_2CH_3	>2.5	5	<1
	6c	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	>2.5	>20	4.0
	**7a**	H	0.49 ± 0.08	>20	>45.6
	7b	CH_2CH_3	1.14 ± 0.16	12	9.7
	7c	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	1.98 ± 0.08	13	7.2

Table 3
Optimal angle of the trajectory of the *N*-substituent of the piperidine ring.

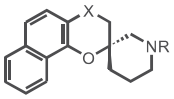
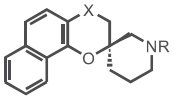
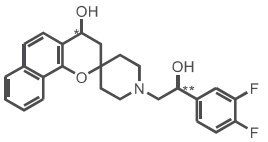
Structure	Compound	X	R	Dd2EC$_{50}$ (μM)	HepG2EC$_{50}$ (μM)	Selectivity
	**10a**	CO	H	0.63 ± 0.08	5	9.0
	10b	CO	CH_2CH_3	>2.5	8	<1.6
	10c	CO	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	0.33 ± 0.04	14	34.2
	11a	CHOH	CH_2CH_3	0.63 ± 0.06	>20	>28.8
	11b	CHOH	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	0.61 ± 0.05	>20	>34.5
	**10d**	CO	H	1.20 ± 0.17	4	2.4
	10e	CO	CH_2CH_3	>2.5	5	1.3
	10f	CO	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	1.84 ± 0.15	10	5.8
	11c	CHOH	CH_2CH_3	>2.5	>20	>7.6
	11d	CHOH	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	>2.5	6	1.9

Table 4
Enantiopure analogues.



Compound	*	**	Dd2EC$_{50}$ (μM)	HepG2EC$_{50}$ (μM)	Selectivity
3ma	*R*	*R*	1.06 ± 0.16	17.0 ± 0.94	16
3mb	*R*	*S*	>2.5	17.0 ± 0.88	<7
3mc	*S*	*R*	1.29 ± 0.23	>20	>15
3md	*S*	*S*	1.79 ± 0.23	>20	11

Table 5
Potency against other *Plasmodium* strains.

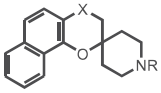
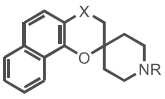
Compound			D6EC$_{50}$ (μM)	ARC08-022EC$_{50}$ (μM)
	X	R		
1	CHOH	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	1.48	1.81
2h	CO	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	0.26	0.86
3e	CHOH	$(CH_2)_2$cyclohexyl	0.50	0.63
3i	CHOH	CH_2CHOH(3,4-Cl)Ph	1.32	2.01
5i	CH_2	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	0.31	0.97

Table 6
Solubility and Log *D*.

Compound			Log *D*		Solubility[a]	
	X	R	pH 3.0	pH 7.4	pH 2.0	pH 6.5
2a	CO	H	1.48	1.78	*****	*****
2b	CO	CH_2CH_3	1.65	2.19	*****	*****
2e	CO	$(CH_2)_2$cyclohexyl	2.99	4.50	***	**
2g	CO	CH_2CO(3,4-F)Ph	1.52	1.82	****	****
2h	CO	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	2.56	3.81	*****	**
2j	CO	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	2.79	4.51	*****	*
2l	CO	$COCH_2$(3,4-F)Ph	4.00	4.03	ND	*
3a	CHOH	H	2.04	2.46	****	*
3b	CHOH	CH_2CH_3	1.51	1.88	***	***
3e	CHOH	$(CH_2)_2$cyclohexyl	2.97	3.54	****	***
3g	CHOH	CH_2CO(3,4-F)Ph	1.53	0.89	***	***
3h	CHOH	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	2.62	3.15	*****	*****
3j	CHOH	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	2.79	4.51	*****	*
3l	CHOH	$COCH_2$(3,4-F)Ph	2.04	2.46	ND	ND
5a	CH_2	H	1.97	2.33	****	***
5b	CH_2	CH_2CH_3	2.17	2.88	*	*
5e	CH_2	$(CH_2)_2$cyclohexyl	ND	4.74	****	ND
5g	CH_2	CH_2CO(3,4-F)Ph	ND	2.51	***	***
5h	CH_2	CH_2CHOH(3,4-F)Ph	3.29	4.51	***	ND
5i	CH_2	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	3.05	4.00	****	*
5j	CH_2	$COCH_2$(3,4-F)Ph	4.02	4.04	ND	ND

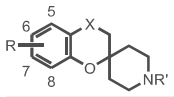
[a] (*) For solubility ≤ 10 μM. (**) For 10 μM < solubility ≤ 20 μM. (***) For 20 μM < solubility ≤ 40 μM. (****) For 40 μM < solubility ≤ 80 μM. (*****) For solubility ≥ 80 μM.

overcome the problem of drug-resistant malaria. Good physiochemical properties and the compliance with Lipinski's parameters makes spirocyclic chromane **1** a good candidate for hit-to-lead development of an orally bioavailable antimalarial. The SAR study revealed several trends namely that a larger *N*-substituent on the piperidine ring improved its potency. Importantly, the optimum linker length between the piperidine's nitrogen and the terminal aryl moiety was two methylene units as antimalarial activity decreased with a longer linker length. Furthermore, it was observed that the substitution of the C-4 position is essential for both activity and physiochemical properties. Although no clear deductions regarding activity was made from the effect of the hydroxyl group on the stereogenic carbons, these hydroxyls did have an impact on the solubility and log *D*. Flexibility was identified as essential for the activity of the spirocyclic chromanes. Antimalarial potency was completely lost in compounds **2l**, **3l** and **5j** which were rigidified by an amidation of the piperidine's nitrogen. Attempts to increase the Fsp^3 character by either substituting the naphthalene moiety with a simple benzene ring or reducing one of the naphthalene rings did not show any improvements in potency. Changing the angle between the chromane plane and the *N*-substituent, basically the trajectory of the *N*-substituent in relation to the chromane, helped to identify the most potent enantiomer. However, these stereoisomers were at best equipotent to the original compound and hence these did not provide major improvements over the original compound **1**. Substituting with benzo[*f*]chromane and benzo[*g*]chromane analogues thereby changing the geometry of the compounds revealed some interesting properties and activity patterns. Analogues **3mb** and **3md** showed a decrease in potency compared to **3ma** and **3mc**. Surprisingly, the four enantiopure analogues of spirocyclic chromanes **1** were not as potent as their diastereomeric mixtures. This uncommon trend would require exploration of their mode of action to understand the reason for the synergy.

3. Conclusion

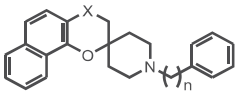
Spirocyclic chromane **1** was found to display antiplasmodial activity in both the chloroquine resistant Dd2 and chloroquine sensitive 3D7 strains. Inspired and encouraged by such an antimalarial activity and promising physiochemical properties, a library of 54 spirocyclic chromane analogues bearing a variety of *N*-substituents, varying angles of the trajectory of the *N*-substituent of the piperidine ring, different degree

Table 7
Solubility and Log *D*.

Compound				Log *D*		Solubility[a] (μM)	
	R	X	R'	pH 3.0	pH 7.4	pH 2.0	pH 6.5
6a	7,8-cyclohexane	CH_2	H	1.48	1.78	*	**
6b	7,8-cyclohexane	CH_2	CH_2CH_3	2.04	2.46	***	*
6c	7,8-cyclohexane	CH_2	$(CH_2)_2$(3,4-F)Ph	1.97	2.33	**	*

[a] (*) For solubility ≤ 10 μM. (**) For 10 μM < solubility ≤ 20 μM. (***) For 20 μM < solubility ≤ 40 μM. (****) For 40 μM < solubility ≤ 80 μM. (*****) For solubility ≥ 80 μM.

Table 8
Solubility and Log *D*.

Compound			Log *D*		Solubility[a] (μM)	
	X	n	pH 3.0	pH 7.4	pH 2.0	pH 6.5
2c	CO	1	2.37	4.31	*****	****
2d	CO	2	2.61	4.12	*****	****
2f	CO	3	2.74	4.00	****	***
3c	CHOH	1	2.27	2.97	****	****
3d	CHOH	2	2.52	3.11	****	****
3f	CHOH	3	2.71	3.19	*****	*****
5c	CH_2	1	ND	4.49	***	ND

[a] (*) For solubility ≤ 10 μM. (**) For 10 μM < solubility ≤ 20 μM. (***) For 20 μM < solubility ≤ 40 μM. (****) For 40 μM < solubility ≤ 80 μM. (*****) For solubility ≥ 80 μM.

of oxidation of C-4 and different level of flexibility. Structural features essential for antimalarial activity were identified to be the spirocyclic chromane motif and flexibility. Compounds **3d** and **10c** were equipotent and **3d** was also more selective and less toxic than the original spirocyclic chromane **1**. Furthermore, the entire library of compounds was subjected to experimental profiling of physiochemical properties such as aqueous solubility and distribution coefficient log *D* in order to assess the potential for oral bioavailability. Most of the analogues possess an impressive solubility and log *D* with appreciable Fsp^3 of approximately 0.4 indicating that spirocyclic chromanes have great potential as orally bioavailable antimalarial candidates.

4. Experimental section

4.1. Compound Synthesis

General. All reagents and solvents were obtained from Aldrich Chemical Co. and used without further purification. NMR spectra were recorded at ambient temperature on a 400 MHz or 500 MHz or 600 MHz Varian NMR spectrometer in the solvent indicated. All ^{1}H NMR experiments are reported in δ units, parts per million (ppm) downfield of TMS, and were measured relative to the signals of chloroform (7.26 ppm) and dimethylsulfoxide (2.50 ppm) with ^{1}H decoupled observation. Data for ^{1}H NMR are reported as follows: chemicals shift (*δ* ppm), multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, p = pentet, sext = sextet, sept = septet, oct = octet, m = multiplet), integration and coupling constant (Hz) whereas ^{13}C NMR analyses were reported in terms of chemical shift. NMR data was analyzed by using MestReNova Software version 6.0.2–5475. The purity of the final compounds was determined to be ≥ 95% by high-performance liquid chromatography (HPLC) using an Agilent 1100 LC/MSD-VL with electrospray ionization. Low resolution mass spectra were performed on an Agilent 1100 LC/MSD-VL with electrospray ionization. High-resolution mass spectra (HRMS) were performed on an Agilent LC/MSD TOF system G3250AA. Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on silica gel 60 F254 precoated plates (0.25 mm) from EMD Chemical Inc., and components were visualized by ultraviolet light (254 nm). EMD silica gel 230–400 (particle size 40–63 μm) mesh was used for all flash column chromatography.

General procedure A. To a solution of the ethanone (1 equiv.) and carboxylate (1 equiv.) in absolute methanol (2.5 mL / mmol) was added pyrrolidine (2.6 equiv.) and heated to reflux for 8 h under N_2. The methanol was removed under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography.

General procedure B. A stirred solution of the protected carboxylate (1 equiv.) in DCM (1.0 M) at 0 °C was added TFA (1 equiv.) drop wise and the reaction mixture was allowed to warm up to room temperature. After 2 h, the reaction was diluted with water and extracted with DCM (2 ×). The aqueous layer was basified to pH 9.0 with 10% NaOH and then extracted with DCM (3 ×). The organic layer was combined, dried with sodium sulfate and concentrated under reduced pressure.

General procedure C. To a solution of benzaldehyde (1 equiv.) and

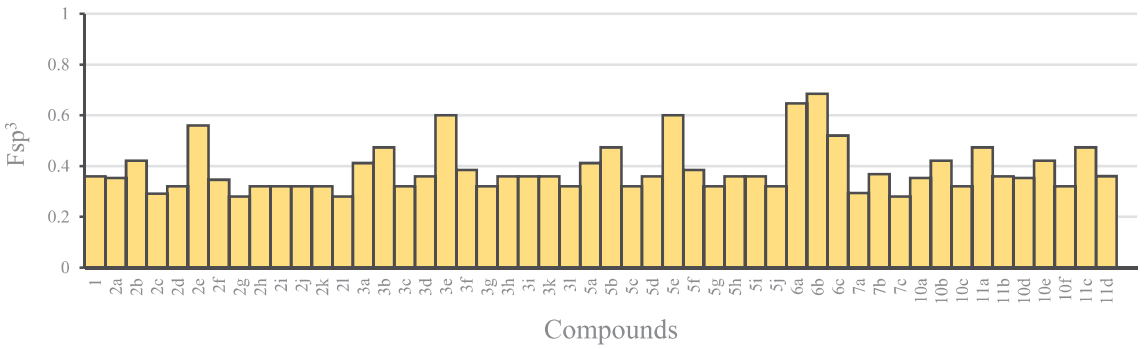


Fig. 2. The fraction of saturated carbons Fsp^3 of all synthesized compounds. Hit compound **1** possesses an Fsp^3 of 0.36. Over 60% of the analogues possessed an Fsp^3 of ≥ 0.36.

trimethylsulfonium iodide (Me_3SI) (1.5 equiv.) in acetonitrile (2 mL) and water (5 μL) was added potassium hydroxide pellets (2 equiv.). The mixture was stirred at 80 °C for 4 h and then cooled; the acetonitrile was removed by rotatory evaporator. The residue was treated with a solution of water (5 mL) and sodium hypochlorite or bleach (1.5 mL) followed by extraction with diethyl ether (5 mL × 3). The organic layer was combined, dried with sodium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure and then purified by flash chromatography.

General procedure D. A solution of the amine (1 equiv.) and the epoxide (1 equiv.) in ethanol (0.1 M relative to the epoxide) was heated to reflux for 18 h. Ethanol was removed under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography.

General procedure E. To a solution of the carbonyl (1 equiv.) in absolute ethanol (0.1 M relative to the carbonyl) was added sodium borohydride (3 equiv.). The reaction mixture was heated at reflux overnight and then cooled. Ethanol was removed under reduced pressure, the residue was diluted with water (1 × the volume of ethanol) and extracted with ethyl acetate (5 × the volume of ethanol). The combined organic layer was dried with sodium sulfate, the solvent was evaporated, and the residue was purified by flash chromatography.

General procedure F. To a solution of the amine (1 equiv.) and halide (1 equiv.) in DMF (0.1 M relative to the halide) was added potassium carbonate (2 equiv.). The reaction mixture was stirred at room temperature until the starting halide was judged consumed by TLC analysis (8 h unless otherwise stated). The reaction was diluted with water (3 × the volume of DMF) and extracted with ethyl acetate (5 × the volume of DMF) thrice. The combine organic layer was washed with brine (5 × the volume of DMF), dried with sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified by flash chromatography.

General procedure G. To a solution of the chromane (1 equiv.) in ethanol (0.1 M relative to the chromane) was added Pd/C (0.5 equiv.) and stirred overnight under hydrogen balloon. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite, rinsed with ethyl acetate (2 × the volume of ethanol). The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified by flash chromatography.

General procedure H. To a solution of the amine (1 equiv.) and the acid (1 equiv.) in DCM (0.1 M relative to the amine) was added EDCI (2 equiv.) and DMAP (0.2 equiv.). The reaction mixture was stirred at room temperature until the starting material was consumed by TLC analysis (6 h unless otherwise stated). The reaction was quenched with water (2 × the volume of DCM) and extracted with DCM thrice. The combine organic layer was dried with sodium sulfate, the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified by flash chromatography.

1′-Ethylspiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3*H*)-one (2b). General procedure F was used to alkylate **2a** (100 mg, 0.37 mmol) with bromoethane (40 mg, 0.37 mmol) using potassium carbonate (102 mg, 0.74 mmol) in DMF (4 mL). It was purified by flash chromatography (DCM:MeOH = 30:1) to afford **2b** (83 mg, 75%) as a white solid. R_f (DCM:MeOH = 10:1) = 0.45. ^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.35 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.86 – 7.83 (m, 1H), 7.79 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.64 – 7.60 (m, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 1H), 7.40 – 7.37 (m, 1H), 2.83 – 2.74 (m, 4H), 2.54 – 2.47 (m, 4H), 2.26 – 2.19 (m, 2H), 1.87 (t, J = 10.7 Hz, 2H), 1.12 (t, 3H). ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 191.69, 157.34, 137.90, 129.63, 128.09, 126.34, 125.56, 123.46, 121.64, 120.70, 115.24, 79.19, 52.53, 48.89, 47.79, 34.56, 12.31. HRMS (ESI) calcd for $C_{19}H_{24}NO_2$ $[M + H]^+$: 296.1645, found: 296.1638.

1′-Benzylspiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3*H*)-one (2c). General procedure F was used to alkylate **2a** (300 mg, 1.12 mmol) with (bromomethyl)benzene (191 mg, 1.12 mmol) using potassium carbonate (310 mg, 2.24 mmol) in DMF (8 mL) for 1 h. It was purified by flash chromatography (Hexanes:EtOAc = 1:1) to afford **2c** (375 mg, 94%) as a yellow solid. R_f (EtOAc) = 0.35. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.31 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.64 – 7.61 (m, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.36 – 7.31 (m, 4H), 7.29 – 7.24 (m, 1H), 3.60 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.71 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 2.61 – 2.53 (m, 2H), 2.18 (d, J = 12.3 Hz, 2H), 1.89 – 1.79 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 191.65, 157.31, 138.01, 137.83, 129.57, 129.30, 128.35, 128.02, 127.25, 126.30, 125.51, 123.46, 121.57, 120.63, 115.18, 79.12, 63.15, 49.00, 47.70, 34.51. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{24}NO_2$ $[M + H]^+$: 358.1802, found: 358.1780.

1′-Phenethylspiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3*H*)-one (2d). General procedure F was used to alkylate **2a** (200 mg, 0.75 mmol) with (2-bromoethyl)benzene (138 mg, 0.75 mmol) using potassium carbonate (207 mg, 1.5 mmol) in DMF (5 mL). It was purified by flash chromatography (Hexanes:EtOAc = 1:1) to afford **2d** (224 mg, 80%) as a yellow solid. R_f (EtOAc) = 0.35. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.41 – 8.31 (m, 1H), 7.86 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.83 – 7.76 (m, 1H), 7.67 – 7.60 (m, 1H), 7.59 – 7.52 (m, 1H), 7.39 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.35 – 7.27 (m, 2H), 7.25 – 7.15 (m, 3H), 2.84 (d, J = 8.0 Hz, 6H), 2.77 – 2.67 (m, 2H), 2.67 – 2.54 (m, 2H), 2.29 – 2.15 (m, 2H), 1.96 – 1.76 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 191.66, 157.32, 140.37, 137.88, 129.62, 128.79, 128.53, 128.07, 126.34, 126.21, 125.54, 123.45, 121.62, 120.70, 115.23, 79.12, 60.70, 49.28, 47.79, 34.62, 33.98. HRMS (ESI) calcd for $C_{25}H_{26}NO_2$ $[M + H]^+$: 372.1958, found: 372.1939.

1′-(2-Cyclohexylethyl)spiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3H)-one (2e). General procedure F was used to alkylate **2a** (300 mg, 1.12 mmol) with (2-bromoethyl)cyclohexane (214 mg, 1.12 mmol) using potassium carbonate (310 mg, 2.24 mmol) in DMF (8 mL). It was purified by flash chromatography (Hexanes:EtOAc = 2:1) to afford **2e** (260 mg, 61%) as a yellow solid. R_f (EtOAc) = 0.35. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.43 – 8.24 (m, 1H), 7.84 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.66 – 7.58 (m, 1H), 7.59 – 7.50 (m, 1H), 7.37 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 2.80 (s, 2H), 2.77 – 2.63 (m, 2H), 2.56 – 2.37 (m, 4H), 2.26 – 2.13 (m, 2H), 1.91 – 1.78 (m, 2H), 1.75 – 1.56 (m, 5H), 1.47 – 1.35 (m, 2H), 1.33 – 1.10 (m, 4H), 1.01 – 0.83 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 191.77, 157.40, 137.88, 129.60, 128.06, 126.31, 125.57, 123.52, 121.63, 120.64, 115.23, 79.28, 56.83, 49.44, 47.80, 36.50, 34.95, 34.66, 33.63, 26.73, 26.45. HRMS (ESI) calcd for $C_{25}H_{32}NO_2$ $[M + H]^+$: 378.2428, found: 378.2406.

1′-(3-Phenylpropyl)spiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3*H*)-one (2f). General procedure F was used to alkylate **2a** (200 mg, 0.75 mmol) with (3-bromopropyl)benzene (149 mg, 0.75 mmol) using potassium carbonate (207 mg, 1.5 mmol) in DMF (5 mL). It was purified by flash chromatography (Hexanes:EtOAc = 1:1) to afford **2f** (159 mg, 55%) as a yellow solid. R_f (EtOAc) = 0.24. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.38 – 8.31 (m, 1H), 7.85 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.82 – 7.76 (m, 1H), 7.68 – 7.58 (m, 1H), 7.59 – 7.49 (m, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 1H), 7.33 – 7.24 (m, 2H), 7.24 – 7.14 (m, 3H), 2.81 (s, 2H), 2.78 – 2.70 (m, 2H), 2.70 – 2.64 (m, 2H), 2.60 – 2.40 (m, 4H), 2.25 – 2.13 (m, 2H), 1.94 – 1.78 (m, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 191.73, 157.37, 142.20, 137.87, 129.61, 128.50, 128.44, 128.06, 126.32, 125.90, 125.55, 123.50, 121.62, 120.65, 115.21, 79.23, 58.16, 49.30, 47.78, 34.64, 33.88, 28.97. HRMS (ESI) calcd for $C_{25}H_{32}NO_2$ $[M + H]^+$: 386.2115, found: 386.2029.

1′-(2-(3,4-Difluorophenyl)-2-oxoethyl)spiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4(3H)-one (2g). To a solution of **2a** (200 mg, 0.74 mmol) and 2-bromo-1-(3,4-difluorophenyl)ethanone (176 mg, 0.74 mmol) in acetonitrile (6 mL) was added sodium bicarbonate (126 mg, 1.49 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was allowed to stir to room temperature and held at room temperature for 4 h. Acetonitrile was removed under reduced pressure, the residue was diluted with water and extracted with EtOAc (10 mL × 3). The combined organic layer was dried with sodium sulfate, the solvent was evaporated and the residue was purified by flash chromatography (DCM: MeOH = 75: 1) to afford 2 g (180 mg, 57%) as a yellow solid. R_f (DCM:MeOH = 10:1) = 0.71. ^{1}H NMR (399 MHz, $CDCl_3$) δ 8.40 – 8.28 (m, 1H), 7.94 – 7.85 (m, 1H), 7.85 – 7.72 (m, 3H), 7.66 – 7.58 (m, 1H), 7.58 – 7.50 (m, 1H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.26 – 7.17 (m, 1H), 3.81 (s, 2H), 2.91 – 2.77 (m, 4H), 2.76 – 2.64 (m, 2H), 2.27 – 2.11 (m, 2H), 1.99 – 1.79 (m, 2H). ^{3}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 194.24, 191.50, 157.20, 153.64 (dd, $^1J_{CF}$ = 252.5, $^2J_{CF}$ = 14.5 Hz), 150.52 (dd, $^1J_{CF}$ = 252.5, $^2J_{CF}$ = 14.5 Hz),

1H), 7.69 – 7.59 (m, 1H), 7.59 – 7.44 (m, 1H), 7.40 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.29 – 7.18 (m, 1H), 7.17 – 6.94 (m, 2H), 4.75 – 4.58 (m, 1H), 3.06 – 2.93 (m, 1H), 2.94 – 2.79 (m, 3H), 2.73 – 2.57 (m, 3H), 2.53 – 2.39 (m, 1H), 2.34 – 2.17 (m, 2H), 1.98 – 1.76 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 191.38, 157.12, 150.54 (dd, $^1J_{CF}$ = 248.2, $^2J_{CF}$ = 13.0 Hz), 149.76 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.9, $^2J_{CF}$ = 13.0 Hz), 139.31 (dd, $^3J_{CF}$ = 4.7, $^4J_{CF}$ = 3.9 Hz), 137.87, 129.69, 128.13, 126.40, 125.42, 123.28, 121.75 (dd, $^3J_{CF}$ = = 6.3, $^4J_{CF}$ = 3.8 Hz), 121.57, 120.86, 117.16 (d, $^2J_{CF}$ = 19.1 Hz), 115.19, 114.90 (d, $^2J_{CF}$ = 19.1 Hz), 78.74, 68.03, 66.14, 50.57, 47.80, 47.65, 34.70, 34.51.

(*R*)-1′-((*R*)-2-(3,4-Difluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-3,4-dihydrospiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4-ol (3ma). To a stirred solution of **2ma** in trimethylamine (120 mg, 1.1 mmol) at 0 °C was added formic acid (54 mg, 1.1 mmol) slowly under argon. After the white smoke subsided, RuCl[(*R*,*R*)-TsDPEN](mesitylene) (0.4 mg, 0.6 μmol) was added. The resulting mixture was stirred at room temperature for 24 h. The reaction was quenched by adding water and extracted with EtOAc. The combined organic layer was washed with brine, dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography (DCM:MeOH = 20:1) to afford **3ma** (33 mg, 66 %) as a white solid. ^{1}H NMR (399 MHz, $CDCl_3$) δ 8.27 – 8.19 (m, 1H), 7.86 – 7.67 (m, 1H), 7.60 – 7.45 (m, 3H), 7.42 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.30 – 7.18 (m, 1H), 7.17 – 7.08 (m, 1H), 7.08 – 7.01 (m, 1H), 4.96 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 4.82 – 4.56 (m, 1H), 3.16 – 2.77 (m, 2H), 2.71 – 2.58 (m, 2H), 2.58 – 2.52 (m, 1H), 2.49 – 2.37 (m, 1H), 2.28 – 2.16 (m, 1H), 2.16 – 2.07 (m, 1H), 2.07 – 1.92 (m, 2H), 1.92 – 1.80 (m, 1H), 1.78 – 1.66 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 150.55 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.7, $^2J_{CF}$ = 13.4 Hz), 149.75 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.1, $^2J_{CF}$ = 13.4 Hz), 147.50, 139.45 (dd, $^3J_{CF}$ = 5.3, $^4J_{CF}$ = 3.5 Hz), 134.38, 127.70, 126.69, 125.64, 125.50, 125.44, 122.14, 121.76 (dd, $^3J_{CF}$ = 6.0, $^4J_{CF}$ = 3.4 Hz), 120.27, 117.93, 117.15 (d, $^2J_{CF}$ = 17.3 Hz), 114.91 (d, $^2J_{CF}$ = 17.8 Hz), 73.95, 67.94, 66.26, 63.46, 50.94, 47.71, 42.06, 36.17, 34.32. (4*R*,2″*R*)-**3ma** $[\alpha]_D^{20}$ −0.59 (*c* 1.0, CH_2Cl_2).

(*S*)-1′-((*R*)-2-(3,4-Difluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-3,4-dihydrospiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4-ol (3mc). ^{1}H NMR (399 MHz, $CDCl_3$) δ 8.48 – 8.10 (m, 1H), 7.99 – 7.67 (m, 1H), 7.56 – 7.45 (m, 3H), 7.43 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.30 – 7.19 (m, 1H), 7.18 – 7.02 (m, 2H), 4.99 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 4.85 – 4.58 (m, 1H), 2.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 2.92 – 2.78 (m, 1H), 2.74 – 2.56 (m, 3H), 2.50 – 2.32 (m, 1H), 2.32 – 2.13 (m, 2H), 2.08 – 1.90 (m, 2H), 1.91 – 1.76 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 150.58 (dd, $^1J_{CF}$ = 248.5, $^2J_{CF}$ = 13.9 Hz), 149.78 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.7, $^2J_{CF}$ = 12.9 Hz), 147.51, 139.45 (dd, $^3J_{CF}$ = 5.2, $^4J_{CF}$ = 3.9 Hz), 134.42, 127.72, 126.70, 125.66, 125.51, 125.45, 122.14, 121.78 (dd, $^3J_{CF}$ = 6.3, $^4J_{CF}$ = 3.5 Hz), 120.33, 117.92, 117.18 (d, $^2J_{CF}$ = 17.4 Hz), 114.94 (d, $^2J_{CF}$ = 18.2 Hz), 73.92, 67.96, 66.30, 63.50, 50.83, 47.94, 42.10, 35.85, 34.66. (4*R*,2″*S*)-3mc $[\alpha]_D^{20}$ + 0.42 (*c* 1.0, CH_2Cl_2).

(*S*)-1′-((*S*)-2-(3,4-Difluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-3,4-dihydrospiro[benzo[*h*]chromene-2,4′-piperidin]-4-ol (3md). ^{1}H NMR (399 MHz, $CDCl_3$) δ 8.34 – 8.12 (m, 1H), 7.85 – 7.63 (m, 1H), 7.55 – 7.45 (m, 3H), 7.43 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.28 – 7.19 (m, 1H), 7.17 – 7.10 (m, 1H), 7.09 – 7.03 (m, 1H), 4.99 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 4.81 – 4.59 (m, 1H), 3.01 – 2.83 (m, 2H), 2.75 – 2.52 (m, 3H), 2.51 – 2.38 (m, 1H), 2.33 – 2.19 (m, 1H), 2.20 – 2.11 (m, 1H), 2.08 – 1.95 (m, 2H), 1.95 – 1.84 (m, 1H), 1.82 – 1.69 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 150.57 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.4, $^2J_{CF}$ = 12.7 Hz), 149.27 (dd, $^1J_{CF}$ = 247.4, $^2J_{CF}$ = 12.7 Hz), 147.52, 139.46 (dd, $^3J_{CF}$ = 5.1, $^4J_{CF}$ = 3.7 Hz), 134.41, 127.71, 126.70, 125.66, 125.52, 125.43, 122.15, 121.77 (dd, $^3J_{CF}$ = 6.4, $^4J_{CF}$ = 3.7 Hz), 120.30, 117.92, 117.16 (d, $^2J_{CF}$ = 17.4 Hz), 114.92 (d, $^2J_{CF}$ = 17.8 Hz), 73.96, 67.95, 66.27, 63.51, 50.96, 47.74, 42.09, 36.17, 34.40. (4*S*,2″*S*)-3md $[\alpha]_D^{20}$ + 0.49 (*c* 1.0, CH_2Cl_2).

4.2. Antiplasmodial activities of the compounds

All synthesized compounds were tested, as previously reported, against a chloroquine-resistant Dd2 strain and a chloroquine sensitive 3D7 strain of the parasite.[15] Additionally, selected compounds were tested, as previously reported, against D6 and artemisinin-resistant strain ARC08-022.[22]

4.3. Cytotoxicity

An important quality of antimalarial drug compounds is their selectivity to inhibit parasite growth over mammalian cells. Therefore, the majority of the spirocyclic chromanes were evaluated for cytotoxicity using HepG2 human hepatoma cells in a clear bottom 384 well-plate (SantaCruz Biotechnology) which was seeded with 2,500 cells/well and incubated for 24 h. Serial dilutions (0–40 μM concentration range) of the compound were added to the plate followed by incubation for an additional 48 h. Viability of cells were assessed by MTS [(3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)–2*H*-tetrazolium) cell proliferation assay.[25] The effective concentration EC_{50} was calculated (n = 3) from a dose response curve. Furthermore, the selectivity index was calculated as the ratio of the effective concentrations of Dd2 and HepG2 (SI = EC_{50}(HepG2)/EC_{50}(Dd2). Generally, the majority of the spirocyclic chromanes exhibited EC_{50} of 20 μM or higher against HepG2 (Tables 1–4). Spirocyclic chromanes with a methylene group at the C-4 position were generally less toxic than those with a C-4 hydroxyl groups. Especially compounds **2e**, **3d**, **5p**, and **10c** displaying potent antimalarial activity had appreciable selectivity index values of > 30 indicating that they are selective and nontoxic compounds.

4.4. X-ray crystallography

The X-ray diffraction data for compound **9b** were measured on a Bruker D8 Venture PHOTON 100 CMOS system equipped with a Cu K_α INCOATEC ImuS micro-focus source (λ = 1.54178 Å). Indexing was performed using *APEX2* (Difference Vectors method).[26] Data integration and reduction were performed using SaintPlus 6.01.[27] Absorption correction was performed by multiscan method implemented in SADABS.[28] Space group was determined using XPREP implemented in APEX2.[26] Structure was solved using SHELXS-97 (direct methods) and refined using SHELXL-2015[29–31] (full-matrix least-squares on F^2) through OLEX2 interface program.[32] All non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Hydrogen atoms of –CH, $–CH_2$, $–CH_3$ groups were placed in geometrically calculated positions and were included in the refinement process using riding model with isotropic thermal parameters: Uiso(H) = 1.2[1.5]Ueq(–CH,$–CH_2$,[$–CH_3$]). Crystal data and refinement conditions are shown in Table S1. Absolute configuration was established based on Flack parameter, Bijvoet-Pair Analysis and Bayesian Statistics (Tables S1 and S2). *P*2 is the probability that the current model is correct assuming two possibilities – one out of two enantiomers present. The asymmetric unit of **9b** is shown in Fig S1.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

Appendix A. Supplementary data

References

[1] Murray CJL, Rosenfeld LC, Lim SS, et al. Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2012;379:413–431.
[2] Malaria Fact Sheet http://www.who.int/medicacentre/factsheets/fs094/en/.
[3] *World Malaria Report 2018*; World Health Organization, 2018.
[4] Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002;15: 66–78.
[5] Rafael ME, Taylor T, Magill A, Lim Y, Girosi F, Allan R. Reducing the burden of childhood malaria in Africa: the role of improved. *Nature*. 2006;444:39–48.
[6] Sáenz FE, LaCrue AN, Cross RM, et al. 4-(1*H*)-Quinolones and 1,2,3,4-Tetrahydroacridin-9(10*H*)-Ones Prevent the Transmission of *Plasmodium falciparum* to *Anopheles freeborni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013;57: 6178–6195.
[7] Monastyrskyi A, Kyle DE, Manetsch R. 4(1H)-pyridone and 4(1H)-quinolone derivatives as antimalarials with erythrocytic, exoerythrocytic, and transmission blocking activities. *Curr. Top. Med. Chem.* 2014;14:1693–1705.
[8] Maignan JR, Lichorowic CL, Giarrusso J, et al. ICI 56,780 Optimization: Structure-Activity Relationship Studies of 7-(2-Phenoxyethoxy)-4(1*H*)-quinolones with Antimalarial Activity. *J. Med. Chem.* 2016;59:6943–6960.
[9] Neelarapu R, Maignan JR, Lichorowic CL, Monastyrskyi A, Mutka TS, LaCrue AN, Blake LD, Casandra D, Mashkouri S, Burrows JN, Willis PA, Kyle DE, Manetsch R. Design and Synthesis of Orally Bioavailable Piperazine Substituted 4(1*H*)-Quinolones with Potent Antimalarial Activity: Structure–Activity and Structure–Property Relationship Studies. *J. Med. Chem.* 2018;61:1450–1473.
[10] Camp D, Davis RA, Campitelli M, Ebdon J, Quinn RJ. Drug-like properties: Guiding principles for the design of natural product libraries. *J. Nat. Prod.* 2012;75:72–81.
[11] Harvey AL. Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*. 2008;13: 894–901.
[12] Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *J. Nat. Prod.* 2003;66:1022–1037.
[13] Lovering F, Bikker J, Humblet C. Escape from flatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. *J. Med. Chem.* 2009;52:6752–6756.
[14] Walters WP, Green J, Weiss JR, Murcko MA. What do medicinal chemists actually make? A 50-year retrospective. *J. Med. Chem.* 2011;54:6405–6416.
[15] Roberts BF, Iyamu ID, Lee S, et al. Spirocyclic chromanes exhibits antiplamodial activities and inhibit all intraerythrocytic life cycle stages. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 2016;6:85–92.
[16] Bentley TM, Jones RVH, Larder AH, Lock SJ. Solvent as phase transfer catalysts. Reaction of trimethylsulfonium iodide and solid potassium hydroxide in acetonitrile leading to an epoxide of benzophenone. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1998;2:1407–1412.
[17] Chaparro MJ, Vidal J, Angulo-Barturen I, et al. Case study of small molecules as antimalarials: 2-amino-1-phenylethanol (APE) derivatives. *ACS Med. Chem. Lett.* 2014;5:657–661.
[18] Yang L, Morriello G, Prendergast K, et al. Potent 3-spiropiperidine growth hormone secretagogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998;8:107–112.
[19] Cao G, Hu A, Zou K, Xu L, Chen J, Tan W. Highly enantioselective synthesis, crystal structure, and circular dichroism spectroscopy of (*R*)-bambuterol hydrochloride. *Chirality*. 2008;20:856–862.
[20] Fujii A, Hashiguchi S, Uematsu N, Ikariya T, Noyori R. Ruthenium (II)-catalyzed asymmetric transfer hydrogenation of ketones using a formic acid-triethylamine mixture. *J. Am. Chem. Soc.* 1996;118:2521–2522.
[21] Bajaj SO, Farnsworth JR, O'Doherty G. Enantioselective synthesis of α- and β-bocprotected, 6-hydroxy-pyranones: Carbohydrate building blocks. *Org. Synth.* 2014;91:338–355.
[22] Hott A, Casandra D, Sparks KN, et al. Artemisinin-resistant Plasmodium falciparum parasites exhibit altered patterns of development in infected erythrocytes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015;59:3156–3167.
[23] Donovan SF, Pescatore MC. Method for measuring the logarithm of the octanol−water partition coefficient by using short octadecyl-poly(vinyl alcohol) high-performance liquid chromatography columns. *J. Chromatogr. A*. 2002;952: 47–61.
[24] Zhang Y, Clark JA, Connelly MC, et al. Lead optimization of 3-carboxyl-4(1H)-quinolones to deliver orally bioavailable antimalarials. *J. Med. Chem.* 2012;55: 4205–4219.
[25] Cory AH, Owen TC, Barltrop JA, Cory JG. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. *Cancer Commun.* 1991;3:207–212.
[26] Bruker, *APEX2* Bruker AXS Inc., 2013 Madison, Wisconsin, USA, **2013**.
[27] Bruker, SAINT Data Reduction Software, **2013**.
[28] Sheldrick GM. *SADABS. Program for Empirical Absorption Correction*. Germany: University of Gottingen; 1996.
[29] Sheldrick, G.M. SHELXL-97. Program for the Refinement of Crystal, 1997.
[30] Sheldrick GM. *Acta Cryst. A*. 1990;46:467–473.
[31] Sheldrick GM. *Acta Cryst. A*. 2008;64:112–122.
[32] Dolomanov OV, Bourhis LJ, Gildea RJ, Howard JAK, Puschmann H. OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.* 2009;42:339–341.

Introduction

Perivascular adipose tissue (PVAT) is a structure surrounding most of the blood vessels; however, until recently, it was largely ignored in *in vitro* studies of vascular function. Together with recognizing the endocrine properties of adipose tissue in general, the (humoral) influence of PVAT on function of the adjacent vascular wall structures has begun to be intensively examined. It is expected that this periadventitial adipose depot can contribute to the regulation of numerous aspects of vascular function such as vasoreactivity, proliferation of vascular cells or inflammation (Szasz and Webb 2012, Matloch *et al.* 2016).

Results obtained in the last two decades indicate that under the physiological conditions PVAT exerts predominantly anticontractile effect (Soltis and Cassis 1991). This was confirmed as inhibitory action on arterial responses to a variety of vasoconstrictors including noradrenaline, serotonin, angiotensin II, thromboxane A_2 agonists or endothelin-1 (Verlohren *et al.* 2004). It was demonstrated that most of this effect is transferable, mediated by PVAT-derived relaxing factor which has not been clearly defined yet (Löhn *et al.* 2002). One of the most conclusive substances in this regard seems to be angiotensin-(1-7) (Lee *et al.* 2009). However, other adipocyte-derived products (adipokines) are also potential candidates (Boydens *et al.* 2012, Szasz and Webb 2012).

Some authors found also a non-transferable component of PVAT-evoked anticontractile action and this is possibly mediated by some briefly-acting products such as reactive oxygen species (hydrogen peroxide) (Gao *et al.* 2007).

One of the important points in the mediation of PVAT action on vascular function is its interaction with perivascular sympathetic nerves due to their anatomical relationship within external layers of the vessel wall. Moreover, PVAT itself could contain the innervation (Dashwood and Loesch 2011, Bulloch and Dally 2014) which might contribute or possibly overlap the vascular modulatory effect of PVAT. Several authors published some conflicting results demonstrating that the presence of PVAT enhances (Gao *et al.* 2006, Lu *et al.* 2010) or inhibits (Watkins *et al.* 2014) the contractile responses to perivascular nerve stimulation. This is particularly important in pathophysiology because in obesity as well as in hypertension the increased tone of sympathetic nerves on cardiovascular system was documented (Smith and Minson 2012).

The first findings of inhibitory action of PVAT on arterial contraction contrast with the prohypertensive effect of obesity in humans. Indeed, it was confirmed that the protective (anticontractile) action of PVAT is impaired in many pathophysiological states associated with cardiovascular dysfunction (Li *et al.* 2013). Alterations in PVAT function in obesity and metabolic syndrome are accompanied by changes in the release of adipokines, inflammation and oxidative stress (Fernández-Alfonso *et al.* 2013). The above mentioned interaction of PVAT with perivascular sympathetic nerves might also have important consequences in such disease states.

In this study we analyzed the effect of PVAT on contractile responses to exogenous and endogenous noradrenaline (released from perivascular sympathetic nerves as a neurotransmitter) in isolated rat superior mesenteric artery and abdominal aorta. Moreover, we compared these reactions in arteries from normotensive Wistar-Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats to examine the effect of high blood pressure and enhanced vascular sympathetic tone on this PVAT modulatory action.

Methods

The animal protocols were performed in accordance with the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* published by the National Institutes of Health, and they were approved by the Animal Health and Welfare Division of the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic.

Experiments were conducted in 12-week-old male Wistar Kyoto rats (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR). The rats were housed under standard laboratory conditions and maintained under a 12-h light-dark cycle and they had a free access to drinking water and food. Systolic blood pressure was measured in conscious animals at the end of 12th week by the non-invasive tail-cuff method. Then the rats were sacrificed under CO_2 anesthesia, and abdominal aorta and superior mesenteric artery were isolated for isometric tension studies in organ chambers. The relative heart weight was determined as a ratio of heart weight and tibia length.

Functional studies

The rat aorta and mesenteric artery were collected in cold modified Krebs solution with the following composition (in mmol/l): NaCl 118, KCl 5, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25, glucose 11, $CaNa_2EDTA$ 0.03. For measurement of contractile activity, arteries were cut into rings 3.0-3.5 mm of length. Paired arterial rings, one with PVAT intact and the other with PVAT removed, were prepared from each artery. PVAT removal was carried out with fine scissors under microscope with extra caution not to damage the adventitial layer. The rings were fixed on stainless steel hooks and suspended in an organ bath containing modified Krebs solution which was continuously aerated with a mixture of 95 % O_2 + 5 % CO_2 and maintained at 37 ºC. One side of the ring was connected by a thread to a force-displacement transducer Sanborn FT 10 (Baltimore, USA) to measure changes in isometric tension which were recorded with a polygraph TZ 4200 (Labora, Czech Republic). The resting tension of arterial rings was 10 mN. The preparations were allowed to equilibrate for 60-90 min before experimental observation. During this period, the Krebs solution was changed at 15-min intervals.

Adrenergic contractions were determined in abdominal aorta and mesenteric arteries as the responses to cumulatively applied exogenous noradrenaline or as the neurogenic responses elicited by electrical stimulation of periarterial sympathetic nerves. The increasing concentrations of noradrenaline were added to incubation bath in a cumulative fashion, with sufficient time necessary to reach a plateau in response to a particular

concentration. For transmural electrical stimulation (TES), arterial rings were mounted between two platinum electrodes placed on either side of the preparation and connected to an electrostimulator ST-3 (Medicor, Hungary). Frequency-response curves to electrical stimuli were obtained using square pulses of 0.5 ms in duration, at supramaximal voltage (> 40 V), 1-32 Hz, for a period of 20 s. The contractions of rat abdominal aortas and mesenteric arteries elicited by TES were blocked by guanethidine or tetrodotoxin, indicating that they were induced mainly by nerve-released (endogenous) noradrenaline.

In separate group of measurements we compared the reactions to single dose of noradrenaline (10^{-6} mol/l), tyramine (10^{-4} mol/l) and single frequency of TES (4 Hz). Tyramine, an indirect sympathomimetic drug, was used as a tool to test whether a functional pool of catecholamines (mainly noradrenaline) exists in PVAT.

Contractile responses were expressed as the active wall tension in mN and normalized to the length (in mm) of the particular preparation. Area under curve (AUC, in arbitrary units) was calculated from concentration- (frequency)-response curves using the rectangular rule for numerical integration (according to Pruessner *et al.* 2003).

The chemicals used were purchased from Sigma-Aldrich (Germany). All drugs were dissolved in distilled water and concentration was expressed as final concentration in the incubation chamber.

Statistical analysis

Results are expressed as mean ± SEM. Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) or by Student's t-test. The differences were considered as significant when $P<0.05$.

Table 1. General characteristics of experimental animals.

	Wistar-Kyoto rats	Spontaneously hypertensive rats
Body weight (g)	291.7±3.28	254.64±5.65 ***
Heart weight / tibia length (mg/mm)	29.70±0.32	31.54±1.01
Systolic blood pressure (mm Hg)	116.23±1.90	163.80±3.83 ***
Heart rate (bpm)	346.67±10.36	446.34±10.16 ***

Values represent mean ± SEM of 10 rats. *** P<0.001 SHR vs. WKY.

Results

The body weight of WKY at the end of the 12th week was higher than that of SHR. Systolic blood pressure and heart rate were higher in SHR compared to WKY. Relative heart weight did not differ between these two groups (Table 1).

The presence of PVAT significantly reduced the contractions to exogenous noradrenaline in isolated mesenteric arteries of both WKY and SHR (Fig. 1A). However, the arterial dose-dependent responses to noradrenaline expressed as AUC were significantly reduced due to the presence of PVAT only in WKY (13.51±1.78 vs. 23.81±1.88 in arteries with intact vs. removed PVAT, $P<0.01$) and not in SHR (17.07±1.41 vs. 21.53±1.84 in arteries with intact vs. removed PVAT, $P>0.05$). In preparations with intact PVAT the sensitivity to noradrenaline was significantly higher in SHR when compared to WKY (pEC_{50} 5.86±0.11 in WKY vs. 6.22±0.09 in SHR, $P<0.05$). After removing PVAT, the difference in sensitivity to noradrenaline between SHR and WKY mesenteric arteries was abolished (pEC_{50} 6.76±0.21 in WKY vs. 6.74±0.14 in SHR, $P>0.05$). The presence of intact PVAT significantly decreased the sensitivity to noradrenaline in both WKY and SHR mesenteric arteries.

Contraction to 100 mM KCl was measured as a reference value and it was not influenced by PVAT neither in WKY (2.40±0.17 mN/mm vs. 2.71± 0.06 mN/mm in arteries with intact vs. removed PVAT, $P>0.05$) nor in SHR (2.79±0.13 mN/mm vs. 2.96± 0.16 mN/mm in arteries with intact vs. removed PVAT, $P>0.05$).

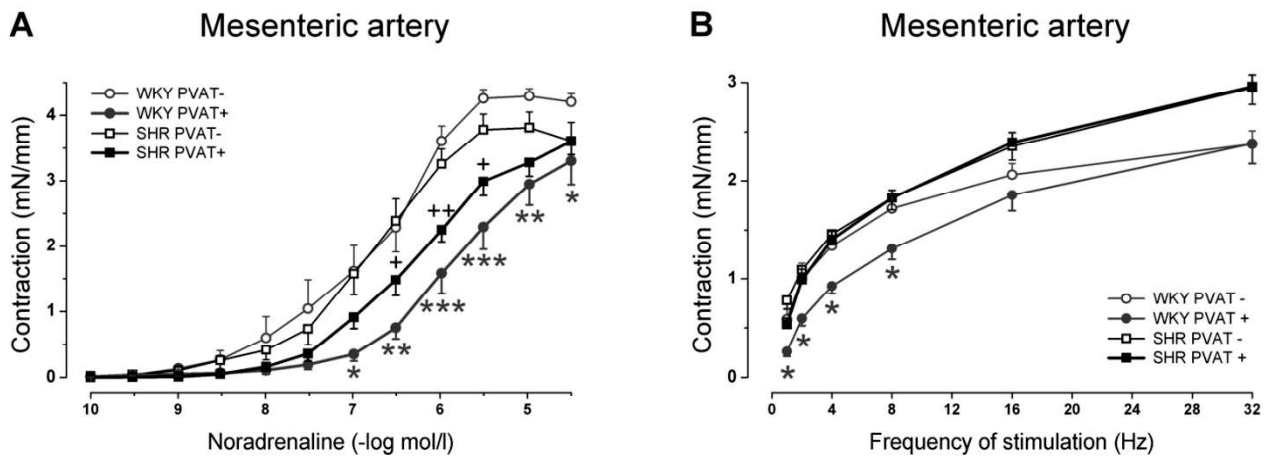


Fig. 1. Dose-response curves to exogenous noradrenaline **(A)** and frequency-response curves to transmural electrical stimulation **(B)** in mesenteric arteries with intact (+) and removed (–) perivascular adipose tissue (PVAT) from Wistar-Kyoto rats (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR). Values represent mean ± SEM of 10 rats. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 WKY PVAT+ vs. WKY PVAT–, $^{+}$ P<0.05, $^{++}$ P<0.01 SHR PVAT+ vs. SHR PVAT–.

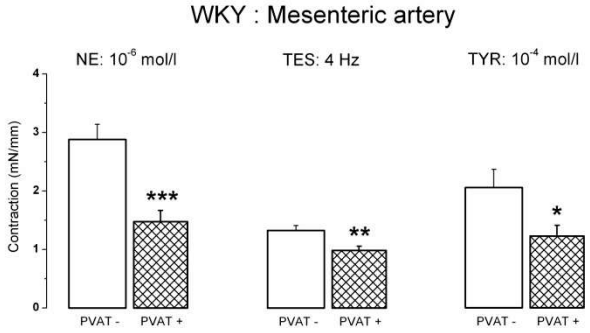


Fig. 2. Comparison of contractile responses in mesenteric artery with intact (+) and removed (–) perivascular adipose tissue (PVAT) from Wistar-Kyoto rats (WKY) to exogenous noradrenaline (NE) and to endogenous noradrenaline released during transmural electrical stimulation (TES) or after application of tyramine (TYR). Values represent mean ± SEM of 10 rats. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 vs. PVAT–.

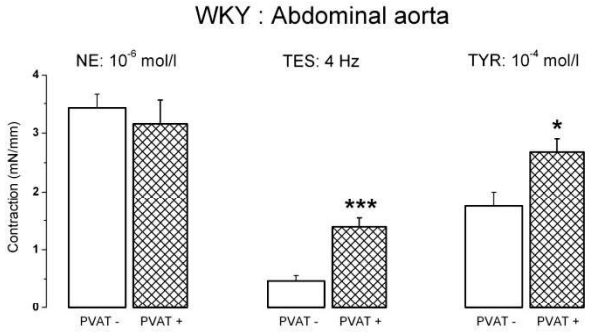


Fig. 3. Comparison of contractile responses in abdominal aorta with intact (+) and removed (–) perivascular adipose tissue (PVAT) from Wistar-Kyoto rats (WKY) to exogenous noradrenaline (NE) and to endogenous noradrenaline released during transmural electrical stimulation (TES) or after application of tyramine (TYR). Values represent mean ± SEM of 10 rats. * P<0.05, *** P<0.001 vs. PVAT–.

As shown in Figure 1B, the presence of PVAT caused significant inhibition of TES-induced contractions in mesenteric arteries from WKY (at frequencies 1-8 Hz) but not in SHR. In arterial preparations with intact PVAT, the frequency-dependent responses to TES expressed as AUC were significantly higher in SHR as compared to WKY (5.99±0.50 in WKY vs. 8.04±0.47 in SHR, P<0.05) and this difference was not seen between WKY and SHR arterial rings without PVAT (7.46±0.60 in WKY vs. 8.19±0.60 in SHR, P>0.05).

More detailed analysis of the effect of PVAT on neurogenic contractions showed different tendencies in mesenteric artery and abdominal aorta of WKY. PVAT exerted inhibitory effect on contractions to TES (4 Hz) in mesenteric artery (Fig. 2). However, in abdominal aorta, the presence of intact PVAT caused enlargement of these responses (Fig. 3). Similar trend in PVAT effect was found when tyramine-induced contractions were examined in these arteries (Figs 2 and 3). In response to exogenously applied noradrenaline, the contractions of the mesenteric arterial rings with intact PVAT were decreased when compared to those with removed PVAT (Fig. 2); however, in abdominal aortas no difference in this response was detected between the preparations with intact and removed PVAT (Fig. 3).

In SHR, there was no change in responses to TES and tyramine between preparations with intact and removed PVAT from both types of arteries (Figs 4 and 5). PVAT inhibited noradrenaline-induced contractions in mesenteric arterial rings (Fig. 4), but no change due to PVAT presence was seen in preparations of abdominal aorta from these rats (Fig. 5).

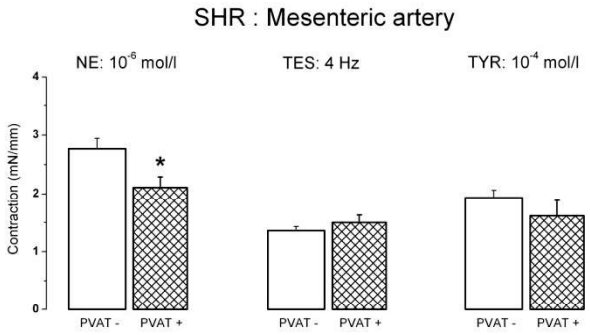


Fig. 4. Comparison of contractile responses in mesenteric artery with intact (+) and removed (–) perivascular adipose tissue (PVAT) from spontaneously hypertensive rats (SHR) to exogenous noradrenaline (NE) and to endogenous noradrenaline released during transmural electrical stimulation (TES) or after application of tyramine (TYR). Values represent mean ± SEM of 10 rats. * P<0.05 vs. PVAT–.

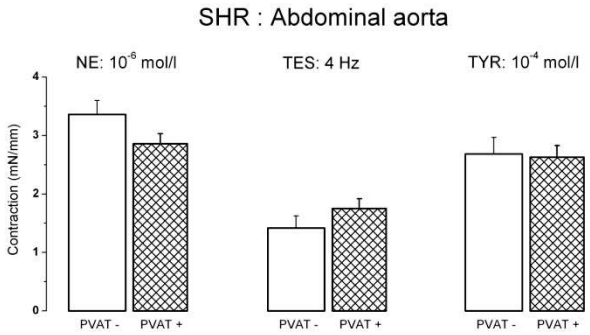


Fig. 5. Comparison of contractile responses in abdominal aorta with intact (+) and removed (–) perivascular adipose tissue (PVAT) from spontaneously hypertensive rats (SHR) to exogenous noradrenaline (NE) and to endogenous noradrenaline released during transmural electrical stimulation (TES) or after application of tyramine (TYR). Values represent mean ± SEM of 10 rats.

Discussion

Perivascular adipose tissue seems to be a new element found in the vascular biology which in cooperation with other regulatory systems is importantly involved in the physiological and pathophysiological processes in blood vessels. It was found that in healthy individuals PVAT exerts inhibitory impact on *in vitro* vascular responses to numerous constrictor substances. In this study we have confirmed that in normotensive WKY rats visceral PVAT considerably attenuates the contractions of mesenteric arteries to exogenous noradrenaline which was expressed by their smaller absolute contractions, as well as by the reduced sensitivity and AUC of their dose-response curves. Such inhibitory influence was detected also in responses to endogenous noradrenaline released during the electrical stimulation of the perivascular sympathetic nerves, particularly at lower frequencies of TES which are nearer to the physiological conditions. Our results on mesenteric arteries from WKY are thus in accordance with the well-documented anticontractile effect of PVAT (Soltis and Cassis 1991, Verlohren *et al.* 2004). It is possible to imagine that PVAT releases some substance(s) that act on mesenteric arterial smooth muscle and decrease its responsiveness to vasoconstrictors. The hyperpolarizing effect of PVAT-derived relaxing factor(s) (PVRF) (Löhn *et al.* 2002, Gao *et al.* 2007, Gollasch 2012) is well applicable in such conception.

In SHR mesenteric arteries, the dose-dependent responses to noradrenaline expressed as AUC were not decreased due to PVAT; however, the inhibitory influence of PVAT was partially detected at particular noradrenaline concentrations. Several authors confirmed that the decreased anticontractile effect of PVAT in arteries from SHR associated with altered functional and structural properties of this adipose tissue (Lu *et al.* 2011, Li *et al.* 2013). These findings might elucidate our observations showing weaker inhibitory influence of intact PVAT on exogenous noradrenaline-induced contractions and no PVAT effect on the responses to TES in mesenteric arteries from SHR. In previous measurements we found that in older SHR (aged 20 weeks) the anticontractile effect of PVAT is even more reduced (Török and Zemančíková 2014).

In the present study, SHR mesenteric arteries with intact PVAT responded more sensitively to exogenous noradrenaline when compared to those of WKY. Similarly, the frequency-response curves to TES demonstrated increased neurogenic contractions in SHR mesenteric arteries with intact PVAT in comparison to WKY arteries. It is interesting that all the differences in adrenergic responses between mesenteric arteries of WKY and SHR were manifested only in preparations with PVAT and they were not detected when PVAT was removed. This indicates that besides many well-confirmed disturbances in SHR arteries among which endothelial dysfunction is one of the most studied (Vanhoutte 1996, Puzserova *et al.* 2014), the altered properties of PVAT could be another important source of pathological changes in vascular system of these rats.

Our results illustrating the anticontractile effect of PVAT on mesenteric arteries from WKY seem to be contradictory to some studies documenting the enhancement of arterial contractions to electrical

stimulation of sympathetic nerves by PVAT. The authors explain this potentiation of TES-induced contractions by the release of adipocyte-derived angiotensin II (Lu *et al.* 2010) and by production of superoxide during electrical stimulation (Gao *et al.* 2006). To explore this issue in more detail, we made some separate measurements in two arterial types (superior mesenteric artery and abdominal aorta) from WKY and SHR, in which the responses to single doses of exogenous noradrenaline or tyramine, and to 4 Hz of TES were compared in preparations with intact or removed PVAT. Tyramine was used as an indirectly acting sympathomimetic drug that induces a carrier-mediated transport of axoplasmic noradrenaline out of the perivascular neurons (Graefe *et al.* 1999). As documented above, in mesenteric arteries from WKY, PVAT caused smaller contractions in response to exogenous as well as to endogenous noradrenaline (induced by TES or tyramine application). These results indicate that PVAT could inhibit the contractions mostly postsynaptically through the mediation of PVRF. However, in WKY abdominal aortas, we did not observe the inhibitory effect of PVAT on contractions evoked by exogenous noradrenaline. Moreover, the contractile responses to endogenous noradrenaline induced by either TES or tyramine were even larger in the presence of intact PVAT when compared to the preparations with removed PVAT (Fig. 3). From these observations it seems that PVAT in abdominal aorta might not influence the contractile responses of vascular smooth muscle cells to noradrenaline itself but probably it could interfere with noradrenaline release from endogenous neural sources. It may be supposed that some substance(s) continuously produced in PVAT influence vascular neurotransmission, or that they are released during TES along with noradrenaline and affect the respective contractile responses, e.g. angiotensin II or superoxide, as suggested by Lu *et al.* (2010) and Gao *et al.* (2006).

Another possible explanation is that in abdominal aorta, PVAT itself could be the source of endogenous noradrenaline which participates in the neurogenic contractions in response to TES. This part of noradrenaline sources could be eliminated when PVAT was removed from the aortal surface, and its absence was manifested by the smaller contractile responses to TES when compared to the preparations with intact PVAT. Vargovic *et al.* (2011) demonstrated that the adipocytes have the capacity to produce noradrenaline. In spite of that we consider predominantly the neural noradrenaline sources in PVAT because we presume that the contractile responses evoked by TES were largely of neurogenic origin (see Methods). However, the direct evidence of innervation in PVAT is limited, with exception of several works demonstrating clear innervation of perivascular fat in rat mesenteric artery (Diculescu and Stoica 1970), human saphenous vein (Dashwood and Loesch 2011), and mouse mesenteric arteries (Bulloch and Dally 2014). Interestingly, from our results it seems that PVAT of rat mesenteric artery might not contain a significant amount of neurally-derived noradrenaline because the contractile responses to TES were even reduced in the presence of intact PVAT. Such observation could also be explained by the large production of PVRF (seen also in response to exogenous noradrenaline), the anticontractile effect of which extensively overlaps the potential contribution of PVAT innervation to neurogenic responses of mesenteric artery. On the contrary, in abdominal aorta, the production of PVRF seems to be less important and the influence of sympathetic nerves from PVAT could prevail. Brown *et al.* (2014) showed that abdominal aorta is surrounded by PVAT with mixture of white and brown adipocytes ("beige" adipose tissue, or "browning" white adipose tissue), whereas PVAT of mesenteric arteries contains only white adipocytes. It was documented that sympathetic nerve fiber density correlates positively with the number of brown adipocytes within adipose tissue (Bartness and Ryu 2015) and this could also support our observations and idea of the different distribution of sympatho-neural supply in the mentioned rat arteries: in contrast to white PVAT in mesenteric artery, "beige" PVAT surrounding abdominal aorta might contain a substantial amount of the sympathetic nerves which are responsible for the most part of the observed responses to TES. After removal of aortal PVAT, such contractions are significantly reduced. In contrast, the source of endogenous noradrenaline which induced the neurogenic contractions in mesenteric artery during TES, could be located largely within the vascular wall (adventitia, adventitio-medial junction) (Birch *et al.* 2008) and when PVAT is removed, the majority of the innervation remains in the arterial preparation; however, the inhibitory influence of PVAT is absent so the observed contractile responses are greater after PVAT removal.

In our experiments we also observed that mesenteric arteries responded by contraction immediately after initiation of TES; however, in abdominal aortas the contractions to TES started with the delay of about 15 s. This indicates that in aortal preparations the sources of endogenous noradrenaline could be more distant from the

muscular layer (probably within PVAT, as indicated above) whereas in mesenteric artery they are probably closer and that is why the diffusing noradrenaline reaches smooth muscle in a shorter time.

Besides the diversity in distribution of sympathetic innervation within arterial and periarterial structures, the presence of other types of nerves and transmitters could also participate in the different effects of PVAT on noradrenergic contraction. Neuropeptide Y (NPY), which is released as a co-transmitter from sympathetic nerve terminals, could act as a modulator on arterial neurogenic responses. Moreover, it was found to be produced also in adipocytes (Yang *et al.* 2008). Burnstock (2008) documented that the potentiating action of NPY on neurogenic contraction increases with the junctional cleft width. Such effect could be expected in aorta where the increasing occurrence of sympathetic terminals distant from medial layer might enhance the pro-contractile action of co-released NPY and this could contribute to the increase in neurogenic responses observed in aortic preparations with preserved perivascular structures. Regarding other types of nerve mediators, Dubrovska *et al.* (2004) reported that in aorta the sensory neurotransmitters activating vanilloid, cannabinoid, and CGRP receptors do not participate in the modulatory effect of PVAT on arterial contraction. However, in rat mesenterial bed, the function of peptidergic (sensory) nerves seems to be of greater importance and it was shown that their activation inhibits the contractile responses of these arteries. The immunoreactivity and release of calcitonin gene-related peptide (CGRP), one of the sensory neurotransmitters, were detected also within the PVAT region. CGRP was shown to hyperpolarize vascular smooth muscle by activating potassium channels (Dunn *et al.* 2003) and this effect is similar to PVRF. Therefore, one can speculate whether this compound could participate in the anticontractile effect of PVAT in mesenteric arteries.

Some important differences can be presumed in arteries from SHR in comparison to the presented findings on arteries from WKY. As documented by many authors (Head 1989, Zicha *et al.* 2014), the sympathetic tone in SHR is augmented and their vascular contractile responses to sympatho-neural stimulation are increased (Zemančíková and Török 2015). In SHR mesenteric arteries the anticontractile effect of PVAT was observed during the response to exogenous noradrenaline (although it was weaker than that seen in WKY preparations). However, it was not detected when the contractions were evoked by TES or tyramine application. This might indicate that in preparations from SHR the inhibitory influence of PVAT on neurogenic contractions was not sufficient to exceed the potential impact of endogenous noradrenaline originated from neural sources in PVAT which could contribute to these contractions. On the other hand, in WKY mesenteric arteries, the stronger anticontractile effect of PVAT overlapped any possible contribution of sympatho-neural supply from PVAT to the neurogenic contractile responses.

In SHR abdominal aortas, similarly to those from WKY, the inhibitory effect of PVAT on contractile response to exogenous noradrenaline was not detected. However, in aortas from SHR we did not find potentiation of the response to endogenous noradrenaline (induced by TES or by tyramine application) due to PVAT presence that was clearly shown in WKY abdominal aortas with intact PVAT. In contrast to WKY, it seems that in SHR aortas the majority of the sympathetic neural supply is concentrated within the proper arterial wall and the neurogenic contractions are not significantly influenced by PVAT removal.

Conclusions

We confirmed the anticontractile effect of PVAT in mesenteric arteries from normotensive WKY rats. However, in the abdominal aorta, the increase in neurogenic contractions was detected in the presence of PVAT. Our results thus indicate that the inhibitory influence of PVAT on contractile responses might not be necessarily manifested when the contractions are induced by endogenous noradrenaline released from perivascular nerves. Besides several proposed influences and factors originating from PVAT that could interfere with the neurotransmission in vascular preparations, our results show that PVAT itself might contain further sources of endogenous noradrenaline which is released during neural stimulation and could significantly contribute to the observed contractile responses.

Moreover, we suppose that the altered properties of PVAT might be an important source of pathological changes observed in arteries from SHR. The reduced anticontractile influence of PVAT together with the possible increased sympathetic nerve supply within PVAT could significantly contribute to the enhanced sensitivity to vasoconstrictors detected in SHR mesenteric arteries. These results indicate that the presence of PVAT should not be ignored in *in vitro* studies on arterial preparations.

References

BARTNESS TJ, RYU V: Neural control of white, beige and brown adipocytes. *Int J Obes* Suppl 5: S35-S39, 2015.

BIRCH DJ, TURMAINE M, BOULOS PB, BURNSTOCK G: Sympathetic innervation of human mesenteric artery and vein. *J Vasc Res* **45**: 323-332, 2008.

BOYDENS C, MAENHAUT N, PAUWELS B, DECALUWÉ K, VAN DE VOORDE J: Adipose tissue as regulator of vascular tone. *Curr Hypertens Rep* **14**: 270-278, 2012.

BROWN NK, ZHOU Z, ZHANG J, ZENG R, WU J, EITZMAN DT, CHEN YE, CHANG L: Perivascular adipose tissue in vascular function and disease: a review of current research and animal models. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **34**: 1621-1630, 2014.

BULLOCH JM, DALY CJ: Autonomic nerves and perivascular fat: interactive mechanisms. *Pharmacol Ther* **143**: 61-73, 2014.

BURNSTOCK G: Non-synaptic transmission at autonomic neuroeffector junctions. *Neurochem Int* **52**: 14-25, 2008.

DASHWOOD MR, LOESCH A: Does perivascular fat influence neural control of the saphenous vein? Implications in coronary artery bypass surgery. *Curr Neurobiol* **2**: 71-74, 2011.

DICULESCU I, STOICA M: Fluorescence histochemical investigation on the adrenergic innervation of the white adipose tissue in the rat. *J Neurovisc Relat* **32**: 25-36, 1970.

DUBROVSKA G, VERLOHREN S, LUFT FC, GOLLASCH M: Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **286**: H1107-H1113, 2004.

DUNN WR, HARDY TA, BROCK JA: Electrophysiological effects of activating the peptidergic primary afferent innervation of rat mesenteric arteries. *Br J Pharmacol* **140**: 231-238, 2003.

FERNÁNDEZ-ALFONSO MS, GIL-ORTEGA M, GARCÍA-PRIETO CF, ARANGUEZ I, RUIZ-GAYO M, SOMOZA B: Mechanisms of perivascular adipose tissue dysfunction in obesity. *Int J Endocrinol* **2013**: Article ID 402053, 2013.

GAO YJ, TAKEMORI K, SU LY, AN WS, LU C, SHARMA AM, LEE RM: Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. *Cardiovasc Res* **71**: 363-373, 2006.

GAO YJ, LU C, SU L-Y, SHARMA AM, LEE RMKW: Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol* **151**: 323-331, 2007.

GOLLASCH M: Vasodilator signals from perivascular adipose tissue. *Br J Pharmacol* **165**: 633-642, 2012.

GRAEFE KH, BOSSLE F, WÖLFEL R, BURGER A, SOULADAKI M, BIER D, DUTSCHKA K, FARAHATI J, BÖNISCH H: Sympathomimetic effects of MIBG: comparison with tyramine. *J Nucl Med* **40**: 1342-1351, 1999.

HEAD RJ: Hypernoradrenergic innervation: its relationship to functional and hyperplastic changes in the vasculature of the spontaneously hypertensive rat. *Blood Vessels* **26**: 1-20, 1989.

LEE RM, LU C, SU LY, GAO YJ: Endothelium-dependent relaxation factor released by perivascular adipose tissue. *J Hypertens* **27**: 782-790, 2009.

LI R, ANDERSEN I, ALEKE J, GOLUBINSKAYA V, GUSTAFSSON H, NILSSON H: Reduced anti-contractile effect of perivascular adipose tissue on mesenteric small arteries from spontaneously hypertensive rats: role of Kv7 channels. *Eur J Pharmacol* **698**: 310-315, 2013.

LÖHN M, DUBROVSKA G, LAUTERBACH B, LUFT FC, GOLLASCH M, SHARMA AM: Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J* **16**: 1057-1063, 2002.

LU C, SU LY, LEE RM, GAO YJ: Mechanisms for perivascular adipose tissue-mediated potentiation of vascular contraction to perivascular neuronal stimulation: the role of adipocyte-derived angiotensin II. *Eur J Pharmacol* **634**: 107-112, 2010.

LU C, SU LY, LEE RM, GAO YJ: Alterations in perivascular adipose tissue structure and function in hypertension. *Eur J Pharmacol* **656**: 68-73, 2011.

MATLOCH Z, KOTULÁK T, HALUZÍK M: The role of epicardial adipose tissue in heart disease. *Physiol Res* **65**: 23-32, 2016.

PRUESSNER JC, KIRSCHBAUM C, MEINLSCHMID G, HELLHAMMER DH: Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology* **28**: 916-931, 2003.

PUZSEROVA A, ILOVSKA V, BALIS P, SLEZAK P, BERNATOVA I: Age-related alterations in endothelial function of femoral artery in young SHR and WKY rats. *Biomed Res Int* **2014**: Article ID 658479, 2014.

SMITH MM, MINSON CT: Obesity and adipokines: effects on sympathetic overactivity. *J Physiol Lond* **590**: 1787-1801, 2012.

SOLTIS EE, CASSIS LA: Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clin Exp Hypertens A* **13**: 277-296, 1991.

SZASZ T, WEBB RC: Perivascular adipose tissue: more than just structural support. *Clin Sci (Lond)* **122**: 1-12, 2012.

TÖRÖK J, ZEMANČÍKOVÁ A: Perivascular adipose tissue modulates smooth muscle activity in conduit arteries (in Slovak). *Cardiol Lett* **23** (Suppl 1): 34S-35S, 2014.

VANHOUTTE PM: Endothelial dysfunction in hypertension. *J Hypertens* **14** (Suppl 5): S83-S93, 1996.

VARGOVIC P, UKROPEC J, LAUKOVA M, CLEARY S, MANZ B, PACAK K, KVETNANSKY R: Adipocytes as a new source of catecholamine production. *FEBS Lett* **585**: 2279-2284, 2011.

VERLOHREN S, DUBROVSKA G, TSANG SY, ESSIN K, LUFT FC, HUANG Y, GOLLASCH M: Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. *Hypertension* **44**: 271-276, 2004.

WATKINS A, BUSSEY CH, BOSWORTH T, HEAGERTY T, WITHERS S: Sympathetic activity in perivascular adipose tissue. *Heart* **100**: A107-A108, 2014.

YANG K, GUAN H, ARANY E, HILL DJ, CAO X: Neuropeptide Y is produced in visceral adipose tissue and promotes proliferation of adipocyte precursor cells via the Y1 receptor. *FASEB J* **22**: 2452-2464, 2008.

ZEMANČÍKOVÁ A, TÖRÖK J: Comparison of cardiovascular characteristics in normotensive and hypertensive rat strains. *Indian J Physiol Pharmacol* **4**: 361-368, 2015.

ZICHA J, DOBEŠOVÁ Z, BEHULIAK M, PINTÉROVÁ M, KUNEŠ J, VANĚČKOVÁ I: Nifedipine-sensitive blood pressure component in hypertensive models characterized by high activity of either sympathetic nervous system or renin-angiotensin system. *Physiol Res* **63**: 13-26, 2014.

1. Introduction

Deficient bioavailability due to certain physicochemical properties of some active substances is still a challenge in pharmaceutical science. Thus, new formulation strategies are required to overcome this problem—for example for poorly water-soluble compounds [1].

In the last years, the study of formulations to deliver water-insoluble molecules has increased. Emulsions and solid lipid nanoparticles (SLN) are up to now the most studied systems to deliver this type of molecule, and are unstable and have limited loading capacity. Therefore, there is still a demand for readily stable hydrophobic carriers with a higher loading capacity. Colloidal dispersions of gelled lipid nanoparticles (GLN) present an attractive alternative to surpass these limitations, since they may act as hydrophobic reservoirs [2,3].

Organogels are semi-solid systems (soft materials) in which a three-dimensional network composed of cross-linked gelator fibers immobilizes an organic liquid [4]. Organogels are principally classified based on the type of organogelator used, but also based on the nature of the organic liquid and its intermolecular interactions [5,6]. These organogelators can be divided into polymeric organic gelators (POG) and low molecular-mass organic gelators (LMOG) [5]. POG are high molecular-mass molecules which are capable of jellifying organic solvents, forming physical crosslinking points. These crosslinking points can be due to the formation of hydrogen bonds (inducing the formation of α-helices and β-sheets) for polypeptide polymers or $\pi-\pi$ stacking interactions for p-conjugated polymers. LMOG are relatively small organic molecules (molecular weight < 2000 g/mol, usually

even smaller than 500 g/mol) which are capable of forming a three-dimensional network around the organic liquid, thus gelling the organic liquid. LMOG have several advantages over POG: better biocompatibility, lower toxicity, easy to prepare, stronger stability, and high gelling capacities needing less quantities of gelator (<1 wt %) [5,6].

The LMOG are separated into different classes according to criteria based on their molecular structure. For example, they can be classified as alkane organic gelators, as n-octacosane (Figure 1a), organic gelators with one heteroatom as ethers (e.g., 60-crown-20-macrocycle; Figure 1b), organic gelators with two heteroatoms (e.g., *N*-octyl-D-gluconamide; Figure 1c), organic gelators with three heteroatoms (e.g., racemic 2-acryloylamide-dedecane-1-sulfonic acid or ADSA; Figure 1d), polymerizable organic gelators such as bis-urea gelators (Figure 1e), two-component organic gelators such as bis-(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate or AOT (Figure 1f), and organometallic gelators such as palladium-CNC pincer bis(carbene) (Figure 1g) [5,6].

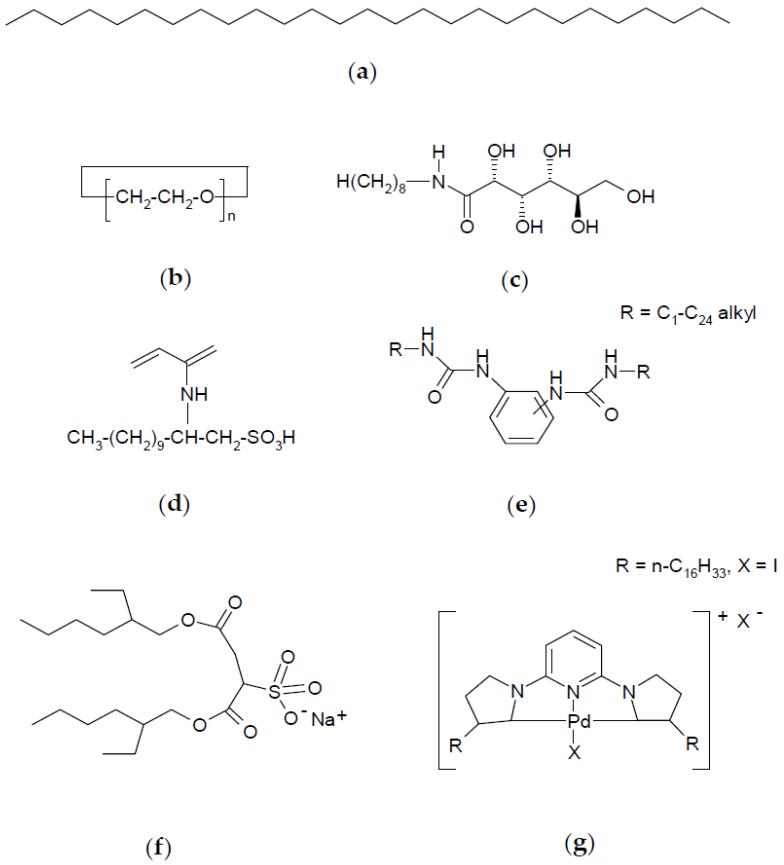


Figure 1. Examples of LMOG chemical structure: (**a**) n-octacosane; (**b**) 60-crown-20-macrocycle; (**c**) *N*-n-octyl-D-gluconamide; (**d**) 2-acryloylamide-dedecane-1-sulfonic acid (ADSA); (**e**) cyclic bis-urea gelator; (**f**) bis-(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate (AOT); (**g**) palladium-CNC pincer bis(carbene).

Derived from this classification, several chemical compounds are used in cosmetics, such as 12-hydroxystearic acid (HSA) (Figure 2a), 1,3:2,4-di-*O*-benzylidene-D-sorbitol (DBS) (Figure 2b), sterols, lecithin, mono- and diglycerides, lecithin mixtures with sorbitan esters, fatty acids, fatty alcohols, waxes, and wax esters [5,6].

Plant metabolites—many of which are very structurally complicated—present attractive candidates as new LMOGs because they are available in renewable supply without extensive synthetic effort. Moreover, LMOG organogels can be classified into two groups depending on the kinetic

properties of aggregates: "strong" organogel (solid fiber network) and "weak" organogel (fluid fiber network) [7–9].

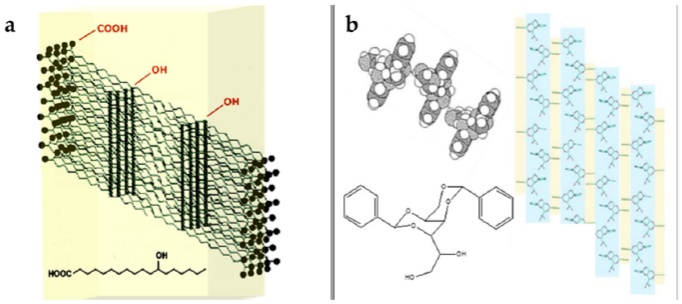


Figure 2. Chemical structure and representation of intermolecular interactions of: (**a**) HSA molecules; (**b**) DBS molecules.

In solution, LMOG self-assemble to form fibrous structures responsible for the gelation phenomenon [4]. Typically, the intermolecular forces that drive aggregation include hydrogen-bonding, π−π stacking, dipole−dipole, and London dispersion forces; however, hydrogen-bonding is a very important component of the self-assembly driving force in a large fraction of reported organogelators [10]. These physical gels are usually thermoreversible (reversible gel–sol/sol–gel phase transition by heating and cooling, respectively), depending on the molecular structure of the gelling agent and the fluid which is rigidified. It is possible to form nanoscale superstructures such as nanofibres, nanoribbons, nanosheets, nanoparticles, etc., which are of interest for materials and nanostructures conception. The interconversion between the gel and solution/sol phases depends only on the disassembly and assembly of the constituent molecules [7,11].

LMOGs are mostly used, since a limited number of synthetic polymers (e.g., polypeptides and polyesters) with these organogelation properties have been reported [12–14].

2. Preparation of LMOG Organogel Self-Assembled Systems

The formulation of stable colloidal dispersions of GLN includes two successive steps. The preparation of the organogel from an organic liquid (vegetable or emollient oil) and an organic gelator as the first step. After organogel preparation, aqueous dispersions of GLN are obtained by their dispersion in a water phase containing a stabilizing and/or emulsifying agent(s) [12] (Figure 3).



Figure 3. Schematic representation of gelled lipid nanoparticle (GLN) colloidal dispersion preparation process.

2.1. Gelation Process

LMOG organogels are obtained by dissolving a small amount of the organogelator at high temperature to obtain an isotropic solution and then cooling this solution under its characteristic gelation transition temperature, known as Tgel. The mixture must be completely solubilized and homogenized before being cooled below its Tgel, which represents the temperature from which the

organogel formation process started. The Tgel has proven to be dependent on the concentration of the organogelator, the properties of the organic liquid (or oil), such as its polarity or viscosity, and in some cases of the cooling process. Gelation occurs as the hot solutions cools, while the self-assembled networks are formed. Since LMOGs form a physical gel (unlike chemical gels), these organogels are thermally reversible organic gel-like materials. The gelation process in this type of organogel is represented in Figure 4 [12].

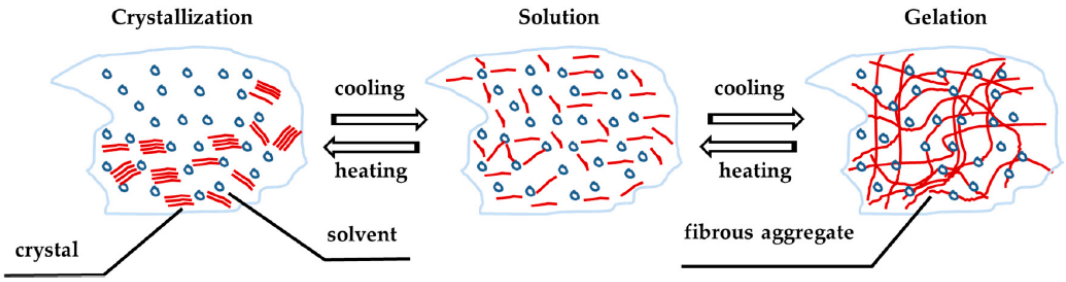


Figure 4. Organogel gelation–melting process representation.

It is important note that organogels formed by LMOGs tend to crystallize, leading to a more metastable organogel. It is possible to adhere a polymer as a gelation-driven compound with covalent bonds, converting it into a "polymer-based gelator" or supramolecular crosslinkable polymer organogelator that can form a more stable gel. For example, polysiloxanes, polyethers, and polycarbonates are useful polymers to confer a more stable characteristic to LMOGs [15]. Moreover, lecithin—a common organogelator usually used as stabilizing and dispersing agent to obtain stable organogel microemulsions—is expensive and difficult to obtain with high purity. When using lecithin of lesser purity, it can be used in the presence of synthetic polymers in the preparation of gel microemulsions in order to obtain the same stabilizing properties [16].

2.2. Phase Transition Parameters

The primary concept to consider in organogels is their phase transition parameters. These parameters are determined by rheology, as following the evolution of the elastic (G′) and viscous (G″) moduli versus temperature increase or decrease. The viscoelastic moduli permit the determination of the phase transition parameters of an organogel, such as gel–sol or sol–gel phase transition domains (PTDs), Tmelt (organogel melting temperature), Tgel, Tsol (organogel liquefaction temperature), as well as Tform (organogel formation temperature) [5,6].

Figure 5 shows the viscoelastic behavior of an LMOG organogel during its melting process (Figure 5a) and during its formation process (Figure 5b).

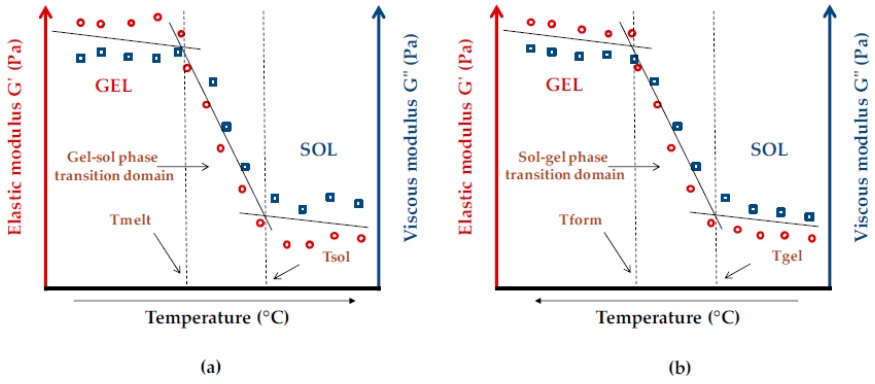


Figure 5. Schematic representation of phase transition parameters of an LMOG organogel: (**a**) organogel liquefaction process (temperature increase); (**b**) organogel formation process (temperature decrease).

The rheological behavior of an LMOG organogel versus temperature presents two phases: the gel phase and the sol phase, separated by a transitional phase, known as PTD. According to the considered process, there is a gel–sol PTD (organogel liquefaction) or sol–gel PTD (organogel formation). The Tmelt corresponds to an abrupt decrease of the viscoelastic moduli and characterizes the beginning of the organogel melting process. This process is progressive, and takes place over a temperature range determined by the gel–sol PTD, and from a certain temperature (known as Tsol—organogel liquefaction), the organogel is completely liquefied. Concerning the sol–gel process (organogel formation), the Tgel corresponds to the abrupt increase of the viscoelastic moduli. Tgel indicates the beginning of the gelation process, contrary to the Tform which indicates the organogel formation temperature, above which the material shows constant viscoelastic properties with the temperature decrease. The sol–gel PTD is closed between Tgel and Tform.

The phase transition parameters of organogels obtained from HSA and various oils (emollients and vegetables) are reported in Table 1. The data show that Tgel and Tmelt values increase with increasing HSA proportion, regardless of the nature of the oil. Concerning Tsol and Tform, these parameters also increase when the HSA wt % increases and show higher values with vegetable oils, which is related to their important dynamic viscosity. The PTD range variation depends on the considered process. In the case of sol–gel PTD, it is closer than those of the gel–sol one. Moreover, this difference decreases as the proportions of HSA are increased for both types of oils (emollients and vegetable oils).

Table 1. Phase transition parameters of organogels obtained from emollients (dicaprylyl ether, capric/caprylic triglycerides) or vegetable oils (soybean, safflower) and 3, 6, and 15 wt % of HSA, respectively. PDT: phase transition domain.

Emollients or vegetable oils	Tgel [1] (°C)	Tform [1] (°C)	Sol–Gel PTD (ΔT)	Tmelt [1] (°C)	Tsol [1] (°C)	Gel–Sol PTD (ΔT)
Oil/HSA 3 wt %						
ether	49	45.5	3.5	48	63	15
triglycerides	47	44	3	48.5	61	12.5
soybean	51	47.5	3.5	53	67	14
safflower	54	50	4	53	68	15
Oil/HSA 6 wt %						
ether	56	51.5	4.5	55	65	10
triglycerides	56	51	5	54	64	10
soybean	58	53.5	4.5	58.5	68	9.5
safflower	61	56	5	59	70	11
Oil/HSA 15 wt %						
ether	63	56	7	62	71	9
triglycerides	63.5	55.5	8	61	70	9
soybean	66.5	60	6.5	66	71	5
safflower	65	56	9	63	72	9

[1] T ± 0.5 °C.

It is observed that when the proportion of HSA is increased, the sol–gel PTD increases and the gel–sol PTD decreases. The formation or destruction of the three-dimensional network of HSA fibers involves two very different processes. In the case of gelling, it is a highly cooperative process that is very energetically favorable. Moreover, during the melting process, there is a progressive breakdown of the network and the fluidization is complete only when all the HSA molecules are dissociated. These two processes are also very sensitive to the strength of the network junctions; that is, to their degrees of crystallization. The increase in HSA content increases the number of junctions in the network, which widens the sol–gel PTD because the network has a higher degree of interconnectivity. At low HSA wt %, a low density of junctions is observed, but these are strongly crystallized. Moreover, when the HSA content increases, the fiber network is more entangled, but the junction zones are more disordered and therefore break more rapidly during the gelling process.

2.3. Organogel Nanoparticle Dispersion

Tgel has an important part in the preparation of the GLN dispersions from a LMOG. As observed in Figure 6, the formation of these one depends on this parameter.

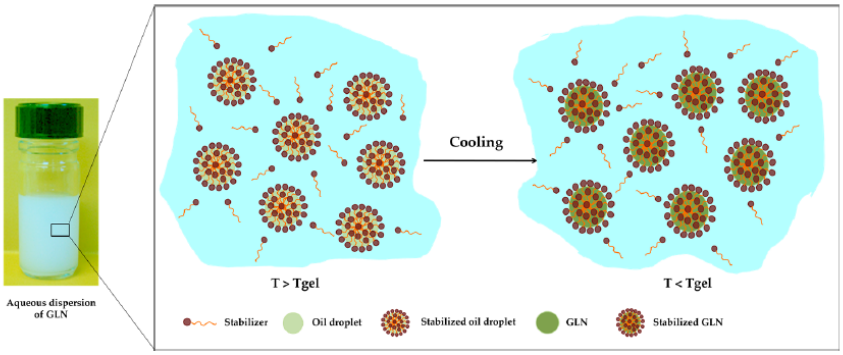


Figure 6. Schematic representation of GLN dispersion.

The mixture must be heated over the characteristic organogel Tgel, and then homogenized while still hot by ultrasound probe or using mechanical homogenization in the presence of emulsifying, thickening, or stabilizing agents. For example, polyethylenenimine (PEI) (Figure 7a) [17], acetylated glycol stearate (AGS) (Figure 7b), and polyvinyl alcohol (PVA) (Figure 7c) are used as stabilizing agents, and sodium hyaluronate (SH) as a thickening one (Figure 7d) [4]. Another common surfactant used as a stabilizing agent for these preparations is cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Figure 7e) [12]. Even though both homogenization methods have been reported, sonication with ultrasound probe has proven to produce a more stable aqueous dispersion obtained from vegetable oils and HSA as organogelator [4], as well as for organogel dispersions with poly(3-hexylthiophene) (P3HT) (Figure 7f) [18].

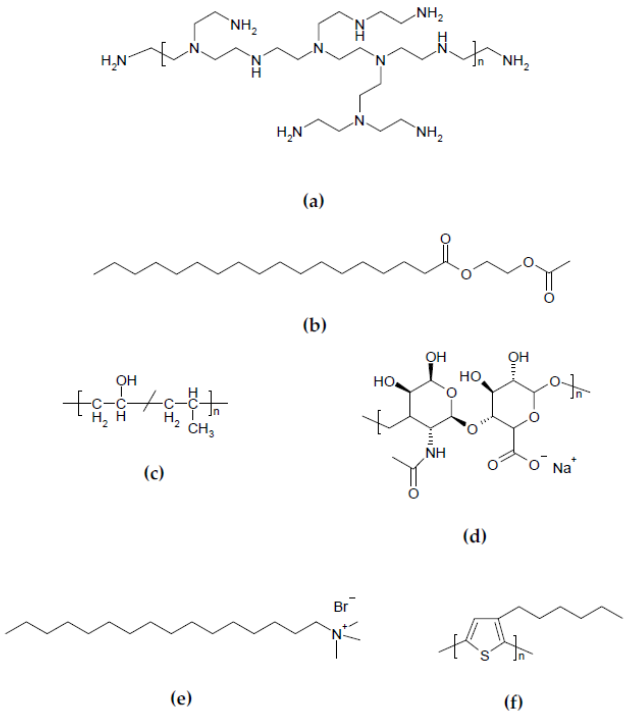


Figure 7. Chemical structure of common stabilizing agents used to prepare colloidal dispersions of GLN: (**a**) PEI; (**b**) AGS; (**c**) PVA; (**d**) SH; (**e**) CTAB; (**f**) P3HT.

3. GLN Physicochemical Characterization

The organogel dispersions of GLN possess characteristic physicochemical properties. The organogel components and preparation process influence the physicochemical properties of its dispersion, such as particle size and distribution, and ζ-potential, morphology, and physical stability [4]. As for the preparation of the organogel dispersions, it is of great importance to determine GLN phase transition parameters based on rheological measurements and to be compared to the "parent" organogel [12]. It is important to perform a proper characterization of GLN properties in order to assess their physical stability or aging and potential applicability.

3.1. Influence of Ingredient Amount and Nature on the Physical Stability of GLN Aqueous Dispersion

The physical stability of GLN dispersions is of great importance for various applications, and it is essential to control particle destructive/unstable processes and monitor their stability. Parameters such as type and concentration of surfactant and oil as well as viscosity of dispersed phase play an important role in the physical stability of the dispersion, and have an impact on particle size [12]. For example, a dispersion of vegetable oil with a greater viscosity (60 cP) presents a better stability compared to a dispersion of mineral oil (6 cP). The viscosity must be enough to maintain the emulsifying and stabilizing agent on the gelled particle surface, allowing the system to have an adequate physical stability [4]. This stability is also maintained in the GLN aqueous dispersion, due to the high electrostatic repulsion between the particles due to the stabilizing agent anchored in the particle's surface. [12].

While the concentration the organogelator has no influence on the particle size or on the physical stability, it has an effect on the viscosity of dispersions at high oil concentration. As described with other colloidal dispersions, particle size can be influenced by the formulation process parameters, such as shear speed during emulsification [12]. Dispersion can also be influenced by the pH, since the mean hydrodynamic diameter of a monodisperse population characterized by a high positive ζ-potential decreases with pH [2]. Some other parameters, such as the colloid size and surface area-to-volume ratio must be considered, and could have a strong influence for their potential uses.

3.2. Particle Mean Size, Distribution, and ζ-Potential

The light scattering method measures the time-dependent fluctuations of scattered light. Consequently, dynamic light scattering (DLS) provides information regarding the movement of the GLN in the colloidal dispersion, and uses Brownian motion to measure the mean hydrodynamic diameter and the size distribution of the particles. While smaller particles move faster, larger particles move slower, and the intensity of the fluctuations allows the particle size to be determined. Moreover, this method also permits the determination of the ζ-potential from the dynamic electrophoretic mobility. DSL studies show that by emulsifying bulk P3HT organogels into water-containing surfactant, two populations of particles are formed and there is an increase in size as a function of the P3HT concentration [18]. As for organogel dispersions obtain with HSA as gelator, the ζ-potential, polydispersity index (PDI), and particle size proved the influence of the concentration of the gelator on the stability of the dispersion [4]. Inclusive organogel dispersions made with dicarprylyl ether oil, HSA, and CTAB produced a stable colloidal system for longer than 45 days with GLN showing a mean diameter of around 260 nm, narrow PDI (0.01–0.1), and ζ-potential values varying between +25 and +50 mV [12].

3.3. Rheological Measurements

The rheological properties of organogel systems are of great importance with regards to preparing an aqueous dispersion of GLN and consequently to handling their properties and improve their potential applications. As described previously, gel–sol phase transition parameters of organogels are measured by following the variation of the elastic modulus (G′) and viscous modulus (G″) at

increasing temperatures. The gelation process occurs as indicated by an abrupt increase of both moduli, while Tmelt is the exactly the opposite. When dispersed, the organogel showed similar rheological results, allowing the particle gelled state to be confirmed by demonstrating the existence of the Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD [12].

Additionally, regarding the physicochemical properties of the organogels, colloidal dispersions of GLN possess some specific characteristics, giving them a broad spectrum of applications. In Figure 8a are reported the Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD or phase transition parameters of gelled particles obtained from a vegetable (soybean, castor) or emollient (dicaprylyl ether, capric/caprylic triglycerides) oil, HSA as organic gelator, and PVA as stabilizing agent [12]. As previously noted, they are determined by rheology, measuring the evolution of the elastic (G′) and viscous (G″) moduli versus temperature. Tmelt is defined as the temperature below which gelled particles start to melt, while Tsol is the temperature from which the particles are totally transformed into oil droplets. The melting process is progressive, and takes place over a temperature gap, known as gel–sol PTD. Typically, Tmelt transition temperature increases with the concentration of organogelator and the viscosity of the oil used (Figure 8b) [4].

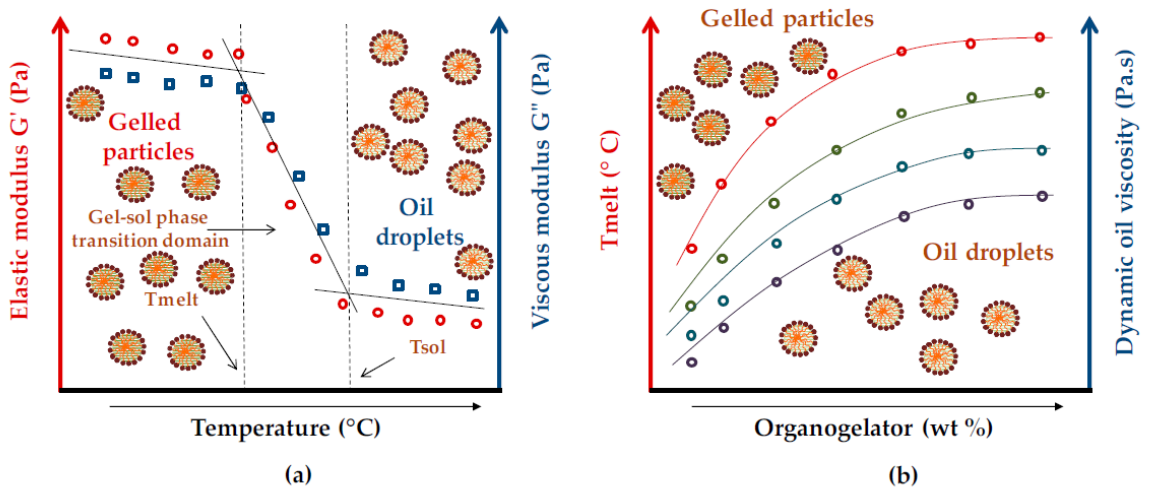


Figure 8. Gel–sol phase transition parameter evolution of GLN dispersion: (**a**) Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD value determination according to the temperature increase; (**b**) Tmelt value evolution according the organogelator wt % and the dynamic oil viscosity increase.

Moreover, the Tmelt is easily influenced by the type organogelator and its concentration. POG gels have a lower Tmelt and higher gel strength compared to organogels obtained using LMOGs [5,6].

The formulation of the dispersed organogel had an impact on their rheological properties. An increase of viscosity was observed in the ratio gelator/solvents, as it was observed for lecithin/isopropyl myristate microemulsions [19]. In the case of HSA, the same phenomenon has been observed. Measuring the flow behavior of aqueous dispersions of GLN, there was an increase of the organogelator concentration from 0 wt % to 15 wt %, leading to an increase in shear viscosity from two to six orders of magnitude [20]. The characteristic rheological properties of organogel dispersions are strongly influenced by the interactions between the GLN. The gelled particle dispersions showed a non-Newtonian behavior when the shear rate increased, leading to a decrease of the system dynamic viscosity values [4]. In contrast, in the case of a polymer-based organogel dispersion, the same effect was observed when diluting the dispersion from 40 vol % to 20 vol %, but the system showed a constant viscosity when diluted at 10 vol % because the interactions between the particles became negligible [18].

3.4. GLN Morphology

To evaluate the morphology and structure of the aqueous GLN dispersions, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) were used, respectively (Figure 9).

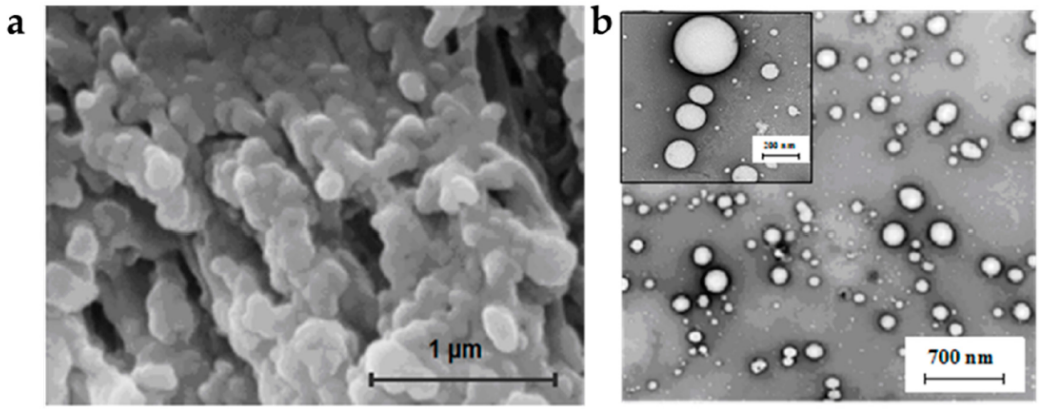


Figure 9. Electron microscopy pictures of GLN dispersion [4]: (**a**) SEM micrograph; (**b**) TEM micrograph. Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

These methods allow the data obtained from the DLS analysis to be completed. The DLS measurements provide insight into the size distribution of the gel particles within the dispersion, but they do not reveal information about their internal structure. In some applications, it is important that the particles retain porosity and a network structure original to the bulk organogel [18], while other GLN show spherical morphology without complementary information concerning their surface state [4]. These methods permit the accumulation of surfactant molecules at the surface of the gelled particles, confirming the ζ-potential values and indicating the stability of the dispersion [12].

4. GLN Potential Applications

Organogel dispersions of GLN are a suitable formulation for the preparation of new systems which could be used for cosmetic applications or as smart nanoparticles for drug delivery [4,12]. According to the data base, one of the first patent applications where the term organogel appeared was deposited organic solvent [21]. However, it was not until 1996 that the organogel dispersion concept appeared in European application patents. Notably, in the dermo-cosmetic field, companies like L'Oréal have patented dispersions of gel particles in a stabilized aqueous phase. [22].

Besides the cosmetic industry, organogel dispersions have been used as drug delivery systems and have proved their ability to enhance the permeation and improve drug release in dermal and transdermal formulations (Figure 9). It has been shown that organogel dispersions are effective in the improvement of sun protection factor (SPF) value, increasing the ability to absorb UV rays. This could be related to the optical properties of the particles and diffusing capacity provided by the organogelator. There is a synergistic improvement of two factors: the photo-protective ability and the photo-stability of the UVB filter [4]. Moreover, it has been used for topical treatments of early stages of skin cancers. In addition, these systems could be used for intravenous applications by adapting the formulation for this aim [3].

4.1. Hydrophobic Reservoirs for Sun Protection

Gelled sun protection nanoparticles (GSPN) in water could be employed as a nanocarrier for dermo-cosmetic applications or as hydrophobic reservoirs for photoprotection (Figure 10) [4–6,17,23].

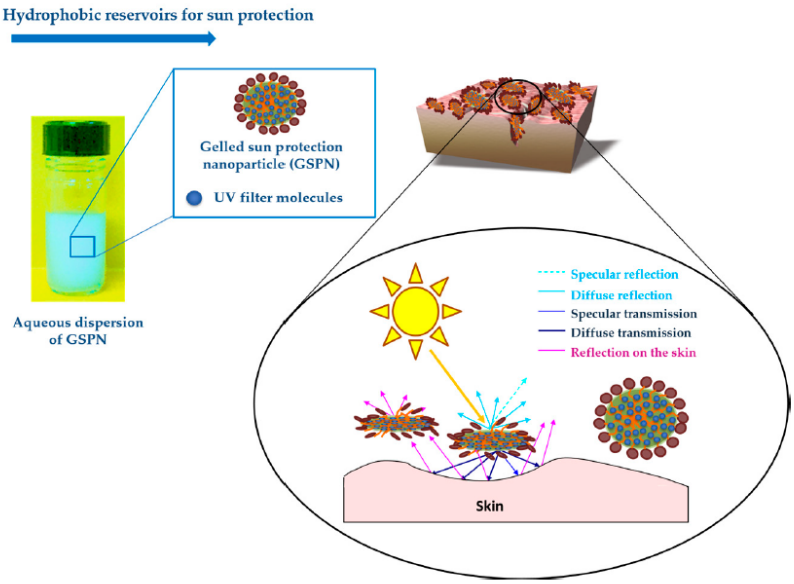


Figure 10. Representation of gelled sun protection nanoparticles (GSPN) and their photoprotection ability mechanism.

The preparation process and physicochemical properties of these GSPN aqueous dispersions have been described previously by Chaouat et al. [24]. Gelled particle dispersions of sunscreen organic mixture–1-(4-methoxyphenyl)-3-(4-*tert*-butylphenyl)propane-1,3-dione or avobenzone (UVA solar filter) (Figure 11a) dissolved in 2-ethylhexyl 2-cyano-3,3-diphenyl-2-propenoate or octocrylene (UVB solar filter, viscous liquid) (Figure 11b) and HSA as organic gelator were obtained by emulsification at high temperature and cooling at room temperature, using PVA as a stabilizing and dispersing agent. The results confirmed that the GSPN size was in agreement with the necessity of keeping the particles on the skin surface, avoiding their penetration through the *stratum corneum*. TEM observation of the dispersion showed spherical particles with a mean diameter of 600 nm—a size in accordance with the DLS measurements. The UV spectroscopy observations showed more important absorption of the gelled particles compared to that of corresponding emulsion droplets. A rheological investigation allowed the particle sol-gel phase transition parameters to be determined, confirming their gelled state. A comparative aging study of the emulsion and corresponding dispersion showed greatly enhanced physical stability after gelation. This last point was also proved by ζ-potential measurements.

According to Kirilov et al., aqueous dispersions of GSPN were also obtained with two organic liquids [4]. Vaseline and almond oils were used as organic media for the GSPN preparation. Gelled nanoparticles containing a model sunscreen molecule with mean size of 450 nm, ζ-potential value above -30 mV, and PDI of 0.18 were obtained by the ultrasound probe homogenization method. A comparative study of their dispersion aging showed a greatly enhanced GSPN stability after gelation. According to the UVB absorption evaluation, GSPN improved the photoprotective ability and the photostability of the immobilized UVB blocker as 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate or EHMAB (Figure 11c). In addition, GSPN showed a high water resistance (~83%), even after 40 min of immersion.

Actually, studies concerning the immobilization of benzophenone-3 or BP-3—a commonly used UVA and UVB absorbed molecule—as GSPN are being carried out (Figure 11d).

The obtained results demonstrate the interest in GSPN and their aqueous dispersion as a concept for the preparation of original sun protection formulations with improved diffusion properties and waterproof ability.

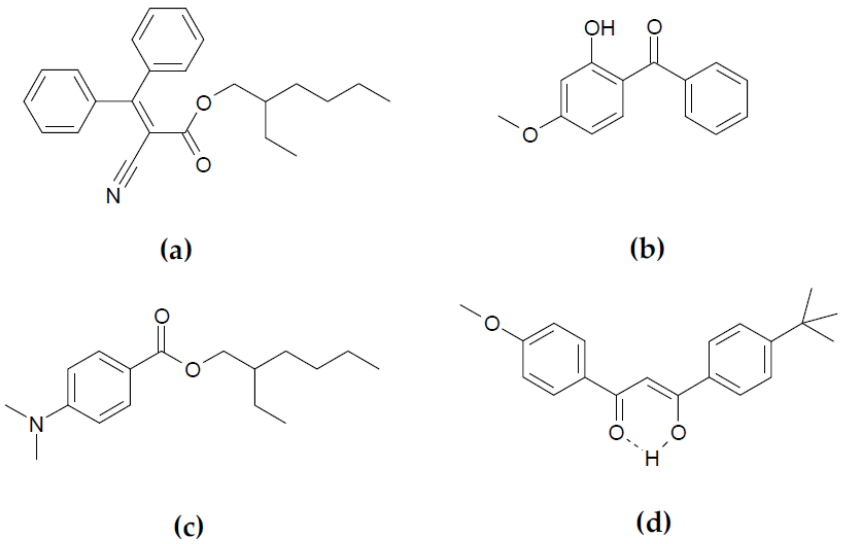


Figure 11. Chemical structure of immobilized chemical UV filter as GSPN: (**a**) octocrylene; (**b**) benzophenone-3 (BP-3); (**c**) 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate (EHMAB); (**d**) avobenzone.

4.2. Hydrophobic Reservoirs for Drug Delivery

Other studies demonstrated the interest of colloidal dispersions of GLN for the encapsulation and delivery of lipophilic active compounds (Figure 12).

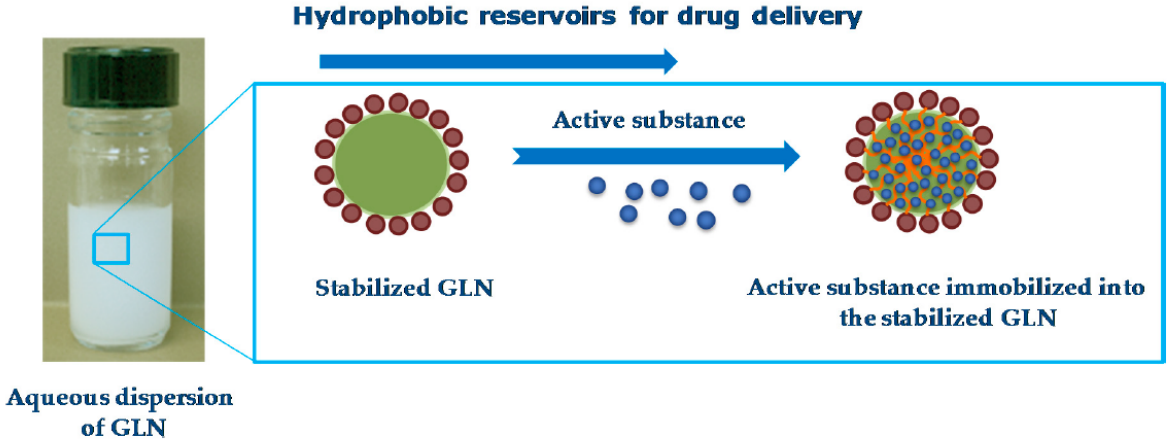


Figure 12. Representation of the drug delivery ability of GLN.

Sigueira-Mourra et al. prepared stable dispersions of soybean oil GLN with excellent chloroaluminum phthalocyanine (ClAlPc) encapsulation efficiency. The obtained ClAlPc-loaded GLN formulation could be a very useful system for photodynamic therapy (PDT) procedures (Figure 13).

Authors have efficiently encapsulated ClAlPc (Figure 14a)—a second-generation photosensitizer agent usually used in PDT—into soybean oil GLN dispersed in aqueous medium. Nanoparticles were jellified and stabilized by HSA and PEI, respectively. They were obtained by hot homogenization using ultrasound probe and then cooling at room temperature until obtaining a stable GLN dispersion. Nanoparticles showed mean diameter of 280 nm, narrow size distribution (PDI ~0.3), positive ζ potential value (~+50 mV), and spherical morphology (Table 2). Dispersions exhibited pronounced physical stability after a 6-month aging period. The PEI and HSA proportions allowed the GLN size, charge, and stability to be controlled, resulting from the complex electrostatic interactions between the

positively-charged PEI and the negatively-charged HSA fibers present on the gelled particles' surface on the one hand and stearic repulsions between positively-charged GLN on the other hand.

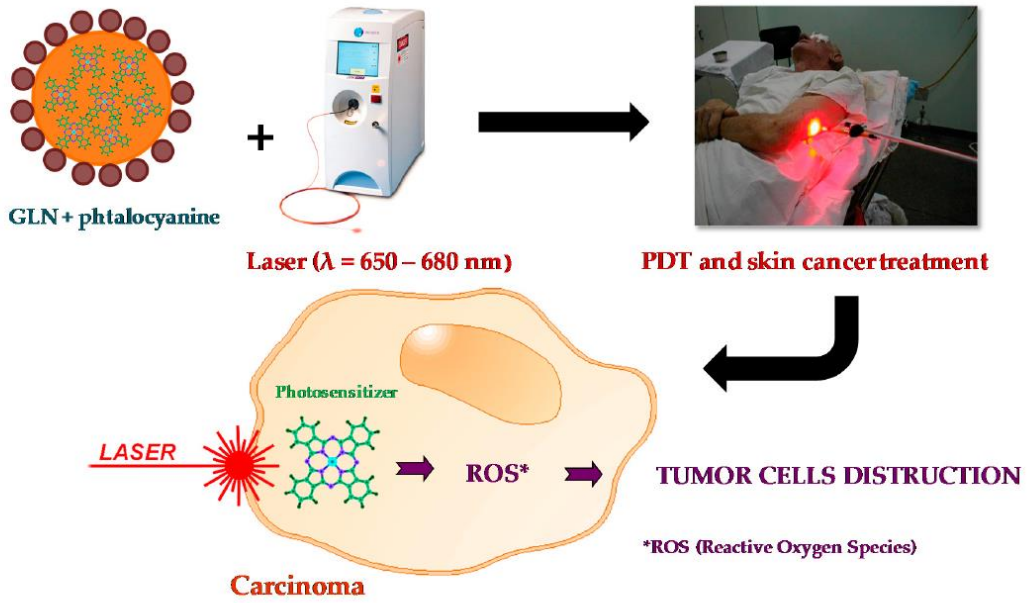


Figure 13. Representation of the medical treatment of skin cancers using photodynamic therapy (PDT).

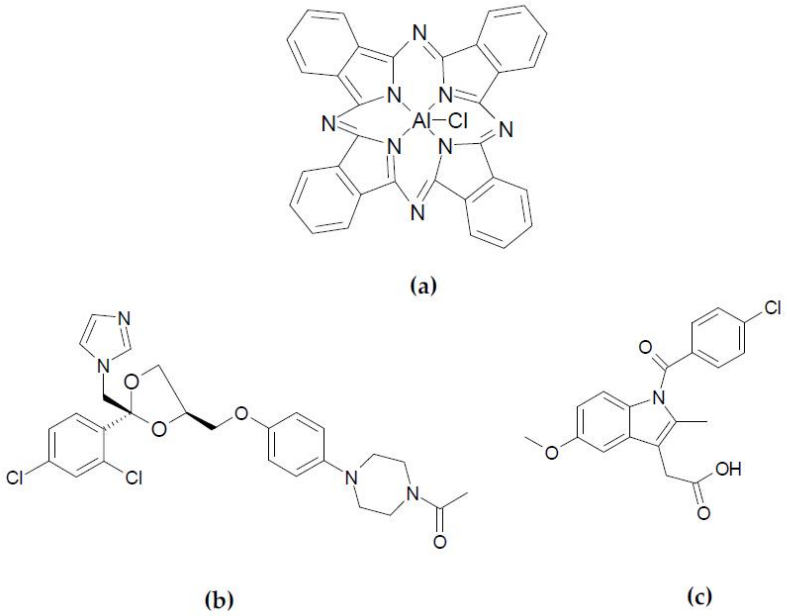


Figure 14. Chemical structure of immobilized active substances: (**a**) chloroaluminum phthalocyanine (ClAlPc); (**b**) ketoconazole; (**c**) indomethacin.

Table 2. Some experimental results from physicochemical characterization GLN containing active substances (n = 3), pH = 7. PDI: polydispersity index.

Active Substance	Mean Size (nm)	PDI	ζ-Potential (mV)	Encapsulation Efficiency (%)
ClAlPc	280 (±10)	0.3 (±0.04)	+50 (±1.6)	~100
indomethacin	244 (±13)	0.26 (±0.05)	−30 (±5.6)	91.9 (±0.2)
ketoconazole	266 (±16)	0.25 (±0.03)	−25.9 (±4.7)	97.4 (±0.1)

Martin et al. studied the release profile and efficiency of GLN obtained by the same preparation process as Siqueira-Mourra et al. [24]. In the first step, they used DLS and differential scanning calorimetry (DSC) to select the most suitable formulations by optimizing the proportion of ingredients (HSA, PVA, castor oil) to obtain particles of the smallest size and greatest stability. Two lipophilic drug models—indomethacin (Figure 14b) and ketoconazole (Figure 14c)—were entrapped in the GLS made of castor oil and gelled by HSA.

Thermal studies confirmed that there was no significant alteration of gelation phenomenon in presence of the entrapped drugs. Very stable dispersions were obtained (>3 months), with GLN presenting a mean diameter between 240 and 300 nm. High encapsulation efficiency (>98%) was measured for indomethacin and ketoconazole (Table 2). The release profile determined by in vitro dialysis showed an immediate release of the drug from the organogel nanoparticles, due to rapid diffusion.

All these studies demonstrate the interest in the colloidal dispersions of GLN for dermo-cosmetic applications as sun protection systems and for drug delivery for lipophilic active substances.

5. Conclusions

Since lipophilic drug formulation remains the major challenge in the pharmaceutical field, recent preparations of colloidal dispersions of GLN present very interesting advantages as drug delivery formulations as well as in the cosmetic industry. These dispersions have promising stability properties, are easily formulated, and can be produced with natural organogelators or simple synthetic polymers, giving them a great range of possible industrial applications. The basic knowledge of these colloidal GLN dispersions, their properties, and characterization methods will allow the optimization of the formulation with regards to obtaining more stable dispersions according to their intended applications. Furthermore, they are still a broad area of possibilities in the synthesis of new organogelators, formulations of better and more stable dispersions, and drug immobilization. The interest for these materials will continue to grow in the future years.

Acknowledgments: We gratefully thank the region Rhone-Alpes and European Region Action Scheme for the Mobility of University Students (ERASMUS) program for the financial support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Gao, L.; Liu, G.; Ma, J.; Wang, X.; Zhou, L.; Li, X.; Wang, F. Applications of drug nanocrystal technologies on oral drug delivery of poorly soluble drugs. *Pharm. Res.* **2013**, *30*, 307–324. [CrossRef] [PubMed]
2. Boudier, A.; Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Belkhelfa, H.; Hadioui, L.; Roques, C.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. Evaluation of biocompatible stabilized gelled soya bean oil nanoparticles as new hydrophobic reservoirs. *J. Microencapsul.* **2010**, *27*, 682–692. [CrossRef] [PubMed]
3. Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Rico-Lattes, I.; Perez, I.; Bordat, P. Novel organogel particles, method for the preparation thereof and cosmetic uses thereof. Patent WO2008037679 (A1), 3 April 2008.
4. Kirilov, P.; Rum, S.; Gilbert, E.; Roussel, L.; Salmon, D.; Abdayem, R.; Serre, C.; Villa, C.; Haftek, M.; Falson, F.; et al. Aqueous dispersions of organogel nanoparticles-potential systems for cosmetic and dermo-cosmetic applications. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2014**, *36*, 336–346. [CrossRef] [PubMed]
5. Kirilov, P.; Le Cong, A.K.; Denis, A.; Rabehi, H.; Rum, S.; Villa, C.; Haftek, M.; Pirot, F. Organogels for cosmetic and dermo-cosmetic applications. Classification, preparation and characterization of organogel formulations Part I & II. *H&PC Today* **2015**, *10*, 15–21.
6. Kirilov, P. Solar Energy: New Long Chain Polypyridinic Ruthenium Complexes; Solar Protection: Preparation of Gelosomes for Cosmetic Applications. Ph.D. Thesis, University Paul Sabatier Toulouse III, Toulouse, France, 17 January 2007.
7. George, M.; Weiss, R.G. Low molecular mass-organic gelator. In *Molecular Gels. Materials with Self-Assembled Fibrillar Networks*, 1st ed.; Weiss, R.G., Terech, P., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2006; Volume 14, pp. 449–477, ISBN 13-978-1-4020-3352-0-(HB).

8. Suzuki, M.; Hanabusa, K. Polymer organogelators that make supramolecular organogels through physical cross-linking and self-assembly. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 455–463. [CrossRef] [PubMed]
9. Bag, B.G.; Majumdar, R.; Dinda, S.K.; Dey, P.P.; Maity, G.C.; Mallia, V.A.; Weiss, R.G. Self-assembly of ketals of arjunolic acid into vesicles and fibers yielding gel-like dispersions. *Langmuir* **2013**, *29*, 1766–1778. [CrossRef] [PubMed]
10. Rogers, M.A.; Abraham, S.; Bodondics, F.; Weiss, R.G. Influence of the hydroxyl position in racemic hydroxyoctadecanoic acids on the crystallization kinetics and activation energies of gels and dispersions in mineral oil. *Cryst. Growth Des.* **2005**, *12*, 5497–5504. [CrossRef]
11. Desvergne, J.P. Organic gelators and hydrogelators. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 846–847. [CrossRef] [PubMed]
12. Kirilov, P.; Lukyanova, L.; Franceschi-Messant, S.; Perier, V.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. A new type of colloidal dispersions based on nanoparticles of gelled oil. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *328*, 1–7. [CrossRef]
13. Vintiloiu, A.; Leroux, J.-C. Organogels and their use in drug delivery—A review. *J. Control. Release* **2008**, *125*, 179–192. [CrossRef] [PubMed]
14. Das, D.; Roy, S.; Debnath, S.; Das, P.K. Surfactant-stabilized small hydrogel particles in oil: Hosts for remarkable activation of enzymes in organic solvents. *Chemistry* **2010**, *16*, 4911–4922. [CrossRef] [PubMed]
15. Hanabusa, K.; Suzuki, M. Development of low-molecular-weight gelators and polymer-based gelators. *Polym. J.* **2014**, *46*, 776–782. [CrossRef]
16. Elnaggar, Y.S.R.; El-Refaie, W.M.; El-Massik, M.A.; Abdallah, O.Y. Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: An update on state of art and recent applications. *J. Control. Release* **2014**, *180*, 10–24. [CrossRef] [PubMed]
17. Siqueira-Moura, M.P.; Franceschi-Messant, S.; Blanzat, M.; Ré, M.I.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Tedesco, A.C. Gelled oil particles: A new approach to encapsulate a hydrophobic metallophthalocyanine. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *401*, 155–160. [CrossRef] [PubMed]
18. Richards, J.J.; Weigandt, K.M.; Pozzo, D.C. Aqueous dispersions of colloidal poly(3-hexylthiophene) gel particles with high internal porosity. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *364*, 341–350. [CrossRef] [PubMed]
19. Hadidi, N.; Nazari, N.; Aboofazeli, R. Formulation and optimization of microemulsion-based organogels containing propranolol hydrochloride using experimental design methods. *DARU J. Pharm. Sci.* **2009**, *17*, 217–224.
20. Kirilov, P.; Gauffre, F.; Franceschi-Messant, S.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. Rheological characterization of a new type of colloidal dispersion based on nanoparticles of gelled oil. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 11101–11108. [CrossRef] [PubMed]
21. Winyall, M.E. Process for Preparing Grade of Silica and Process of Using Name. Patent US4216113 (A), 5 August 1980.
22. Ribier, A.; Biatry, B. Cosmetic or Dermatologic Oil/Water Dispersion Stabilized with Cubic Gel Particles and Method of Preparation. Patent EP0711540 (A1), 3 October 2000.
23. Martin, B.; Brouillet, F.; Franceschi, S.; Perez, E. Evaluation of organogel nanoparticles as drug delivery systems for lipophilic compounds. *AAPS PharmSciTech* **2017**, *18*, 1261–1269. [CrossRef] [PubMed]
24. Chaouat, C.; Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Perez, E.; Giraud, I.; Rico-Lattes, I. Nanoparticles of gelled suncreen oil: Elaboration and physicochemical characterization. In Proceedings of the 42nd Journadas Anuales del Comite Espanol de la Detergencia, Barcelona, Spain, 28–29 March 2012; Volume 42, pp. 84–96.

Introduction

Postconditioning (PostC), since it was reported by Zhao et al. in 2003 [29], has now been demonstrated as a novel strategy to harness nature's protection against myocardial ischemia/reperfusion injury. PostC is induced by a short

series of repetitive cycles of reperfusion and re-occlusion applied immediately at the onset of reperfusion. Currently, cardioprotection with PostC has been well demonstrated from different laboratories in different species including human [8, 11, 17, 21, 22, 24, 29]. The mechanisms responsible for the PostC-induced cardioprotection have been associated with a myriad of cellular and subcellular adaptive responses to reperfusion injury, including endogenous stimulation of adenosine receptors, activation of survival kinases, opening of K_{ATP} channels, attenuation of intracellular and mitochondrial calcium accumulation as well as inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening [1, 2, 6, 7, 13, 15, 23, 27, 29].

Over the past decade, the transcriptional complex hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α) has emerged as a key regulator of the molecular hypoxic response by mediating a wide range of physiological and cellular mechanisms necessary to adapt to deficiency of oxygen. Particularly, HIF-1α activation plays an essential role in triggering cellular protection and metabolic alterations from the consequences of oxygen deprivation during myocardial ischemia. It has been reported that an increase in the level of HIF-1α was one of the first adaptive responses, at a molecular level, of myocardium to ischemia [12].

PostC consists of several short cycles of reperfusion and ischemia, and this intervention may up-regulate HIF-1α through its repetitive coronary occlusion applied at the onset of reperfusion. However, we do not know whether this occurs after PostC procedure, and up-regulation of HIF-1α is responsible for PostC-elicited cardioprotection. Therefore, we tested the hypothesis that cardioprotection with PostC is associated with up-regulated HIF-1α expression. To support this hypothesis, a prolyl hydroxylase inhibitor, dimethyloxalylglycine, known as stimulator of HIF-1α was selected to demonstrate a role of HIF-1α in alleviating myocardial injury. The iNOS, a downstream gene of HIF-1α was also evaluated to associate potential signaling pathways with PostC's protection.

Materials and methods

Surgical preparation of animals

The experimental procedures were conducted in adherence to the "Guiding Principles in the Use and Care of Animals" published by the National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, Revised 1996), and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Shanxi Medical University.

Male Wistar rats weighing 220–280 g were used. The rats were anesthetized by intraperitoneal injection of urethane (1 g/kg). After endotracheal intubation, the rats were mechanically ventilated with oxygen-enriched room air using a small animal respirator at a rate of 50–60 breaths/min and a tidal volume of approximate 10 ml. The chest was opened via a left thoracotomy through the fourth intercostal space, and the heart was exposed by opening the pericardium. A 6-0 silk suture was passed under the left coronary artery just below the left atrial appendage. The suture was threaded through a small plastic tube to create a snare. The snare was tightened or released to produce ischemia or reperfusion.

Experimental protocol

All animals were randomly assigned to one of six groups: (1) Sham ($n = 10$): animals were undergone the surgical procedures without coronary occlusion, (2) Control ($n = 8$): animals were subjected to 30 min of coronary occlusion followed by 3 h of reperfusion, (3) PostC ($n = 9$): 3 cycles of 10 s reperfusion and 10 s re-occlusion applied at the onset of reperfusion, (4) DMOG + Control ($n = 10$): animals were treated with dimethyloxalylglycine (DMOG), a prolyl hydroxylase inhibitor (a gift from Dr. Xin-Liang Ma in Thomas Jefferson University, Philadelphia/Cayman Chemical), at 40 mg/kg for 24 h before ischemia, (5) DMOG + PostC ($n = 8$): animals were treated with DMOG at 40 mg/kg for 24 h before PostC, (6) Vehicle + PostC ($n = 10$): animals were treated with sterile saline at same volume to dissolve DMOG in 24 h before PostC.

Determination of area at risk and infarct size

At the end of the experiment, coronary artery was re-ligated and Evans blue dye was injected into the femoral vein to stain the normally perfused region blue and outline the area at risk (AAR). The left ventricle was cut into transverse slices after the atria and right ventricle were excised. In each slice, the AAR was separated from the non-ischemic zone and incubated in 1% triphenyltetrazolium chloride solution at 37°C for 15 min to differentiate necrotic (pale) from non-necrotic (red) area at risk. The AAR was expressed as a percentage of the left ventricular area (AAR/LV), and the area of necrosis (An) as a percentage of the AAR (An/AAR, infarct size). The AAR and An were determined by image analysis. Criteria for inclusion were that AAR was >15% and <45% of the left ventricular area [14].

Determination of plasma creatine kinase (CK) activity

Arterial blood samples were collected at the end of reperfusion in all groups. Samples were centrifuged at 3,000 rpm for 10 min and the plasma was drawn off. The

CK activity was analyzed spectrophotometrically (SoftMax Pro software, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) according to the manufacturer's instructions.

Measurement of caspase-3 protease activity

The substrate Ac-DEVD-pNA was used to determine caspase-3 activity according to the manufacturer's instructions (BIOMOL, PA, USA). Briefly, transmural tissue blocks were homogenized in ice-cold lysis buffer and centrifuged at 12,000 rpm for 10 min at 4°C. 50 μl of supernatant was then incubated with buffer containing 10 mM dithiothreitol and 5 μl Ac-DEVD-pNA (the final concentration is 200 μM) at 37°C for 1.5 h. Activity of caspase-3 was determined using a spectrophotometer at 405 nm (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) and the results were expressed as -fold of the Sham group.

Determination of myocardial apoptosis by in situ terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated DNA nick-end labeling (TUNEL) staining

The in situ apoptosis detection kit (Roche, Switzerland) was used to examine myocardial apoptosis as we reported previously [26]. Briefly, the transmural myocardial tissue blocks were fixed using 4% paraformaldehyde in PBS and embedded in paraffin. The TUNEL staining was then performed on the paraffin slides based on the manufacturer's protocol. Apoptosis index was assessed by measuring the percentage of apoptotic nuclei from total nuclei in each slide.

Detection of HIF-1α and inducible nitric oxide synthase (iNOS) protein by Western blot

The area at risk myocardium was saved for detecting HIF-1α and iNOS protein using Western blot. Briefly, the tissue block (50 mg) was lysed and homogenized. The protein concentration in the supernatant was detected using BCA kit. 20 μg of protein was loaded on a 8% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) electrophoresed (80 V for 30 min followed by 120 V for 90 min) transferred onto nitrocellulose membrane (100 V, 350 mA for 55 min), blocked with 3% bovine serum albumin for 2 h at room temperature, and then incubated using the primary antibody (anti-HIF-1α, or anti-iNOS or anti-β-actin) at 4°C overnight. The membranes were incubated with horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:1,000 polyclonal) at room temperature for 1 h. The primary antibodies used were: rabbit anti-rat polyclonal HIF-1α (1:200, Santa Cruz Biotechnology), rabbit anti-rat polyclonal iNOS (1:500, BD Biosciences Pharmingen), and rabbit anti-rat polyclonal β-actin (1:1,000, Santa Cruz Biotechnology). Specific antibody binding was detected using electrochemiluminescence. The density of the scanned protein bands was measured by image analysis software and the results were presented as percentage change of the loading control.

HIF-1α expression by immunohistochemical staining

The slides prepared from paraffin-fixed tissue blocks were used for detecting HIF-1α expression in myocardium. The slides were incubated with polyclonal anti-HIF-1α antibody (Santa Cruz Biotechnology, 1:200). After washing in PBS, the slides were then incubated with biotinylated goat anti-rabbit IgG. Sections were stained using SABC immunohischemical kit and dehydrated in graded alcohols. HIF-1α expression was counted from ten different fields in each slide.

Detection of HIF-1α and iNOS mRNA by real time-PCR

Analysis of gene expression was studied using real time quantitative RT-PCR with SYBR Green (Sigma) detection in the Mx3005 real time-PCR System (Atratagene, CA). Total RNA was extracted from the area at risk myocardium with Trizol reagent (Invitrogen, USA). 3 μg of total RNA was reversely transcribed into cDNA. The thermal profile for SYBR Green real time-PCR was 94°C for 2 min, followed by 45 cycles of 94°C for 15 s, 60°C for 1 min, and 72°C for 1 min. The primer sequences were as follows: HIF-1α, sense: 5′-ACT GAT TGC ATC TCC ACC TTC T-3′ and antisense: 5′-TCG CTT CCT CTG AGC ATT CT-3′ (GenBank™ accession number NM_024359); iNOS, sense: 5′-ATC CCG AAA CGC TAC ACT T-3′ and antisense: 5′-GGA TTG TTC TTC GCC AGA-3′ (GenBank™ accession number NM_012611). Samples were normalized against β-actin expression (sense: 5′-GGC TAC AGC TTC ACC ACC AC-3′ and antisense: 5′-TCA GGA GGA GCA ATG ATC TTG-3′, GenBank™ accession number NM_031144) to ensure equal loading. The specificity of the amplified product was monitored by its melting curve. The results, expressed as the -fold difference in the number of target gene (HIF-1α or iNOS) copies relative to the number of β-actin gene copies, were determined by the relative quantitative $^{2^{-\Delta\Delta C_t}}$ method [28], $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ (target gene) $- \Delta C_t$ (β-actin) and ΔC_t (target gene) $= C_t$ (experimental-target) $- C_t$ (control-target) and ΔC_t (β-actin) $= C_t$ (experimental-β-actin) $- C_t$ (control-β-actin).

Statistical analysis

Results were reported as mean ± SEM. One-way ANOVA followed by Tukey–Kramer procedure for multiple comparisons was used to determine statistical differences

among groups. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Sixty rats were initially entered into the study. There were two exclusions in the Control group: one died due to ventricular fibrillation during reperfusion, and another due to an AAR less than the inclusion criteria. One death in the PostC group was due to conduction blockade. Two rats were excluded from the DMOG + PostC group: one died due to conduction blockade, and another due to an AAR less than the inclusion criteria. Data from 55 rats were included in the final analysis: 10 in the Sham group, 8 in the Control group, 9 in the PostC group, 10 in the DMOG + Control group, 8 in the DMOG + PostC group, and 10 in the vehicle + PostC group.

Area at risk and infarct size

The AAR was comparable among all groups (Fig. 1A), averaging between 28 and 35%, indicating that a comparable degree of ischemia was induced among these groups. Infarct size in the Control group was significantly increased compared to the Sham group (36 ± 5.3 vs. 3 ± 0.3%, $P < 0.01$, Fig. 1a). Application of PostC at the onset of reperfusion significantly reduced infarct size by 24.2% relative to the Control group (27 ± 4.2 vs. 36 ± 5.3%, $P < 0.01$, Fig. 1b).

Plasma CK activity

Consistent with an increase in infarct size, CK activity, a surrogate measure of morphological injury, increased significantly in the Control group relative to the Sham group. However, CK activity in the PostC group was significantly reduced relative to the Control group (0.38 ± 0.1 U/ml vs. 0.48 ± 0.04 U/ml, $P < 0.05$, Fig. 1c).

Myocardial apoptosis and caspase-3 activity

TUNEL positive cells were detected in the Sham group as shown in Fig. 2a. However, ischemia/reperfusion caused a significant increase in the number of TUNEL positive cells in the Control group (17 ± 2.4 vs. 1 ± 0.4% in the Sham group, $P < 0.01$). PostC significantly reduced the number of TUNEL positive cells compared to the Control group (11 ± 1.5 vs. 17 ± 2.4%, $P < 0.01$). As shown in Fig. 2b, the activity of caspase-3 was significantly increased by

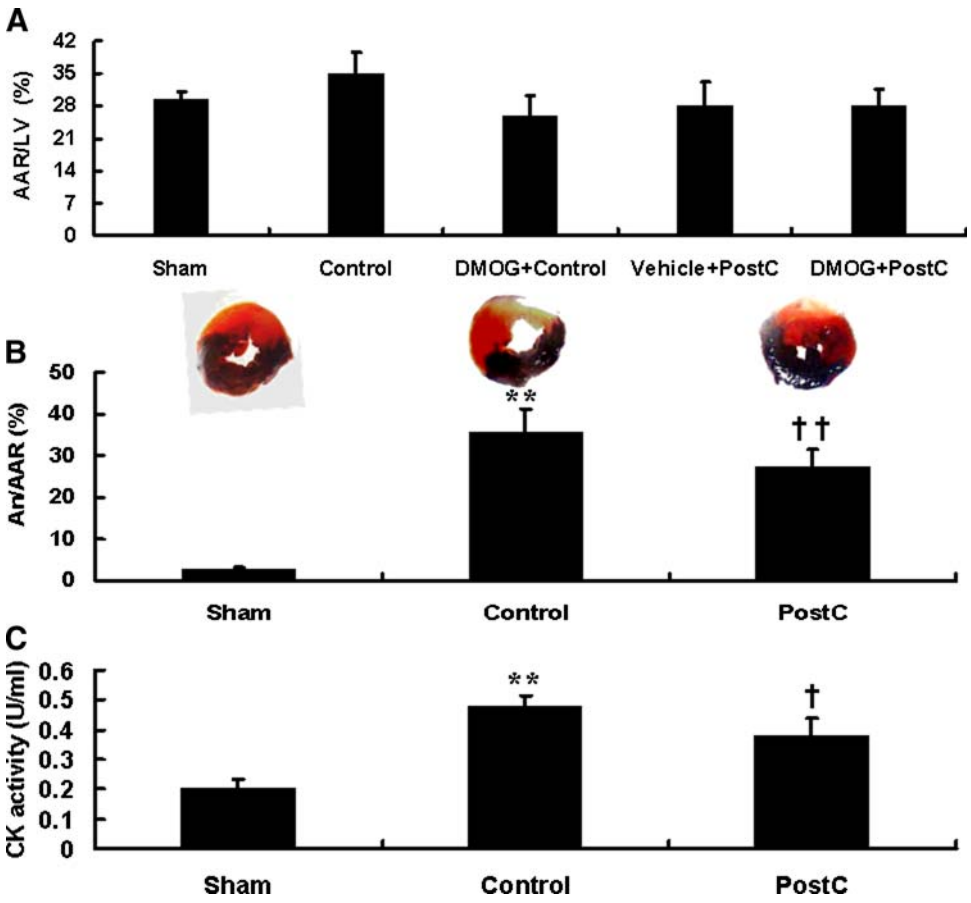


Fig. 1 Area at risk, infarct size and plasma CK activity after ischemia and reperfusion. AAR expressed as a percentage of left ventricle (LV) was comparable in the Sham, Control (ischemia/reperfusion), treatment with DMOG alone (DMOG + Control), PostC alone (Vehicle + PostC) and DMOG + PostC (**a**). However, infarct size, i.e., area of necrosis (An), expressed as percentage of the AAR was significantly reduced by *PostC* (**b**). Reduction in infarct size was consistent with a reduction in *CK* activity in *PostC* group (**c**). Values are mean ± SEM. $^{**}P < 0.01$ Control versus Sham, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ *PostC* versus Control. $^{\dagger}P < 0.05$ PostC versus Control

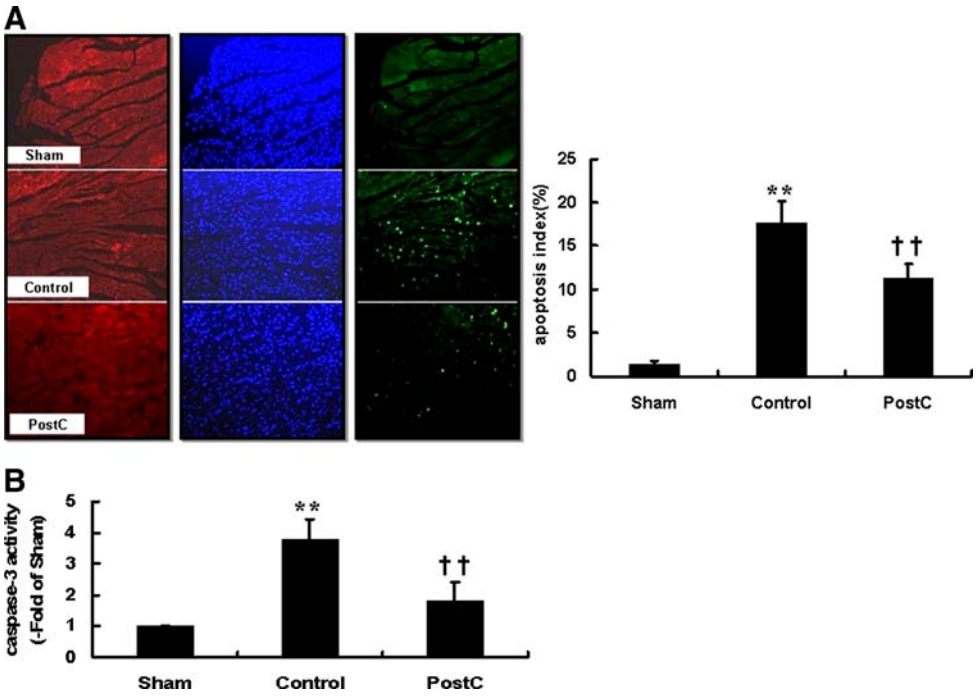


Fig. 2 Induction of cardiomyocyte apoptosis and caspase-3 activity after ischemia and reperfusion. Apoptosis was determined by TUNEL labeling and positive apoptotic nuclei were shown as the bright green fluorescence (**a**). Sections were counterstained with anti-α-actin antibody and Hoechst to identify cardiac myocytes (*red*) and nuclei (*blue*). The results were expressed as an apoptosis index. Apoptotic index = number of positively stained apoptotic myocytes/total number of myocytes counted × 100%. Activity of caspase-3 was determined at the end of reperfusion (**b**). Values are mean ± SEM. $^{**}P < 0.01$ versus Sham, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ versus Control

3.8-fold in the Control group compared to the Sham group ($P < 0.01$), but significantly inhibited by PostC ($P < 0.01$ vs. Control).

Levels of HIF-1α protein and mRNA

As shown in Fig. 3a, the low HIF-1α protein level was detected in the Sham group. Ischemia/reperfusion increased HIF-1α protein level by 2.9-fold compared to the Sham group. However, HIF-1α protein level was further increased by 5.8-fold compared to the Control group after the heart was postconditioned ($P < 0.01$ vs. Control). Consistent with these results, immunohistochemical staining showed enhanced HIF-1α expression in the area at risk myocardium in the Control animals (Fig. 3a). But, HIF-1α expression was markedly enhanced in the PostC group.

To determine whether change in HIF-1α protein expression in both Control and PostC group is regulated at a transcriptional level, steady-state mRNA level of HIF-1α was analyzed by a real time-PCR assay. There were no significant difference in HIF-1α mRNA level among all groups (Fig. 4a), suggesting that the change in HIF-1α expression in both Control and PostC groups were regulated at a post-translational site, but not at a gene level.

A linear relationship between HIF-1α level and infarct size

To demonstrate whether the up-regulation of HIF-1α level correlates to the infarct-sparing effect of PostC, a linear correlation analysis between infarct size and HIF-1α protein level was conducted based on a method as reported previously [3]. As shown in Fig. 4b, there was a linear inverse relationship between infarct size and HIF-1α protein level. Proportionally, an increase in the HIF-1α protein level was associated with a reduction in infarct size ($r = -0.799$, $P < 0.01$). This result suggests a role of HIF-1α up-regulation in PostC-elicited cardioprotection.

Enhancement of PostC-modulated HIF-1α by DMOG

DMOG, a pan-hydroxylase inhibitor that targets HIF-1α through ubiquitination and proteasomal degradation, has been previously reported to stabilize and activate HIF-1α [16]. We select this pharmacological intervention to demonstrate whether PostC-enhanced HIF-1α could be further modulated. As shown in Fig. 5a, relative to the Control animals, pretreatment with DMOG at 24 h before ischemia or application of PostC at the onset of reperfusion significantly elevated HIF-1α protein to a comparable level. However, PostC-modulated HIF-1α protein was further increased by 3.3-fold when DMOG was given 24 h before PostC, which was significantly different compared to those in the Control and PostC alone groups. However, pretreatment with DMOG, PostC or DMOG plus PostC did not show any effects on HIF-1α mRNA level (Fig. 5b).

Enhancement of PostC-mediated reduction in infarct size by DMOG

Consistent with modulation of HIF-1α protein by DMOG and PostC, infarct size was also significantly reduced by

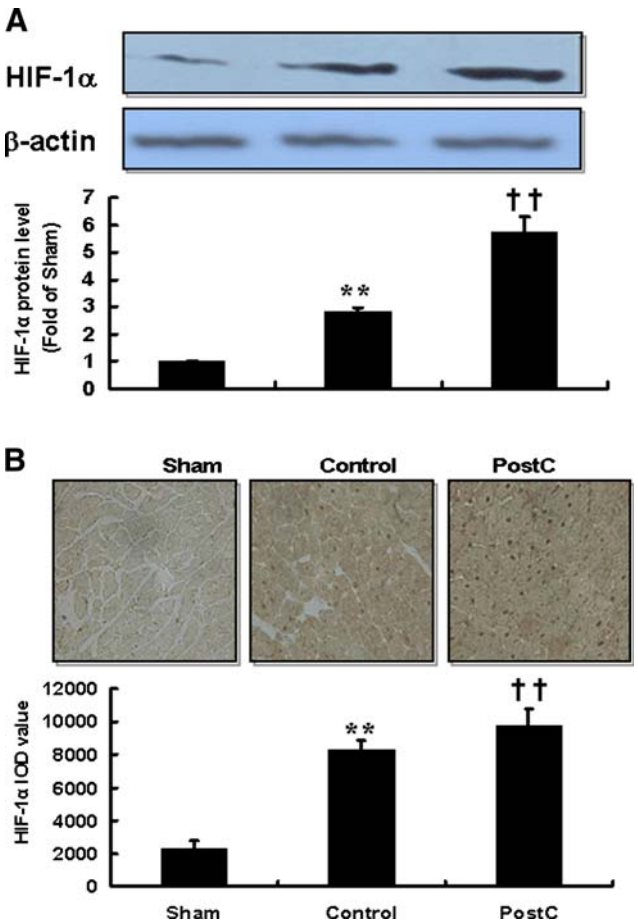


Fig. 3 Expression of HIF-1α protein after ischemia and reperfusion. **a** The Western blot image for HIF-1α protein and equal loading of samples was verified by staining with *β*-actin-specific antibody. **b** HIF-1α localization and accumulation identified by immunohistochemical staining (200×). Immunohistochemical staining of the tissue samples was performed with specific antibody to HIF-1α (*brown*). Values are mean ± SEM. $^{**}P < 0.01$ versus Sham, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ versus Control

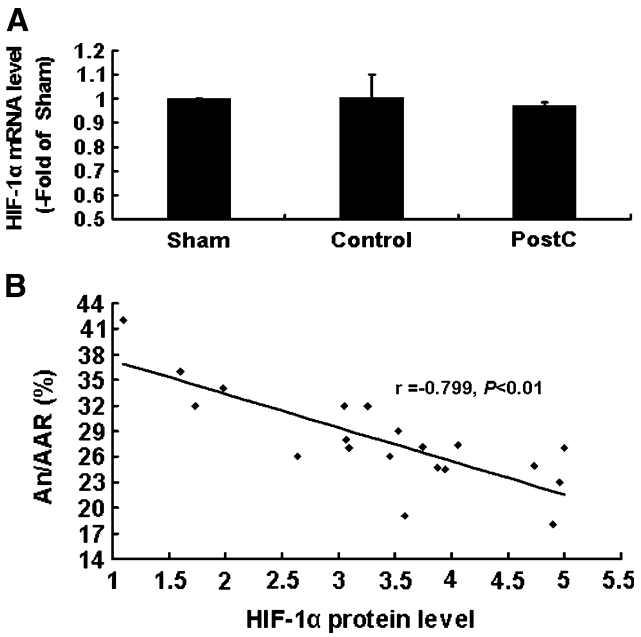


Fig. 4 Expression of HIF-1α mRNA and linear analysis between infarct size (An/AAR) and HIF-1α protein after ischemia and reperfusion. The values from each group were normalized from the *β*-actin bands, and expressed as a normalized ratio relative to the Sham group. No change in HIF-1α mRNA level was detected among all groups (**a**). Values are mean ± SEM. There was a significant linear inverse correlation between the An/AAR and HIF-1α protein among all groups. It was apparent that the reduction in infarct size is associated with an up-regulation of HIF-1α protein level

these two interventions. As shown in Fig. 6a, the infarct size in the DMOG alone and PostC alone groups was reduced by 24.2 and 25.7%, respectively, compared to the Control group. However, a reduction in infarct size by PostC was further enhanced when DMOG was given 24 h before PostC, averaging 50% reduction compared to those in both DMOG and PostC alone groups (Fig. 6b). These results were consistent with a significant reduction in CK activity in these groups (Fig. 6b). Furthermore, pretreatment with DMOG, PostC or DMOG plus PostC also significantly reduced caspase-3 activity (Fig 6c).

Modulation of iNOS expression by PostC and DMOG

Nitric oxide (NO) is enzymatically produced by inducible nitric oxide synthase (iNOS) through the oxidation of arginine, and is known to exert anti-inflammatory and vasodilatory responses against ischemia/reperfusion injury. In this study, we measured the levels of iNOS mRNA and protein by real time-PCR and Western blot. The dissociation curve showed a single peak at 85.9 and 88.7°C for iNOS and *β*-actin respectively, suggesting an amplification of a specific product (Fig. 7a). Very low levels of iNOS mRNA (Figs. 7b and 8a) and iNOS protein (Fig. 8b) were detected in the Sham group. As shown in Figs. 7 and 8, ischemia/reperfusion caused significant increase in both iNOS mRNA and iNOS protein in the Control group. Pretreatment with DMOG increased iNOS mRNA and iNOS protein to a compatible level as seen in the PostC group. However, their levels were markedly increased when DMOG treatment was given before PostC. Modulation of iNOS mRNA and iNOS protein by DMOG and PostC was consistent with change in HIF-1α in these two groups, suggesting a role of HIF-1α in regulation of iNOS by these interventions.

Discussion

This study demonstrated that PostC reduces infarct size, decreases plasma CK activity, and attenuates apoptosis. Along with these changes, expression of HIF-1α and iNOS

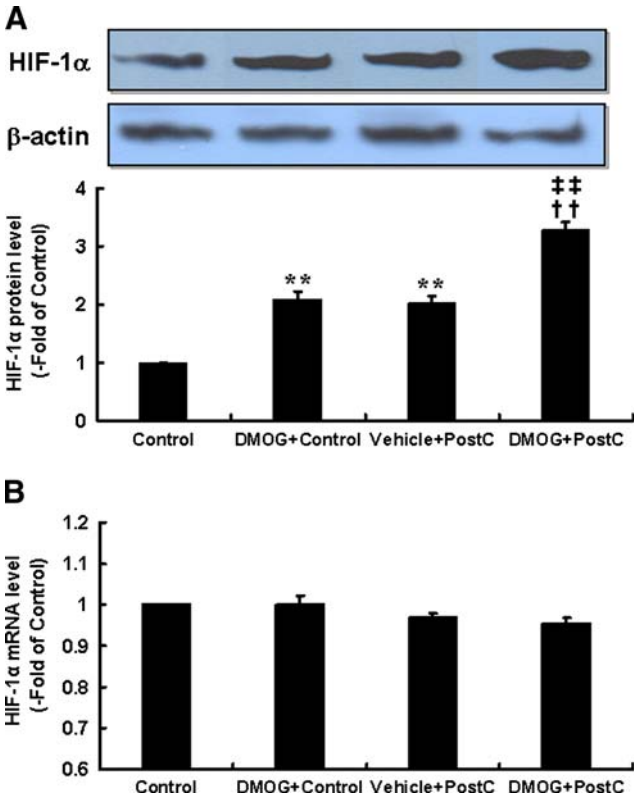


Fig. 5 Levels of HIF-1α protein and mRNA after ischemia and reperfusion. **a** The Western blot images for HIF-1α protein and β-actin. **b** The quantitative analysis for expression of HIF-1α mRNA among all groups. Equal loading of samples was verified by staining with β-actin-specific antibody. The values from each group were normalized from those in the Control group. Values are mean ± SEM. $^{**}P < 0.01$ versus Control, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ versus Vehicle + PostC, $^{\ddagger\ddagger}P < 0.01$ versus DMOG + Control

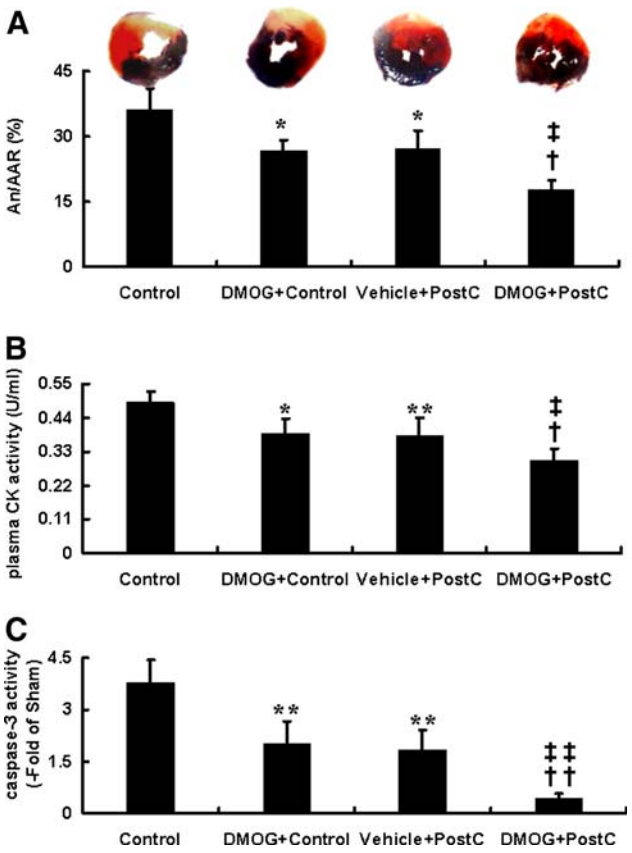


Fig. 6 Infarct size, CK level and caspase-3 activity among all groups after ischemia and reperfusion. Pretreatment with DMOG alone significantly reduced infarct size to a compatible level as did PostC. However, the infarct-sparing effect of PostC on infarct size was further enhanced by DMOG (**a**) Consistent with a reduction in infarct size, the activity of plasma CK (**b**) and caspase-3 (**c**) was also significantly reduced by DMOG and PostC. Values are mean ± SEM. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ versus Control, $^{\dagger}P < 0.05$, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ versus Vehicle + PostC, $^{\ddagger}P < 0.05$, $^{\ddagger\ddagger}P < 0.01$ versus DMOG + Control

was significantly up-regulated. Pretreatment with DMOG to stabilize HIF-1α showed comparable protective effects as those in the PostC. A linear inverse correlation between HIF-1α protein level and infarct size among all groups supports a role of HIF-1α in modulation of myocardial damage. Consistent with reduction in infarct size by HIF-1α, other detrimental consequences induced by ischemia/reperfusion such as changes in CK activity, apoptotic index and caspase-3 activity were inhibited. More interesting observation was that PostC-modulated reduction in infarct size, and expression in HIF-1α and iNOS was further enhanced when DMOG was given before PostC, supporting a role of HIF-1α/iNOS-mediated signaling pathways in PostC's myocardial protection.

HIF-1 is a heterodimeric transcriptional factor composed of a HIF-1α functional subunit and hypoxia inducible factor 1 beta (HIF-1β) constitutional subunit. HIF-1β subunit is maintained at constant level regardless of oxygen availability, but the expression and function of HIF-1α are precisely regulated by cellular oxygen concentrations. Under normoxic conditions, the HIF-1α protein is rapidly degraded through prolyl hydroxylation by prolyl 4-hydroxylases (PHDs) in the presence of oxygen. Under hypoxic conditions, these enzymes fail to hydroxylate HIF-1α due to low oxygen content. Therefore, HIF-1α plays a crucial role in the maintenance of oxygen homeostasis [20, 25]. In the present study, we found that HIF-1α was maintained at very low level in the Sham group. Although ischemia/reperfusion caused a significant increase in HIF-1α expression in the Control animals, but its level was markedly elevated either by DMOG or by PostC, as evidenced by increased intensity of Western blot bands and immunohistochemical staining. Furthermore, treatment with DMOG before PostC further enhanced HIF-1α expression relative to each intervention alone, suggesting an additive effect.

The dynamic expression of HIF-1α during ischemia and reperfusion as well as time profile in HIF-1α alteration by

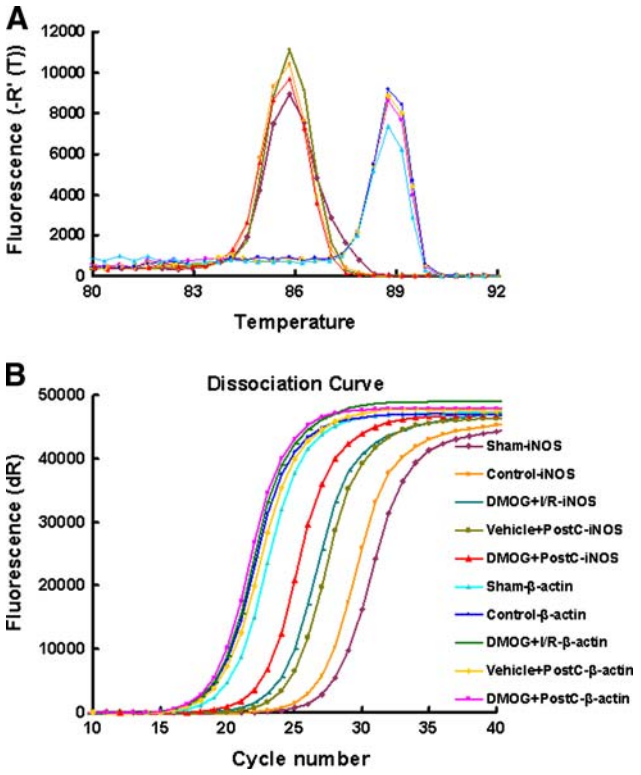


Fig. 7 The dissociation curve and an amplification profile for iNOS mRNA by real time-PCR for Sham, Control, DMOG, PostC and DMOG plus PostC after ischemia and reperfusion. A single peak at 85.9 and 88.7°C for iNOS and β-actin was detected in the dissociation curve (**a**). C_t, the cycle number at wihich the fluorescence becomes detectable above the background fluorescence was shown (**b**). The relative value of iNOS mRNA expression among all groups has been normalized to matched β-actin measurement

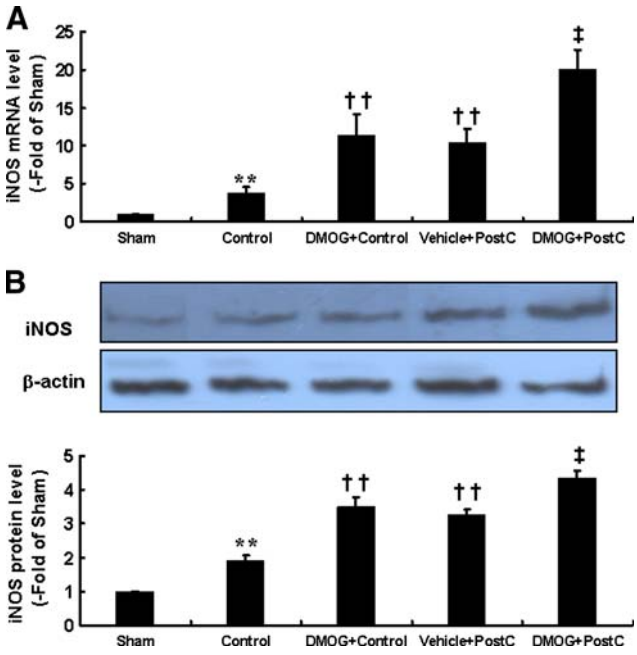


Fig. 8 Levels of iNOS mRNA and protein after ischemia and reperfusion. **a** The quantitative analysis for expression of iNOS mRNA among all groups. **b** The Western blot images for iNOS protein and β-actin. Equal loading of samples was verified by staining with β-actin-specific antibody. The values from each group were normalized from the β-actin band, and expressed as the ratio of values in the Sham group. Values are mean ± SEM. $^{**}P < 0.01$ versus Sham, $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ versus Control, $^{\ddagger}P < 0.05$ versus Vechile + PostC and DMOG + Control

DMOG and PostC are unknown according to the current data. DMOG was given at 24 h before ischemia, and PostC was applied at the onset of reperfusion. However, we found that there is a comparable level in expression of HIF-1α between these two interventions, suggesting HIF-1α can be modified either during ischemia or after reperfusion. DMOG has been well demonstrated to up-regulate HIF-1α when it is given before ischemia [16]. However, an interesting finding in the current study is that HIF-1α is also up-regulated when reperfusion is interrupted by PostC. We assume that repetitive reperfusion and ischemia cause temporary deprivation of oxygen and exert a strong stimulating effect on HIF-1α expression. This may explain an additive effect of DMOG plus PostC on up-regulation of HIF-1α. The tissue samples collected for analyzing HIF-1α expression were taken at the end of the experiment. However, we still see a robust increase in expression of HIF-1α protein, suggesting that there is a "big window" for HIF-1α to elicit the beneficial effect on ischemic/reperfused heart. Up-regulation of HIF-1α by DMOG before ischemia is responsible for attenuation of myocardial injury. However, even after an index ischemia, stimulation of HIF-1α by PostC is also associated with reduction in reperfusion injury.

In contrast to the expression of HIF-1α protein, under our experimental condition, the expression of HIF-1α mRNA was not altered by DMOG and PostC during ischemia and reperfusion, suggesting that biological effects of HIF-1α on ischemia/reperfusion injury mainly occur at the protein level. It has been demonstrated that HIF-1α mRNA is constitutively expressed, and not to be affected by oxygen level. Therefore, the stability and activity of HIF-1α protein are likely to be participated in determining its post-translational effects [10]. In addition to modification of HIF-1α protein by DMOG and PostC, other events potentially targeted by DMOG and PostC may also be altered during ischemia and reperfusion. For example, it has been reported that DMOG inhibits proinflammatory cytokines, reduces neutrophil sequestration, and up-regulates heme oxygenase-1[16], whereas PostC stimulates survival kinases, facilitates mitochondrial K_{ATP} channel and inhibits mitochondrial permeability transition pore [2, 6, 23]. These different biological effects may explain the synergistic protective effects on infarct size, plasma CK level and caspase-3 activity when DMOG was administered before PostC.

Recent studies have demonstrated that iNOS is one of HIF-1α that mediates the transcriptional activation of many oxygen-sensitive genes including netrin-1 [19], vascular endothelial growth factor [18], erythropoietin, transferrin and several glycolytic enzymes. With regard to the mechanisms of iNOS-mediated protection, several recent studies have reported that NO generated from activated iNOS stimulates guanylate cyclase, enhances formation of cGMP, and thereby activates protein kinase G leading to subsequent opening of mitochondrial K_{ATP} channels and inhibition of mitochondrial permeability transition pore [5, 7, 9]. In this regard, it has been previously reported that NO donors under normoxic conditions stimulate HIF-1α expression, resulting in iNOS expression and NO generation [4]. By virtue of these results, HIF-1α becomes an attractive molecular target for limiting ischemia/reperfusion injury through modulating iNOS gene expression.

However, it is unknown whether an alteration of HIF-1α expression affects iNOS production in vivo, and whether these changes could be targeted by PostC during reperfusion. In the current study, we found that in association with up-regulation of HIF-1α protein by both DMOG treatment and PostC, the expression in iNOS mRNA and iNOS protein was significantly augmented. An increase in iNOS mRNA and iNOS protein in PostC group to a compatible level in DMOG group suggested that iNOS can be also modified during reperfusion. It is very possible that DMOG increases HIF-1α protein and iNOS during ischemia, and PostC further augments their levels during reperfusion. These data were consistent with additive protective effects with DMOG and PostC on myocardial injury. It is clear that more studies are needed to further demonstrate whether some other downstream genes are also activated via up-regulating HIF-1α by PostC.

In summary, our findings show for the first time that PostC up-regulates HIF-1α expression, providing a new insight into protective mechanisms of PostC after ischemia and reperfusion. Additive effects with DMOG treatment and PostC on up-regulation of HIF-1α and iNOS as well as attenuation of myocardial injury may likewise represent a novel approach for adjunctive therapy in treatment of ischemic heart disease.

Acknowledgments This work was supported in part by National Nature Scientific Foundation of People's Republic of China (No.30572084 to Hui-Rong Liu, No.30700276 to Xiao-Liang Wang), and award of Technological Innovation of Taiyuan City (08122085 to Huan-Xin Zhao).

References

1. Argaud L, Gateau-Roesch O, Augeul L, Couture-Lepetit E, Loufouat J, Gomez L, Robert D, Ovize M (2008) Increased mitochondrial calcium coexists with decreased reperfusion injury in postconditioned (but not preconditioned) hearts. Am J Physiol Heart Circ Physiol 294:H386–H391
2. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, Loufouat J, Robert D, Ovize M (2005) Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. Circulation 111:194–197
3. Boldt A, Scholl A, Garbade J, Resetar ME, Mohr FW, Gummert JF, Dhein S (2006) ACE-inhibitor treatment attenuates atrial structural remodeling in patients with lone chronic atrial fibrillation. Basic Res Cardiol 101:261–267
4. Brüne B, Zhou J (2007) Nitric oxide and superoxide: interference with hypoxic signaling. Cardiovasc Res 75:275–282
5. Cuong DV, Kim N, Youm JB, Joo H, Warda M, Lee JW, Park WS, Kim T, Kang S, Kim H, Han J (2006) Nitric oxide-cGMP-protein kinase G signaling pathway induces anoxic preconditioning through activation of ATP-sensitive K^+ channels in rat hearts. Am J Physiol Heart Circ Physiol 290:H1808–H1817
6. Donato M, D'Annunzio V, Berg G, Gonzalez G, Schreier L, Morales C, Wikinski RL, Gelpi RJ (2007) Ischemic postconditioning reduces infarct size by activation of A1 receptors and K^+ATP channels in both normal and hypercholesterolemic rabbits. J Cardiovasc Pharmacol 49:287–292
7. Heusch G, Boengler K, Schulz R (2008) Cardioprotection: nitric oxide, protein kinases, and mitochondria. Circulation 118:1915–1919
8. Iliodromitis EK, Georgiadis M, Cohen MV, Downey JM, Bofilis E, Kremastinos DT (2006) Protection from postconditioning depends on the number of short ischemic insults in anesthetized pigs. Basic Res Cardiol 101:502–507
9. Jones SP, Bolli R (2006) The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection. J Mol Cell Cardiol 40:16–23
10. Ke Q, Costa M (2006) Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1). Mol Pharmacol 70:1469–1480
11. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, Zhao ZQ, Guyton RA, Headrick JP, Vinten-Johansen J (2005) Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. Cardiovasc Res 67:124–133
12. Lee SH, Wolf PL, Escudero R, Deutsch R, Jamieson SW, Thistlethwaite PA (2000) Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. N Engl J Med 342:626–633
13. Lim SY, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM (2007) Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. Cardiovasc Res 75:530–535
14. Mykytenko J, Kerendi F, Reeves JG, Kin H, Zatta AJ, Jiang R, Guyton RA, Vinten-Johansen J, Zhao ZQ (2007) Long-term inhibition of myocardial infarction by postconditioning during reperfusion. Basic Res Cardiol 102:90–100
15. Mykytenko J, Reeves JG, Kin H, Wang NP, Zatta AJ, Jiang R, Guyton RA, Vinten-Johansen J, Zhao ZQ (2008) Persistent beneficial effect of postconditioning against infarct size: role of mitochondrial K(ATP) channels during reperfusion. Basic Res Cardiol 103:472–484
16. Ockaili R, Natarajan R, Salloum F, Fisher BJ, Jones D, Fowler AA 3rd, Kukreja RC (2005) HIF-1 activation attenuates postischemic myocardial injury: role for heme oxygenase-1 in modulating microvascular chemokine generation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289:542–548
17. Philipp S, Yang X-M, Cui L, Davis AM, Downey JM, Cohen MV (2006) Postconditioning protects rabbit hearts through a protein kinase C-adenosine A2b receptor cascade. Cardiovasc Res 70:308–314
18. Qing M, Görlach A, Schumacher K, Wöltje M, Vazquez-Jimenez JF, Hess J, Seghaye MC (2007) The hypoxia inducible factor HIF-1 promotes intramyocardial expression of VEGF in infants with congenital cardiac defects. Basic Res Cardiol 102:224–232

19. Rosenberger P, Schwab JM, Mirakaj V, Masekowsky E, Mager A, Morote-Garcia JC, Unertl K, Eltzschig HK (2008) Hypoxia inducible factor–dependent induction of netrin-1 dampens inflammation caused by hypoxia. Nature Immunology 10:195–202
20. Semenza GL (2004) Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. Physiology (Bethesda) 19:176–182
21. Sivaraman V, Mudalagiri NR, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Yap J, Keogh B, Hausenloy DJ, Yellon DM (2007) Postconditioning protects human atrial muscle through the activation of the RISK pathway. Basic Res Cardiol 102:453–459
22. Skyschally A, van Caster P, Boengler K, Gres P, Musiolik J, Schilawa D, Schulz R, Heusch G (2009) Ischemic postconditioning in pigs: no causal role for RISK activation. Circ Res 104:15–18
23. Sun HY, Wang NP, Halkos M, Kerendi F, Kin H, Guyton RA, Vinten-Johansen J, Zhao ZQ (2006) Postconditioning attenuates cardiomyocyte apoptosis via inhibition of JNK and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways. Apoptosis 11:1583–1593
24. Tsang A, Hausenloy DJ, Macanu MM, Yellon DM (2004) Postconditioning-A form of ''modified reperfusion'' protects the myocardium by activating the P13 K-Akt pathway. Circulation 110:III167
25. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL (1995) Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O_2 tension. Proc Natl Acad Sci 92:5510–5514
26. Wang X-L, Liu H-R, Tao L, Liang F, Yan L, Zhao R-R, Lopezb BL, Christopher TA, Ma X-L (2007) Role of iNOS-derived reactive nitrogen species and resultant nitrative stress in leukocytes-induced cardiomyocyte apoptosis after myocardial ischemia/reperfusion. Apoptosis 12:1209–1217
27. Yellon DM, Opie LH (2006) Postconditioning for protection of the infarcting heart. Lancet 367:456–458
28. Yoshida A, Suzuki N, Nakano Y, Oho T, Kawada M, Koga T (2003) Development of a 5′ fluorogenic nuclease-based real time-PCR assay for quantitative detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. J Clin Microbiol 41:863–866
29. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J (2003) Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol Heart Circ Physiol 285:H579–H588

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *UELC complémentaire de M1*

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Trois questions
- Grille pour le résumé de 250 mots

Note

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés
Dictionnaire français/anglais « papier » : autorisé
Surligneurs : autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

UE complémentaire de M1
Responsable : Christelle MOUCHOUX

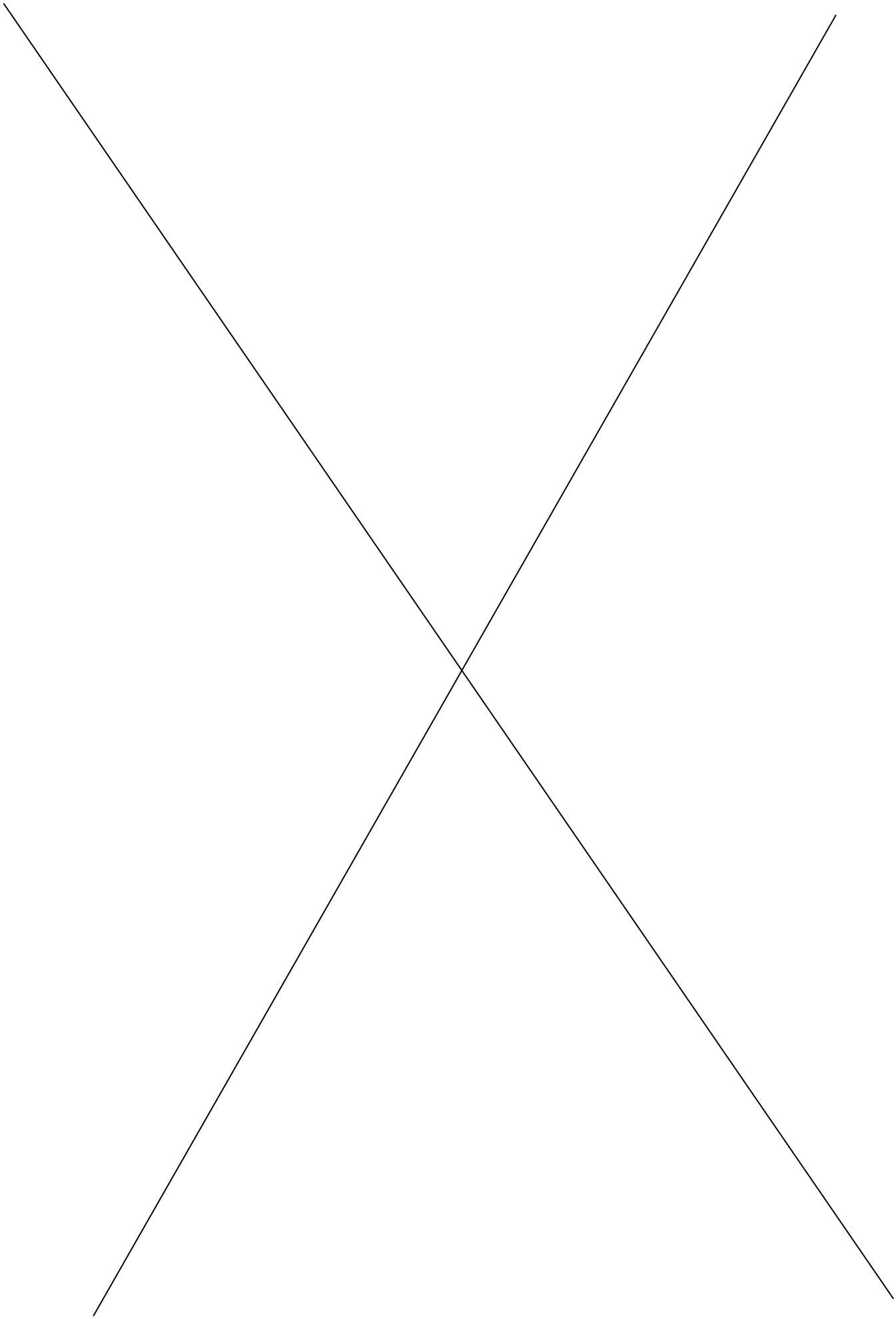
Un article en anglais vous a été envoyé.

Question 1
Proposer un titre en français pour cet article

Question 2
Proposer 3 à 5 mots clefs en français pour cet article

Question 3
Proposer un résumé en français pour cet article (250 mots).
Le résumé doit être écrit dans la grille en page 3 (un mot par case).
Remarque : la grille contient plus de 250 cases.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *UELC complémentaire de M1*

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Trois questions
- Grille pour le résumé de 250 mots

Note

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés
Dictionnaire français/anglais « papier » : autorisé
Surligneurs : autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

UE complémentaire de M1
Responsable : Christelle MOUCHOUX

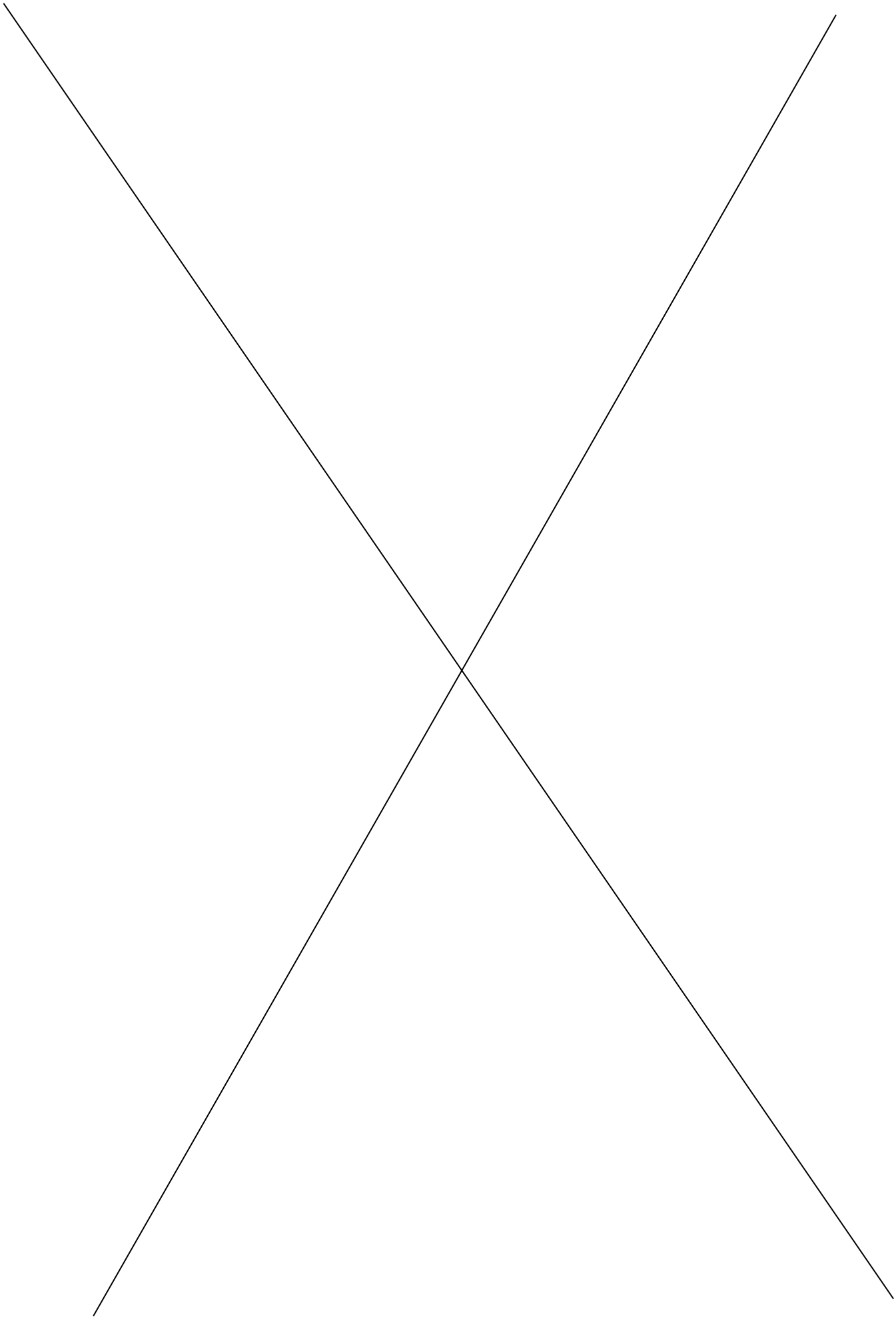
Un article en anglais vous a été envoyé.

Question 1
Proposer un titre en français pour cet article

Question 2
Proposer 3 à 5 mots clefs en français pour cet article

Question 3
Proposer un résumé en français pour cet article (250 mots).
Le résumé doit être écrit dans la grille en page 3 (un mot par case).
Remarque : la grille contient plus de 250 cases.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									



Introduction

Organogels are semi-solid systems in which an organic liquid phase is immobilized by a three-dimensional network composed of self-assembled, intertwined gelator fibres. Organogels are usually prepared by dissolving an organogelator in an organic phase at high temperature and then cooling the solution below its characteristic gelation transition temperature (Tgel) [1–3]. The formation of the gelling matrix is a function of the physicochemical properties of its components and their interactions, whereas the formation of the resulting gel is a function of variable surface tension and capillary force [3]. The classification of the gel is based on the organic liquid and gelator utilized as well as their interactions. According to its nature, an organogelator can be divided into polymeric organic gelators (POGs) and low-molecular-mass organic gelators (LMOGs) [4].

There are many applications for organogels in the food, pharma-ceutical, cosmetic and petrochemical industries, and as a result, there is an increasing interest for these soft materials. In this study, organogels are treated in particular for their cosmetic and dermo-cosmetic applications. The cosmetology leading research in this field looks at the improvement in the sensory qualities ingrained into the texture of a cosmetic product [5, 6]. Organogels in cosmetology are used in creating products with solid consistency, such as deodorant and anti-perspirant sticks, lipsticks, lip balms and eye liners [7, 8]. Their basic characteristic features are as follows: (i) formation from low-mass molecules, (ii) thermoreversible sol-to-gel phase transition, (iii) low concentration of active gelator molecules [9, 10]. LMOGs are frequently used in cosmetology for their desir-able physical organization properties within the oil phase or their capacity to jellify the organic liquids in smaller quantities (0.1– 15%). They are generally derived from fatty acids and sugars that are biodegradable and non-toxic [11, 12]. The most LMOG-based organogels are physical gels; unlike chemical gels (cross-linked polymers), they are thermally reversible [3, 4, 9]. In solution, LMOGs self-assemble by non-covalent interactions to form fibrous structures responsible for the gelation phenomenon. The driving forces of the molecular interactions are hydrogen bonding [13, 14], p-p stacking [15–17], van der Waals's forces [18–20], donor–acceptor interactions [21, 22] and organic or organometallic bond-ing [23, 24].

The aim of this study was to elaborate a stable dispersion of organogel nanoparticles containing a hydrophobic model molecule, obtained by environmentally friendly way. An increasing interest in "green" efficiency has promoted research in the field of solvent-free reactions [25–27]. In this context, the research team of Villa et *al*. [28] works in particular on the synthesis of some esters derived from aromatic acids, bioactive ingredients for cosmetic products and well-known UVB sunscreen filters. Based on the gelled particle preparation concept, we propose to jellify the mixture of an organic liquid and sunscreen molecule and then disperse the organogel as sunscreen gelled nanoparticles. The gelation pro-cess permits to immobilize the sunscreen molecule and could improve its chemical stability.

The particle preparation process is based on the sol-gel phase-transition temperature (Tgel) of the organogel obtained by hot emulsification (T>Tgel) in the presence of an emulsifying or a stabilizing agent and then cooling the solution at room temperature (T<Tgel), leading to a stable dispersion of nanoparticles in water

We chose 12-hydroxystearic acid (HSA), an efficient and well-known gelator largely used in cosmetic formulations [29], as the LMOG and especially almond oil, an vegetable oil also used in cos-metics [5, 6], as the oil phase. Acetylated glycol stearate (AGS), sodium hyaluronate (SH) and polyvinyl alcohol (PVA 80) hydroly-sed at 80% for dermo-cosmetic use were selected as stabilizing, thickening and emulsifying agents. The 2-ethylhexyl-*p*-dimethylaminobenzoate (EHMAB), an organic sunscreen molecule, obtained by green synthetic way, was used as a hydrophobic model molecule. The chemical structures of the ingredients are shown in Fig. 1. Concerning the organogel characterization, the determina-tion of the minimum gelation concentration (MGC) of HSA with different organic liquids was realized. The Tgel and Tmel values of the gels based on HSA and almond oil were also determined using rheological measurements. Once the gelled nanoparticle dispersions have been elaborated, the nanoparticles were characterized and the influence of the ingredients on their aqueous dispersions and their ageing were studied. The particle UVB absorption ability and WR were also investigated.

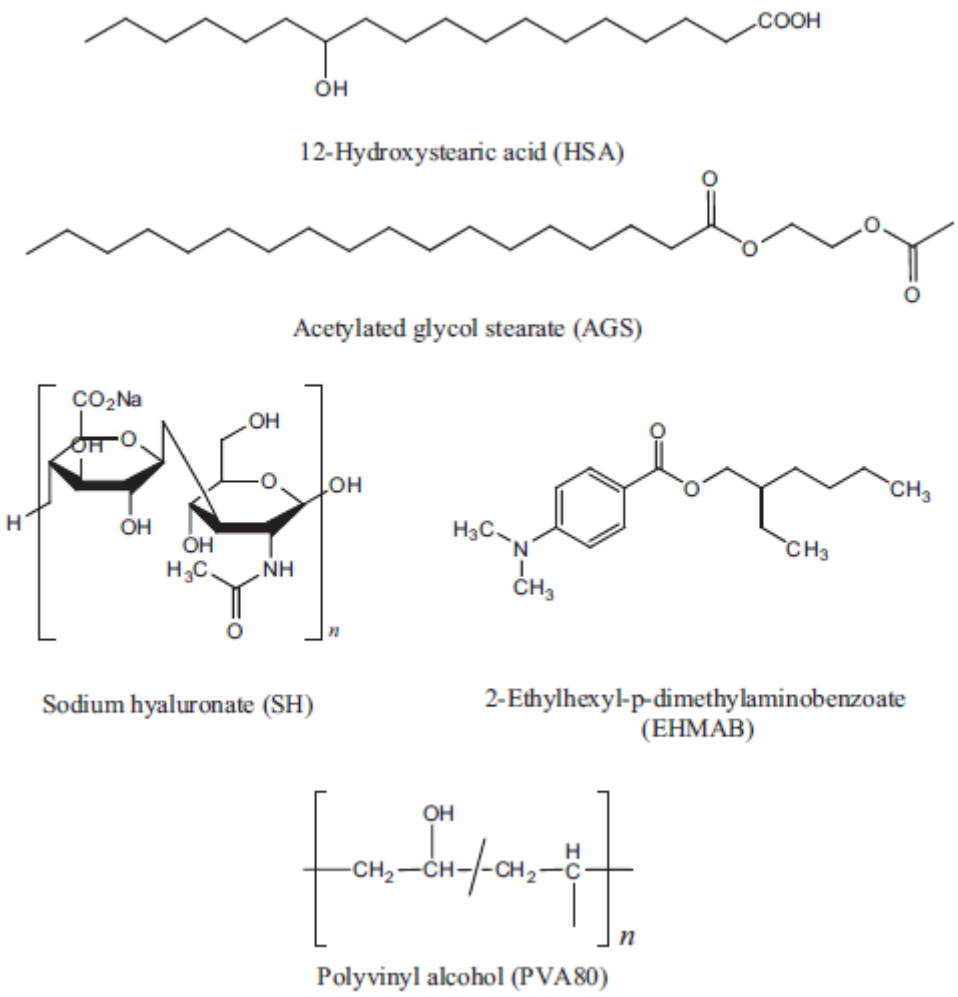


Figure 1. Chemical structure of various ingredients.

Materials and methods

Materials

HSA with a purity of 99% was obtained from Casid (Caschem, Indianapolis, IN, U.S.A.). Vegetable and vaseline oils were bought from, respectively, BASF (Coptis, Lavallois-Perret, France), and Gattefosse (Saint-Priest, France), and PVA 80, 98% (Mn = 9000–10 000 g/mol) from Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, U.S.A.). AGS and SH, > 90% (Mn = 1800–2300 kDa), were a gift from our industrial partners. Demineralized water was used for the preparation of gelled nanoparticle dispersions.

Organogel preparation

The organogel was prepared by dissolving HSA, and eventually AGS and/or EHMAB, in the corresponding oil. For a complete disso-lution of the oily ingredients, the mixture was homogenized by heating at 52 °C for 10 min and then cooling at room temperature to form a compact and translucent gel.

Preparation of aqueous gelled nanoparticle dispersions

For all the experiments, the HSA, as well as AGS and EHMAB, was considered as oil additives, and consequently, their weight percent-age was only based on the oil phase, and not on the dispersion total weight.

Protocol using ultrasound probe

Water containing emulsifying agents (PVA 80 and SH) was added to the previously obtained organogel. The mixture was heated to 52 °C (above Tgel) and melting led to an oily layer at the surface of the solution. Then, the hot mixture was emulsified (52 °C) by sonication (frequency: 20 kHz, output power: 600 W, Ultrasonic Pro-cessor UP400S, with a titanium probe; Hielscher, Teltow, Germany), twice for 5 min. For this study, we decided to keep the sonication conditions constant for all experiments in order to limit the number of parameters influencing the preparation process. The emulsion formed was then cooled at room temperature, leading to the dispersion of organogel particles.

Protocol using Ultraturrax homogenizer

The oil and aqueous phases were heated separately to 52°C and then mixed (oil in water) with Ultraturrax (rotor stator homogenizer, T25 basic IKA Labortechnik, Staufen, Germany) for 10 min (11 000 r.p.m.). For this study, emulsification conditions were kept constant to limit the number of parameters influencing the preparation process. The emulsion was then cooled at room temperature, leading to the dispersion of organogel nanoparticles.

Rheological measurements

Tgel or melting transition temperature (Tmelt) of organogels and gelled particles was determined using a Rheometric Scientific RM-180 rotational rheometer (Maple Instrument TM, Toronto, ON, Canada). The Rheomat RM180 (Lyon, France) is a rotational viscometer that uses a motor driven bob (or spindle) that rotates within a fixed cylinder (number 3, 15.18 mm in diameter), which allows for a defined geometry (number 3, 14 mm in diameter, 21 mm in

height). The sample (6 mL) was inserted between the cylinder and the geometry. The shear resistance of the sample in the gap allows for the measurement of motor torque. Temperature control was provided by a thermostatically controlled water bath. The Tgel and Tmelt values were measured by following the variation of the vis-cosity with the temperature. Tgel was determined when we observed an abrupt increase of the viscosity (gelation process).
Con-trarily, Tmelt was determined when we noted an abrupt decrease in viscosity, related to the melting process. Measurements were realized in triplicate, and the average was mentioned. The viscosity measurements were conducted over an extended range of shear rates (0.03–100 s^{-1}) using a flow procedure (steady-state flow mode). The shear rate dependence of the viscosity was usually monitored as a function of increasing shear rate. Between measurements, the sample was allowed to equilibrate for some time before the experiments started.

Particle size and zeta-potential analysis

Dynamic light scattering (DLS) was performed on a Zeta Sizer Nano ZS (Malvern Instruments, Worcestershire, U.K.), using a He–Ne laser (633 nm), at a scattering angle of 173° and at 25 ± 1°C. The hydrodynamic mean diameter and the polydispersity index (PI) of nanoparticles were determined using the software provided by Malvern Instruments. The Contin model was applied to obtain size data. All the auto-correlation function fits were checked and found to be in accordance with the experimental data. Zeta-potential measurements were performed on the same apparatus, using an electrophoretic light-scattering technique. All measurements were obtained from a mean of diluted samples (20 mg of dispersion in 10 mL of distilled water). The accuracy was 10 nm and 5 mV for the zeta-potential.

Freeze-drying procedure

Freshly prepared emulsions and dispersions were either stored at 80 °C until use or freeze-dried in aliquots of 5 mL in 15 mL freeze-dry vials. The rubber freeze-dry caps (type Heto; Power Dry LL300 Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, U.S.A.) were dried at 100 °C for 1 day prior to use. The vials were placed on the freeze-dryer platewith a temperature of 55 °C and 10 –13 Pa for 24 h.

Transmission electron microscopy

The morphology of the particles was examined by transmission electron microscopy (TEM, JEOL JEM-1200EX, Peabody, MA, U.S.A., 80 kV). Diluted samples (5 mg of dispersion in 10 mL of distilled water) were deposited on a 400-mesh carbon film copper grid for 1 min. Then, the excess sample solution was removed, and samples were stained with a uranyl acetate solution (1 wt%).

Scanning electron microscopy (SEM)

The samples were allowed to dry naturally at room temperature, were mounted on aluminium stubs (12 mm in diameter and cov-ered with double-face carbon adhesive tape) and sputter coated with gold (10 mA, 1.5 kV for 30 s). Then, the gelled particle struc-ture was examined using a scanning electron microscope (LEO 435 VP; Zeiss, Oberkochen, Germany) with an acceleration voltage of 7.5 kV.

Stability assessment

Rennet-induced coagulation was monitored using a Turbiscan Classic MA 2000 (Formulaction, Union, France). The apparatus has a detection head equipped with a near-infrared light source (860 nm) which scanned the sample length vertically by mean of a step-by-step motor. Programmable in time, the system enabled determining retrodiffusion and transmission profiles of the sample (5 mL injected into a flat bottomed tube). These profiles enabled detection of the rennet-induced coagulation even at a very early stage for less than 1 mm; the eye could not evalu-ate a small difference of opacity or of height. The intensities were obtained by integration of the increasing reflected light peaks of the rennet-induced coagulation. Rennet-induced coagulation was monitored at ambient temperature and 50 °C by putting the samples in thermostatically controlled water bath. The apparatus scanned 2000 acquisitions/scan in 3 s (i.e. one acquisition each 40 µm).

Ultraviolet irradiation

The Ultraviolet irradiation (UVR) of samples was under taken in a UV irradiator Atlas Suntest CPS+ (Atlas, Chicago, IL, U.S.A.). The UV intensity was maintained at550 W m^{-2} (twice the average exposure of solar UV for 1 h). All samples were covered with aluminium foil before light exposure to reduce the influence of heat generated by the light within the cabinet. These measurements were taken at 25 °C. The light intensity of this UV irradiator was confirmed using an UVX radiometer apparatus (UVP Inc., Upland, CA, U.S.A.).

UV absorbance and in vitro sun protection factor determination

UV absorbance and in vitro sun protection factor (SPF) were deter-mined by the Ultraviolet Transmittance Analyzer, Labsphere UV-2000S (Labsphere Inc., North Sutton, NH, U.S.A.). Sunscreen sam-ples were tested using PMMA Helioplates (Helioscience, Marseille, France) as substrates. For UV absorbance, the wavelength was set to scan from 290 to 400 nm and the scanning spectral bandwidth was 2 nm with a scanning speed of 200 nm min^{-1}. The values of the in vitro SPF before and after UVR for each sample were derived from the mean of the UV transmission data at each wavelength with eqn. 1.

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} EA(\lambda).SS(\lambda)}{\sum_{290}^{400} EA(\lambda).SS(\lambda).T(\lambda)} \qquad (1)$$

where SS (k) is the standard sun spectrum at wavelength k; EA (k) is the erythemal action spectrum at wavelength k; T is the mea-sured transmission [30].
Measurements were realized in triplicate, and the average was mentioned.

Water resistance experiment

The water resistance (WR) experiments were realized according to the immersion protocol previously described in the literature [31]. The PMMA plates were placed vertically against the glass wall in the horizontal centre of a water bath. Samples were then immersed in a temperature-controlled water bath (25 °C) with a constant mixing using a paddle-type impeller. During the setup of the proto-col, the speed of 250 r.p.m. was chosen for an optimum lamellar

flow of the water. The plates were immersed for, respectively, 20 and 40 min. The water was changed after each treatment. After immersion, the samples were taken out of the water. Any excess of water was removed and the plates were stored at 37 °C for 15 min. After reaching the room temperature, UV transmission measure-ments were taken. Measurements were realized in triplicate, and the average was mentioned.
The percentage of WR was calculated as (eqn. 2):

$$\%WR t_n = \frac{SPF t_n - 1}{SPF t_0 - 1} \times 100 \qquad (2)$$

where SPFtn is the SPF after n minutes of immersion, and SPFt0 is the initial SPF.

Synthesis of 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate

Apparatus

Microwave irradiation was carried out under mechanical stirring using a monomode reactor SynthewaveTM S 402 (temperature control and monitoring by IR detection which was previously cali-brated in each case with an optical fibre and optimal emitted power 300 W) from Prolabo (Fontenay-Sous Bois, France). IR spectra were recorded on a Perkin–Elmer 398 spectrophotometer (Spec-trum One, Beaconsfield, U.K.). ^{1}H-NMR spectra were recorded on a Varian-Gemini 200 instrument (Palo Alto, CA, U.S.A.; 200 MHz) with Tetramethylsilane (TMS) as an internal standard; chemical shifts are reported as d (ppm) relative to TMS. GC–MS spectra were recorded on an Agilent GC 6890-MS597 instrument (Agilent Tech-nologies, Palo Alto, CA, U.S.A.; column: HP5 5% diphenylmethylsiloxane; carrier He).
Elemental analyses for C and H were performed on CE Instruments – EA 1110 CHNS-O (Thermo-Fisher, Waltham, MA, U.S.A.).

Chemicals

Diethyl ether was supplied by Merck (Darmstadt, Germany); Florisil (100–200 mesh), p-(dimethylamino)benzoic acid, aliquat 336 (methyltrinoctyl ammonium chloride), KOH, K_2CO_3, 2-ethylhexyl bromide were supplied by Sigma-Aldrich (Milan, Italy).

Microwave procedure

In a 40 mL Pyrex tube, the p-dimethylamino benzoic acid (10 mmol) was mixed together with anhydrous K_2CO_3 (10 mmol), aliquat 336 (1.5 mmol) and the 2-ethylhexyl bromide (12 mmol). The reaction mixture was introduced into the MW reactor and irradiated under mechanical stirring for 10 min at 160 °C as final temperature set point. After cooling to room temperature, the organic product was recovered by elution with diethyl ether (20 mL) and subsequent fil-tration on Florisil (100–200 mesh). The solution was evaporated under reduced pressure, and the crude product was purified by bulb-to-bulb distillation in vacuum. Yield: 90 %.
Microanalyses for C and H of all the synthesized compounds were within 0.3 % of the theoretical values. The IR and ^{1}H-NMR spectral data were in agreement with the proposed structures, and the GC–MS data confirmed compound purity.

Results

Preparation and characterization of organogels

MGC of HSA with different organic liquids

The first step in the preparation of the aqueous dispersions was based on gelation of various organic liquids by HSA. In Table I is reported the MGC of HSA with various organic liquids.

According to the literature, HSA molecules self-assemble in some organic liquids via intermolecular hydrogen bonds between hydroxyl and carboxyl functional groups [2, 9]. At nano-metric scale, this self-assembly leads to fibrils which themselves assemble at large scale into an interconnected scaffold of fibres [32, 33].

Table I. MGC of HSA with vegetable oils and other organic liquids.

Vegetable oils	MGC*	Organic liquids	MGC*
Almond	1.4	Vaseline oil	0.6
Linseed	1.1	Propylene glycol	–
Olive	0.9	EHMAB	1.75
Jojoba	0.8		
Avocado	1		
Pumpkin seed	–		
Soybean	1.25		
Karanja	2.1		
Tanmanu	1		
Castor	–		

EHMAB, 2-ethylhexyl-*p*-dimethylaminobenzoate; MGC, minimum gelation concentration.
*MGC of HSA (wt%).

Tgel and Tmelt determination of organogels based on almond oil and HSA

Consequently, the organogel physicochemical study was followed by gaining an understanding of the gelation and melting processes, which are the basis of gelled nanoparticle preparation. The most accurate method to determine the sol-gel (Tgel) or gel-sol (Tmelt) temperature is based on rheological measurements [34–36] (Fig 2).

For a constant concentration of organogelator, the variation of the dynamic viscosity with the temperature showed an abrupt variation corresponding to the Tmelt or Tgel phase transition temperatures. The gel-sol and sol-gel phasetransition measurements *vs*. organogelator concentration are showed in Fig. 2 and corresponded to the phase diagram of the almond oil/HSA system.

Preparation and characterization of gelled nanoparticle dispersions

Nanoparticle preparation concept

Aqueous dispersions were prepared in two successive steps. First, the melted organogel (T>Tgel) was emulsified in water by sonication (ultrasound probe) or mechanical homogenization (Ultraturrax) in the presence of emulsifying, thickening and/or stabilizing agent (PVA 80, SH, AGS).

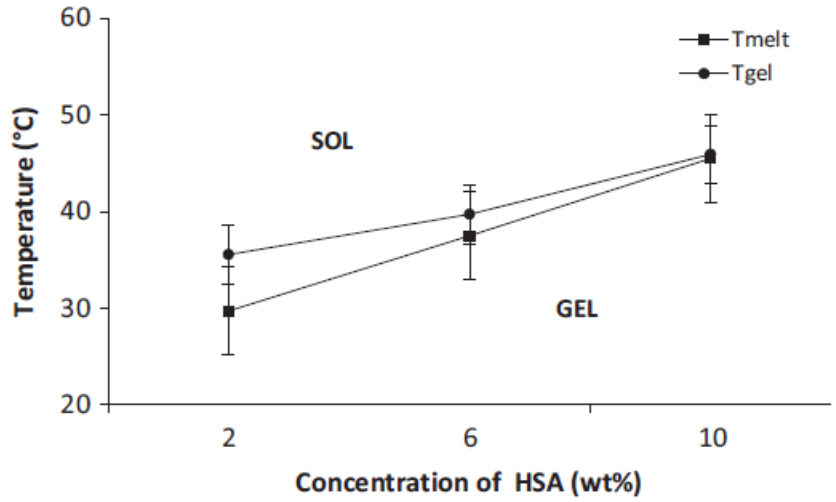


Figure 2. Gel-sol (Tmelt) and sol-gel (Tgel) phase transition of the organogel (almond oil/HSA) determined by rheology. Data are mean SD (n = 3).

Then, after emulsification, the emulsion was cooled at room temperature (T<Tgel) and gelation transformed the oil droplets into gelled nanoparticles, dispersed in water [3, 34, 37, 38].
Another great advantage of this process is that the emulsifying agent (PVA 80) can easily functionalize the particles by simple adsorption on their surface (Fig. 3). This property could be advantageous for the preparation of gelled particles by a judicious choice of the emulsifying or stabilizing agent.

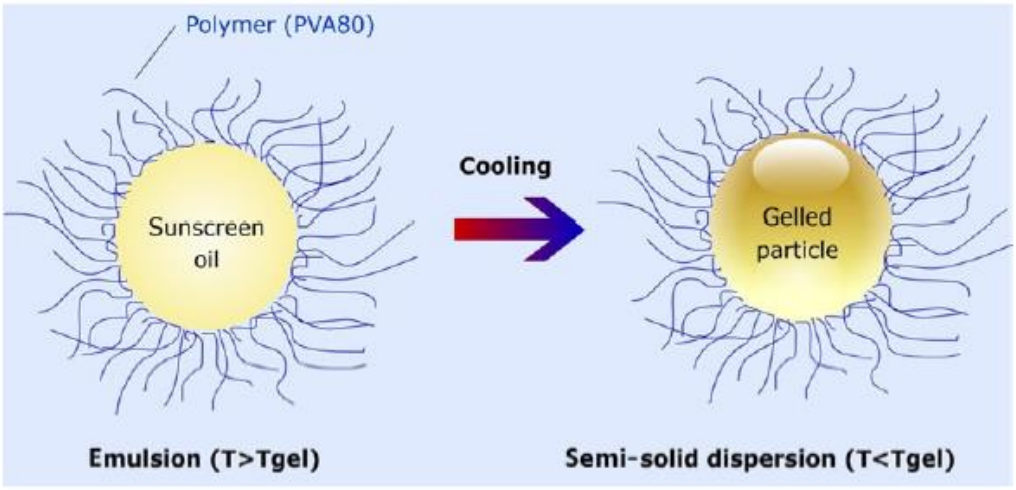


Figure 3. Preparation concept of the gelled nanoparticle as an aqueous dispersion.

Preparation of dispersions and influence of ingredients

Organogel nanoparticles were prepared by varying the proportions of ingredients and using both homogenization methods (Ultraturrax and ultrasound probe) to study their physicochemical properties and the stability of their aqueous dispersions. This study was carried out with regard to determine the most suitable conditions to obtain physically stable dispersions, able to entrap EHMAB as an active molecule. The dispersion stability tests were followed by visual observation of the creaming at 25 °C after 24-h period of ageing (Fig. 4), and the nanoparticle mean size, PI and zeta-poten-tial were only measured for systems having shown a great stability during this period. In this preliminary work, we limited the number of experiments by selecting the more stable dispersions while using a minimal ingredient quantity.

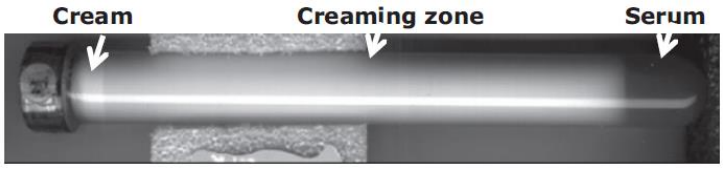


Figure 4. Macroscopic picture of dispersion showing a destabilization process by creaming.

Organogel nanoparticles were prepared with and without HSA, introducing progressively the AGS as stabilizing agent (2 wt %). The PVA 80 proportions were fixed at 1.6 wt % of the total formulation weight and those of HSA at its MGC (according to the used organic liquid). A thickening and emulsifying agent, such as SH, were also added at 0.4 wt % and the oil phase fixed at 20 wt %. The ingredient proportions were selected at this concentration according to initial emulsification tests leading to homogeneous compatible systems and referring to the formulation study previously described in the literature [3].

In Table II are summarized some formulations of this preliminary study using Ultraturrax homogenization method. For all analysed samples, results showed no stable formulation were obtained. The homogenization of the system using Ultraturrax led to dispersion phase separation by creaming, resulting consequently to the system destabilization. To improve their physical stability, dispersions were obtained using ultrasound probe as homogenization method. According to the results reported to the Table III, only F8 system showed a physcical stability after 24-h period of ageing.

Table II. Preliminary formulation tests using Ultraturrax as homogenization technique. The aqueous phase was composed by 0.4 wt % of SH and 1.6 wt % of PVA 80.

	Formula				
Ingredient	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**
Oil phase (wt%)					
Vaseline oil	–	–	19.40	–	–
Almond oil	20.00	18.60	–	16.60	16.60
HSA	–	1.40	0.60	1.40	1.40
AGS	–	–	–	2.00	2.00

AGS, acetylated glycol stearate; HSA, 12-hydroxystearic acid; SH, sodium hyaluronate.

Table III. Preliminary formulation tests using Ultraturrax and ultrasound probe as homogenization techniques. The aqueous phase was composed by 0.4 wt % of SH and 1.6 wt % of PVA 80.

	Formula				
Ingredient	F6*	F7*	F8†	F9†	F10†
Oil phase (wt%)					
Vaseline oil	–	–	–	17.40	18.00
Almond oil	16.60	18.00	16.60	–	–
HSA	1.40	–	1.40	0.60	–
AGS	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00

AGS, acetylated glycol stearate; HSA, 12-hydroxystearic acid; SH, sodium hyaluronate.
Homogenization method: *Ultaturrax®; †Ultrasound probe.

The formulation tests showed also that there was no influence of the AGS on the system stability, and consequently, we decided to avoid its use. According to these preliminary results, F8 and its homologue (same composition but without AGS) showed similar macroscopic aspect and very close granulometric data (stable systems by visual observation, ~310 nm of mean size, 0.28 of size distribution, 45 mV of zeta-potential). The AGS was employed to improve the stability of the dispersed particles in water. Used as an oil additive, the lipophilic chains of the surfactant molecules are incorporated into the particle core and their polar heads sur-rounded the particle surface. This kind of lipophilic surfactants plays an important role in the stabilization of water-in-oil emulsions, but in the case of gelled nanoparticle dispersions, the PVA 80 is essentially responsible for the particle stabilization phenom-ena. The acetate part of the amphiphilic polymer is anchored at the particle surface enhancing the system stability by maintaining a high stearic repulsion between particles (Fig. 5).

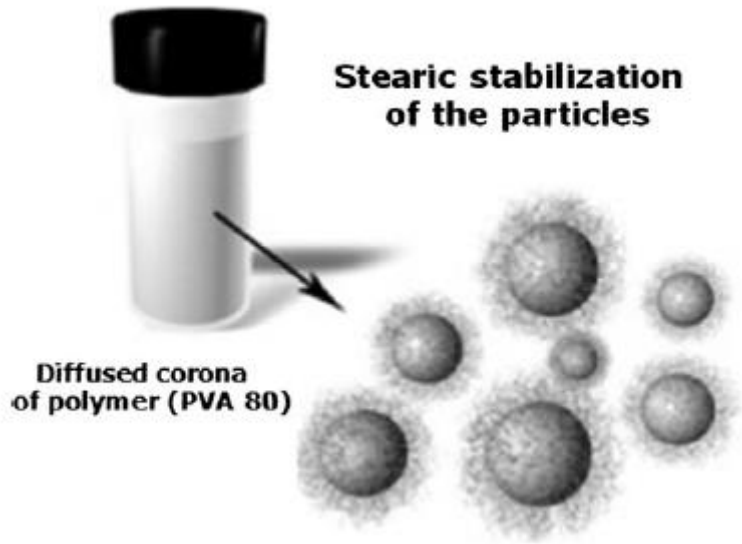


Figure 5. Schematic representation of the gelled particles stabilized with PVA 80.

According to the results, for the rest of the study, the immobili-zation of EHMAB was envisaged, using F8 but without AGS, as basic formulation. The composition of dispersions and corresponding emulsions contained the sunscreen molecule is reported in the Table IV.

Table IV. Formulation tests of dispersed systems contained EHMAB, as hydrophobic model molecule. The aqueous phase was composed by 0.4 wt % of SH and 1.6 wt % of PVA 80.

	Formula			
Ingredient	**F11***	**F12***	**F13†**	**F14†**
Oil phase (wt%)				
Vaseline oil	–	–	–	–
Almond oil	15.40	16.80	16.80	15.40
HSA	1.40	–	–	1.40
EHMAB	3.20	3.20	3.20	3.20

EHMAB, 2-ethylhexyl-*p*-dimethylaminobenzoate; SH, sodium hyaluronate; HSA, 12-hydroxystearic acid.
Homogenization method: *Ultaturrax®; †Ultrasound probe.

Rheological measurements

The flow curves (dynamic viscosity value evolution *vs*. shear rate) of F8, F13 and F14 formulations are shown in Fig. 6.

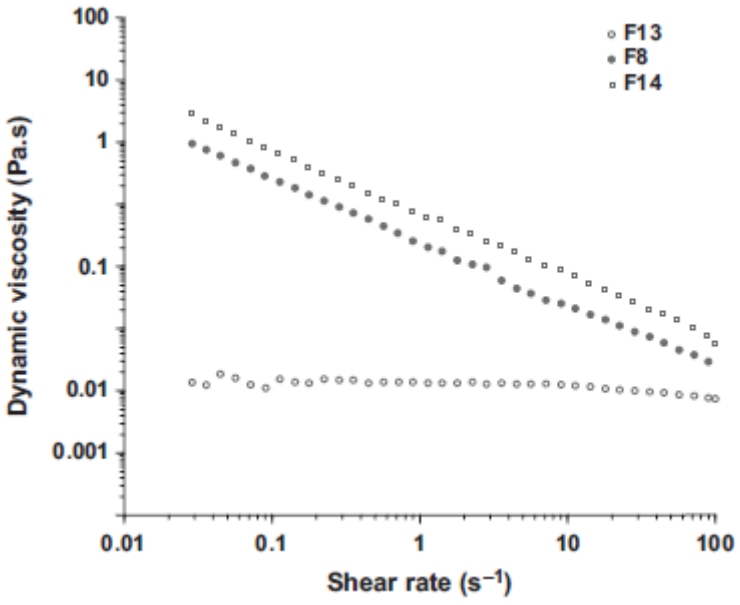


Figure 6. Formulation flow curves measured by rheology at 25 °C. Dynamyc viscosity (Pa.s) *versus* shear rate (s^{-1}).

Particle mean size, PI and zeta-potential measurements

The particle mean hydrodynamic diameters, PI and zeta-potential value evolution with the time of F8, F13 and F14 formulations are reported on the Fig. 7.
As shown in the Fig. 7(a), nanoparticle mean size varied between 280 and 590 nm. The dispersion F14, containing HSA and EHMAB, showed a more constant size evolution (440–460 nm) during 30 days of ageing. Moreover, there is an increase in the PI value, from 0.18 at the beginning to 0.48 at the end of the follow-up (Fig. 7b). In a future experiment, the HSA weight percentage would be optimize to improve the monodispersity of the nanoparticles.4
Concerning the zeta-potential evolution, formulations showed values above 30 mV (Fig. 7c).

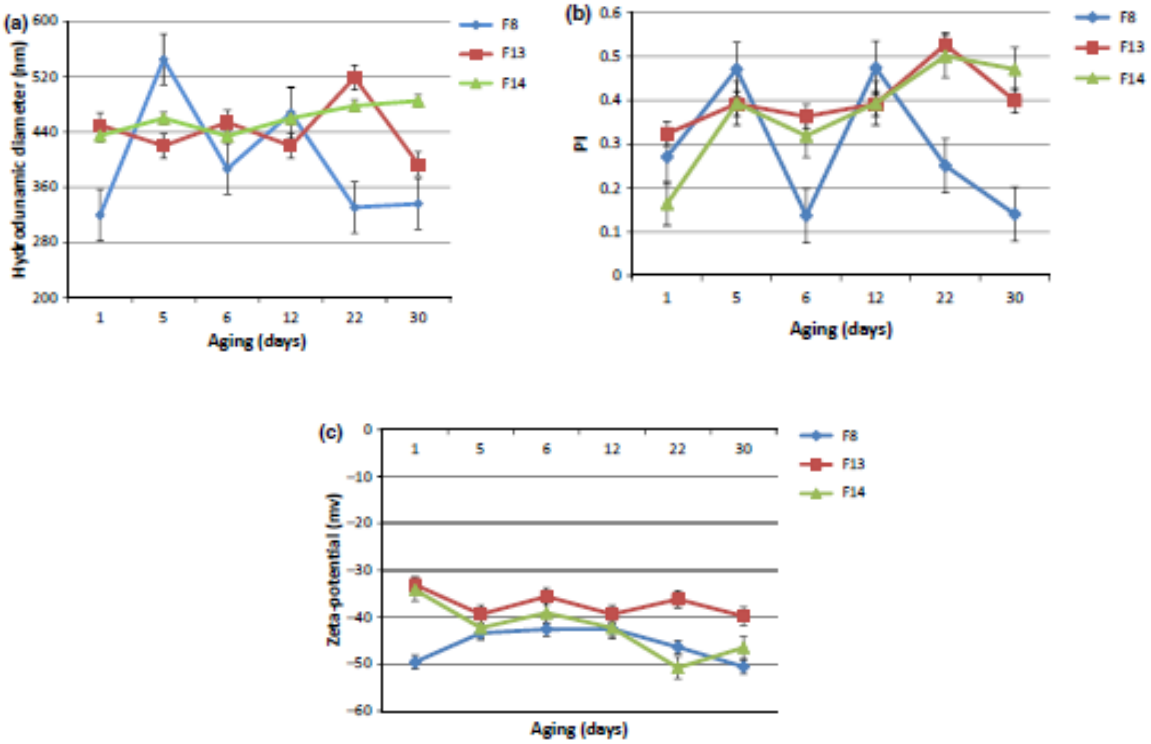


Figure 7. Mean hydrodynamic diameter (a) polydispersity index (PI), (b) zeta-potential and (c) value evolution during the time measured by dynamic light scaterring (DLS) at 25 °C.

The TEM and SEM observation of F14 showed spherical particles with a mean diameter of 450 nm in accordance with the DLS measurements (Fig. 8).

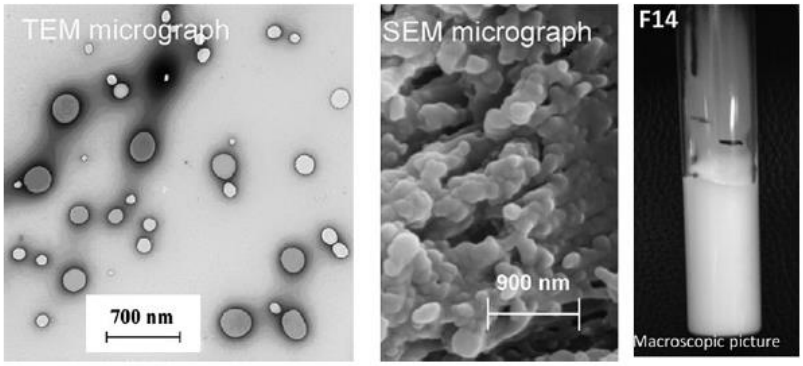


Figure 8. Transmission electron microscopy (TEM), SEM micrographs and macroscopic picture of suncreen gelled nanoparticle dispersion (F14) formulated with 15.4 wt % of almond oil, 1.4 wt % of HSA and 3.2 wt % of EHMAB, stabilized, respectively, with 0.4 wt % of HA and 1.6 wt % of PVA 80.

Dispersion stability assay

The stability of colloidal dispersions has great importance for many applications. In general, suspensions and emulsions are unstable systems. Particle migration (sedimentation or creaming) combined with particle aggregation leads to partial or total separation of the dispersion [43, 44].

The active control of these destructive processes and the monitoring of the stability of the dispersions are essential for their formulation.

Consequently, we compared the stability and the ageing of dis-persion F14, containing 1.4 wt % of HSA and 3.6 wt % of EHMAB, over a 30-day period according to the temperature (room tempera-ture and 50°C). Figure 9 presents the variation of transmission and retrodiffusion serum peak area (water phase) formed during the creaming process *vs.* time. Because of the dispersion milky aspect, there is no transmission phenomenon, and consequently, the study was focused only on the system retrodiffusion profile.

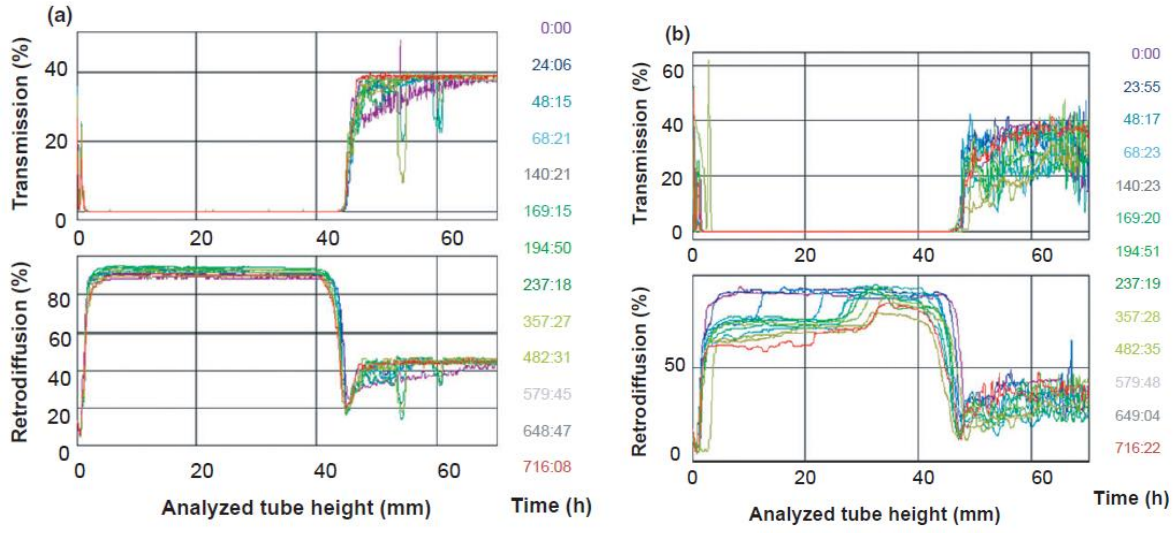


Figure 9. Transmission and retrodiffusion of dispersion F14 measured by Turbiscan during the time (30 days): at room temperature (a) and at 50°C (b).

In vitro SPF variations of sunscreen formulations under UV irradiation

The SPF values of formulation F13 and F14 before and after irradiation are shown in Fig. 10.

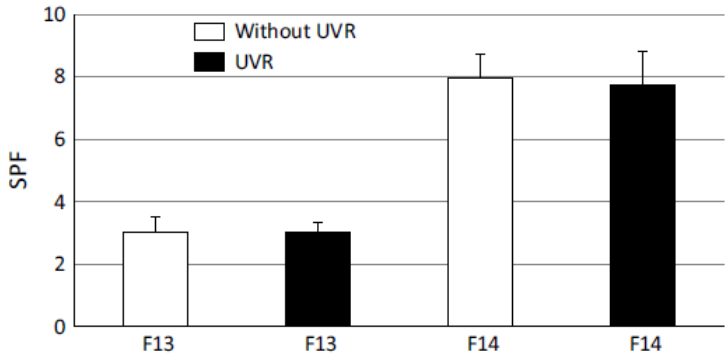


Figure 10. Sun protection factor value variations of analysed formulations. Data are means ± SD (n = 3).

The effect of the gelation phenomenon on EHMAB absorption is shown in the Fig. 11.

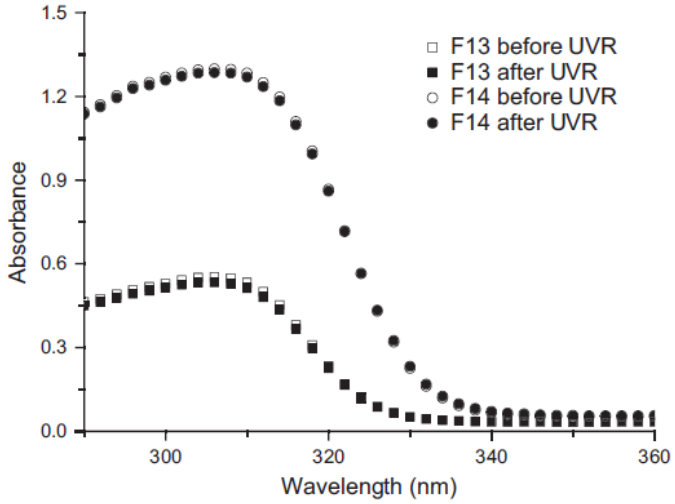


Figure 11. UV absorbance variations of formulations F13 and F14.

WR of sunscreen formulations

The Fig. 12 reports the results obtaining during the immersion tests. As describe in the literature (29), an analysed product is defined as WR or non-WR according to the following criteria:

- WR products: mean value (WR%) ≥ 50 % and
- Non-WR products: mean value (WR%) < 50 %.

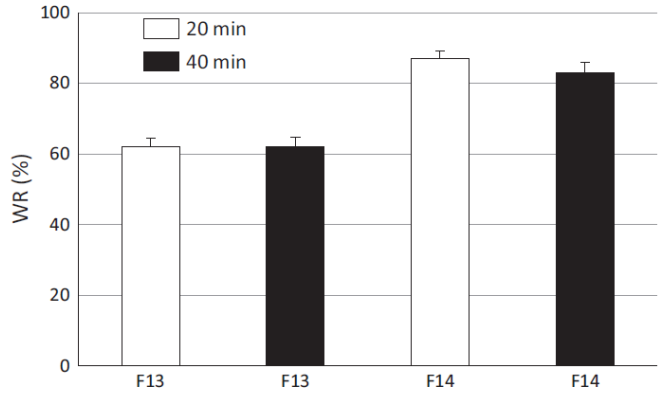


Figure 12. Water resistance (WR) % of F13 and F14 according to the time of immersion (20 and 40 min).

Conclusion

We have presented a family of colloidal nanoparticles of gelled oil. Stable dispersions of gelled nanoparticles in water were prepared by taking advantage of the sol-gel phase transition of an organogel based on a low-molecular-mass organic gelator. The process was a hot emulsification by sonication (T > Tgel) in presence of a stabiliz-ing agent (surfactant or polymer) and cooling at room temperature leading to a stable dispersion in water. The sunscreen molecule (EHMAB) was immobilized into the gelled particles as a hydrophobic model molecule.

According to the HSA gelation test results, EHMAB was mixed with organic liquid (almond or vaseline oil) to favour the gelation phenomenon and thus lower the MGC of HSA. The Tgel and Tmelt determination by rheology permeated to predict the gel phase tran-sition according to the gelator concentration.

Concerning the gelled particles, stable dispersions were obtained only by ultrasound emulsification method. An investigation of the influence of different dispersion ingredients (oil, gelator and stabilizer) showed the importance of the HSA and the stabilizing agent for the size, PI and zeta-potential values of nanoparticles and the stability of their dispersions. Thanks to the preliminary formu-lation tests, stable EHMAB nanoparticles, with mean size of 450 nm and zeta-potential value above 30 mV, were obtained.
A comparative ageing study of the nanoparticle dispersion showed a greatly enhanced stability after gelation. Finally, the gelation process is thus a functional technique to improve both the photoprotective ability and photostability of UVB filter and to reduce the particle release upon immersion.

All these results demonstrate the interest of these gelled nanoparticles and their aqueous dispersion for the preparation of new formulations for cosmetic applications and dermo-cosmetic applications.

In future experiments, the EHMAB wtb % will be optimized and the incorporation of a UVA blocker envisaged to obtain gelled particle dispersions with optimal UV protection ability. Complementary studies will be also realized with regard to evaluate their safety and skin compatibility.

Acknowledgements

This study was supported by the Erasmus exchange programme. We would like to thank to our industrial partners for their technical assistance and supplying some materials.

References

1. Binglian, B., Jue, W., Jian, Z., Haitao, W. and Min, L. Morphology tunable organogels based on dihydrazide derivatives. J. Mol. Liq. 173, 108–112 (2012).

2. Weiss, R.G. and Terech, P. Molecular Gels. Springer, Dordrecht, the Netherlands (2006).

3. Kirilov, P., Lukyanova, L., Franceschi-Messant, S., Perier, V., Perez, E. and Rico-Lattes, I. A new type of colloidal dispersions based on nanoarticles of gelled oil. Colloids Surf. A Phys-icochem. Eng. Asp. 328, 1–7 (2008).

4. Terech, P. and Weiss, R.G. Low molecular mass gelators of organic liquids and the properties of their gels. Chem. Rev. 97, 3133–3159 (1997).

5. Clark, C. How to choose a suitable emolli-ent. Pharm. J. 273, 351–353 (2004).

6. Dubief, C. and Nordello-Rataj, V. Hygiene et beaute de la chevelure. Actual. Chim. 274, 4–9 (2004).

7. Gee, G. Cosmetic product based polymeric gel structures. WO patent 4 122 029 A1 (1978).

8. Keil, K. Wholly aromatic polyamide. WO patent 4 265 878 A1 (1981).

9. Terech, P. and Friol, S. Rheometry of an androstanol steroid paramagnetic organogel. Methodology for a comparison with a fatty acid organogel. Tetrahedron 63, 7366–7374 (2007).

10. Terech, P., Allegraud, J. and Garner, C. Thermoreversible gelation of organic liquids by arylcyclohexanol derivatives: a structural study. Langmuir 14, 3991–3998 (1998).

11. Lu, L. and Weiss, R.G. Cholestanyl substi-tuted quaternary ammonium salts as gela-tors of organic liquids. Langmuir 11, 3630– 3632 (1995).

12. Mukkamala, R. and Weiss, R.G. Physical gelation of organic fluids by anthraquinone steroid-based molecules. Structural features influencing the properties of gels. Langmuir 12, 1474–1482 (1996).

13. Tachbana, T., Mori, T. and Hori, K. Chiral mesophases of 12-hydroxyoctadecanoic acid in jelly and in the solid state. Bull. Chem. Soc. Jpn. 54, 73–80 (1981).

14. Yamasaki, S. and Tsutsumi, H. The depen-dence of the polarity of solvents on 1,3:2,4-di-O-benzylidene-d-sorbitol gel. Bull. Chem. Soc. Jpn. 68, 123–127 (1995).

15. Lin, Y. and Weiss, R.G. A novel gelator of organic liquids and the properties of its gels. Macromolecules 20, 414–417 (1987).

16. Lu, L. and Weiss, R.G. New lyotropic phases (thermally reversible organogels) of simple tertiary amines and related tertiary and qua-ternary ammonium halide salts. Chem. Com-mun. 20, 2029–2030 (1996).

17. Tamaru, S. and Shinkai, S. Rational design of a sugar-assembled porphyrin gelator that is forced to assemble into a one dimensional aggregate. Org. Lett. 3, 3631–3634 (2001).

18. Stan, R., Ciuculecu, D., Franceschi-Messant, S., Perez, E., Rico-Lattes, I. and Lattes, A. Newsugar based gelators for organic liquids. Rom. J. Chem. 50, 695–698 (2005).

19. Abdallah, D.J. and Weiss, R.G. n-Alkanes gel n-alkanes (and many other organic liquids). Langmuir 16, 352–355 (2000).

20. Abdallah, D.J., Sirchio, S.A. and Weiss, R.G. Hexatriacontane organogels. The first deter-mination of the conformation and molecular packing of a low-molecular-mass organoge-lator in its gelled state. Langmuir 16, 7558– 7561 (2000).

21. Maitra, U., Vijaykumar, P., Chandra, N., D' Souza, L.J., Prasana, M.D. and Raju, A.R. First donor–acceptor interaction promoted gelation of organic fluids. Chem. Commun. 7, 595–596 (1999).

22. Babu, P., Sangeetha, N.M., Vijaykumar, P., Maitra, U., Rissanen, K. and Raju, A.R. Py-renederived novel one- and two-component organogelators. Chem. Eur. J. 9, 1922–1932 (2003).

23. Terech, P., Gebel, G. and Ramasseul, R. Molecular rods in a zinc(II) porphyrin/cyclo-hexane physical gel: neutron and X-ray scattering characterizations. Langmuir 12, 4321–4323 (1996).

24. Terech, P., Scherer, C., Deme, B. and Rama-sseul, R. Aggregation of a Zn(II) complex of a long-chain triester of meso-tetrakis[p-car-boxy]phenyl porphyrin in hydrocarbons: structure of tetrameric rodlike assemblies. Langmuir 19, 10641–10647 (2003).

25. Villa, C., Genta, M.T. and Barbagna, A. Microwave activation and solvent-free phase transfer catalysis for the synthesis of the new benzylidene cineole derivatives as potential UV sunscreens. Green Chem. 3, 196–200 (2001).

26. Genta, M.T., Villa, C., Mariani, E. et al. Microwave assisted preparation of cyclic ke-tals from a cineole ketone as potential cos-metics ingredients: solvents-free synthesis odor evaluation, in vitro cytotoxicity and antimicrobial assays. Int. J. Pharm. 231, 11–20 (2002).

27. Genta, M.T., Villa, C., Mariani, E., Longo-bardi, M. and Loupy, A. Green chemistry procedure for the synthesis of cyclic ketals from 2-adamantanone as potential cosmetic fatty odourants. Int. J. Cosmet. Sci. 24, 257– 262 (2002).

28. Villa, C., Baldassari, S., Gambaro, R., Mari-ani, E. and Loupy, A. Eco-friendly methodol-ogies for the synthesis of some aromatic esters, well-known cosmetic ingredients. Int. J. Cosmet. Sci. 27, 11–16 (2005).

29. Geria, H. Formulation of stick antiperspi-rants and deodorants. Cosmet. Toiletries 99, 55–60 (1984).

30. Hojerova, J., Medovcikova, A. and Mikula, M. Photoprotective efficacy and photostabil-ity of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. Int. J. Pharm. 408, 27–38 (2011).

31. Pissavini, M., Alard, V., Heinrich, U. et al. In vitro assessment of water resistance of sun care products: a reproducible and optimized in vitro test method. Int. J. Cosmet. Sci. 29, 451–460 (2007).

32. Terech, P., Rodriguez, V., Barners, J.D. and McKenna, G.B. Organogels and aerogels of racemic and chiral 12-hydroxyoctadecanoic acid. Langmuir 10, 3406–3418 (1994).

33. Terech, P., Pasquier, D., Bordas, V. and Ros-sat, C. Rheological properties and structural correlations in molecular organogels. Lang-muir 16, 4485–4495 (2000).

34. Kirilov, P., Gauffre, F., Franceschi-Messant, S., Perez, E. and Rico-Lattes, I. Rheological characterization of new type of colloidal dis-persion based on nanoparticles of gelled oil. J. Phys. Chem. B 113, 11101–11108 (2009).

35. Terech, P. Fibers and wires in organogels from low-mass compounds: typical struc-tural and rheological properties. Ber. Buseng-es. Phys. Chem. 102, 1630–1643 (1998).

36. Admal, K., Dyre, J., Hvidt, S. and Kramer, O. Towards a phenomenological definition of the term “gel”. Polym. Gels Netw. 1, 5–17 (1993).

37. Kirilov, P., Franceschi-Messant, S., Perez, E., Rico-Lattes, I. and Bordat, P. Novel organo-gel particles, method for the preparation thereof and cosmetic uses thereof. WO pat-ent 037697 (2008).

38. Boudier, A., Kirilov, P., Franceschi-Messant, S. et al. Evaluation of biocompatible stabi-lised gelled soyabean oil nanoparticles as new hydrophobic reservoirs. J. Microencap-sul. 27, 682–692 (2010).

39. Otsubo, Y. and Prud’homme, R.K. Effect of drop size distribution on the flow behavior of oil-in-water emulsions. Rheological Acta 33, 29–37 (1994).

40. Granick, S. Motions and relaxations of con-fined liquids. Science 256, 1374–1379 (1991).

41. Barnes, H.A. Rheology of emulsions – a review. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp. 91, 89–95 (1994).

42. Pal, R. Rheological behavior of surfactant-flocculated water-in-oil emulsions. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp. 71, 173–185 (1993).

43. Egger, H. and McGrath, K.M. Aging of oil-in-water emulsions: the role of the oil. J. Col-loid Interface Sci. 299, 890–899 (2006).

44. Sobish, T. and Lerche, D. Application of a new separation analyzer for the character-ization of dispersions stabilized with clay derivatives. Colloid Polym. Sci. 278, 369–374 (2000).

Keywords 3-Bromopyruvate · Apoptosis · Mcl-1 · Mesothelioma cell lines · In vivo

Introduction

Cancer cells consume approximately 10 times more glucose than normal cells (Warburg 1930). Cancerous tumour affinity for glucose has been confirmed by PET scan, which is currently used to detect tumours and metastases (Carretta et al. 2000). The decrease in tracer uptake (2-deoxy-glucose-FD) is often considered as a good predictor of chemotherapy effectiveness (Vander Heiden et al. 2009), while highly glycolytic tumours are generally considered as the most aggressive (proliferative and/or chemoresistant) (Lopez-Rios et al. 2007; Simonnet et al. 2003; Xu et al. 2005). Glucose transformation results in the formation of lactic acid, even in the presence of oxygen. This phenomenon, referred to as "aerobic glycolysis", was first observed by Otto Warburg in the 1920s (Warburg 1930), and the mechanisms supporting this reprogramming are currently increasingly debated (Vander Heiden et al. 2009; Cairns et al. 2011; Gruning et al. 2010; Kroemer and Pouyssegur 2008; Koppenol et al. 2011; Porporato et al. 2011). In contrast to Warburg who considered this phenomenon to be a result of defective mitochondrial respiration (Warburg 1956), nowadays, it is increasingly believed to be an adaptative phenomenon, generated either by a diminution in ATP production by oxidative phosphorylation OXPHOS(Vander Heiden et al. 2009; Cairns et al. 2011; Gruning et al. 2010; Kroemer and Pouyssegur 2008; Koppenol et al. 2011; Porporato et al. 2011),

by overexpression of uncoupling proteins limiting excessive ROS production(Samudio et al. 2009), or by imbalance favouring oncogene activation (Cairns et al. 2011). Although the energy efficiency of aerobic glycolysis is low (2 ATP instead of 30 ATP by OXPHOS) (Campbell 2000), this functional mode provides faster ATP production and becomes the main, if not the unique, ATP pathway in hypoxic tumour zones. It is noteworthy that a large share of glucose is diverted towards synthesis such as ribose 5-phosphate and glycerol, required for cell division. Cancer cells not only consume glucose in excess, but also amino acids, in particular glutamine, derived from muscle proteolysis (Deberardinis et al. 2008; Deberardinis and Cheng 2010; Eagle et al. 1956; Reitzer et al. 1979). Glutamine is the preferential mode of transport of blood nitrogen and provides amine groups for several biosynthetic processes, such as purine and pyrimidine base synthesis (Campbell 2000). From the intermediate molecules furnished by enhanced glycolysis and glutaminolysis, cancer cells will synthesize most of the macromolecules required for the duplication of their biomass and genome (proteins, nucleic acids, membrane lipids). NAD^+ is required in large quantities in the cytoplasm of cancer cells, for example to enable the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) that sustains glycolysis, and also for the Poly ADP-ribose polymerase (PARP) which participates in nucleotide synthesis. The pool of NAD^+ must be continuously regenerated in the cytoplasm by several dehydrogenases such as LDH, which transforms pyruvate into lactate. This reaction ensures the rapid consumption of pyruvate even when O_2 is available and thus, sustains enhanced glycolysis and glutaminolysis. It is noteworthy that a great share of pyruvate does not originate from glycolysis but from glutaminolysis (Deberardinis et al. 2008; Deberardinis and Cheng 2010). Indeed, a "bottleneck" is generated at the end of glycolysis, due to the low activity of pyruvate kinase in cancer cells, which is re-expressed in its embryonic form PKM2 (Christofk et al. 2008; Israël 2004; Mazurek 2003; Mazurek 2011). This mechanism induces an upstream accumulation of intermediates, which are redirected towards biosynthetic pathways such as the pentose phosphate pathway (PPP) (Lincet et al. 2011). Thus, a significant share of pyruvate derives from glutaminolysis through direct alanine transamination (alanine originating from muscular proteolysis) and from a cycle using citrate, which is fed by glutaminolysis (Icard et al. 2012). Indeed, glutamate is transformed into α-ketoglutarate (α-Keto) which enters the TCA cycle, this cycle forming citrate which moves outside mitochondria. In the cytosol, citrate is transformed by ATP-citrate lyase (ACLY) into acetyl-CoA and oxaloacetate (OAA). Acetyl-CoA feeds *de novo lipid* synthesis and acetylation of histones (Wellen et al. 2009). Concurrently, OAA is transformed into malate, which produces pyruvate (Fig. 1). It is of note that, in cancer cells, pyruvate preferentially feeds LDH, which is overexpressed, whereas pyruvate dehydrogenase (PDH) is slowed down or blocked by pyruvate dehydrogenase kinase (PDK) (Israël 2005; Kim et al. 2006; Marin-Hernandez et al. 2009; Papandreou et al. 2011). $NADPH\ H^+$ must also be continuously regenerated for nucleotide and fatty acid synthesis and for homeostasis of the redox system. It is regenerated either through PPP-producing ribose and/or by two cytosolic enzymes: malic enzyme converting malate into pyruvate, and isocitrate dehydrogenase transforming isocitrate into α-Keto (Dang et al. 2009; Yan et al. 2009). Finally, while reserves are normally used to produce nutrients, ketone bodies and glucose, these reserves are used in cancer cells for building new tumour substance.

Reprogramming of signaling pathways may control these biochemical rearrangements (Vander Heiden et al. 2009;

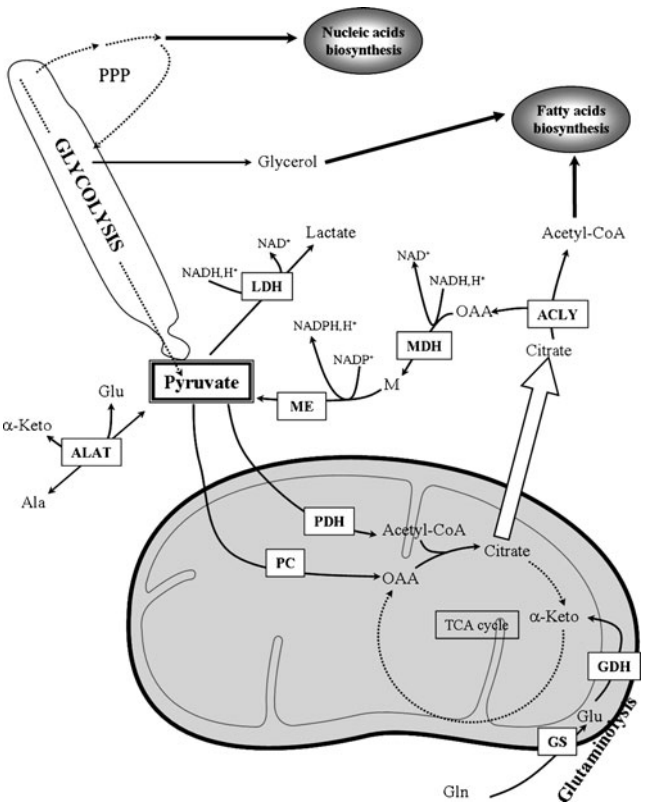


Fig. 1 A model of biochemical pathways in cancer cells. In cancer cells, a great part of pyruvate does not come from glycolysis but from glutaminolysis because there is a blockage at the end of glycolysis ("the PKM2 bottleneck"). Pyruvate feeds preferentially the lactate dehydrogenase (LDH), which is overexpressed, hence regenerating NAD^+, whereas pyruvate dehydrogenase (PDH) is slowdown or blocked by pyruvate dehydrogenase kinase (PDK). A part of pyruvate is transformed by pyruvate carboxylase (PC) into oxaloacetate (OAA). A significant part of pyruvate derives from glutaminolysis through direct Alanine transaminase (ALAT), and from a cycle using citrate, which is fed by glutaminolysis. Indeed, glutamate is transformed into α-ketoglutarate (α-keto) which enters the tricarboxylic acid (TCA) cycle, and this cycle forms citrate which goes outside mitochondria. In the cytosol, citrate is transformed by the ATP-citrate lyase (ACLY) into acetyl-CoA and OAA. Acetyl-CoA feeds the *de novo* lipid synthesis. In the other side, OAA is transformed into malate (M) by malic enzyme, which gives pyruvate

Cairns et al. 2011; Gruning et al. 2010; Kroemer and Pouyssegur 2008; Koppenol et al. 2011; Israël 2004; Olovnikov et al. 2009) through the inactivation of suppressor genes (*p53*, *p21*, *PTEN*, *PP2A*, etc.) and, in contrast, oncogene overexpression (PI3K/AKT/mTOR pathway, c-Myc, HIF-1α, …) (Kim et al. 2006; Marin-Hernandez et al. 2009). Several oncogenes (HIF-1α, c-Myc) stimulate the overexpression of membrane glucose transporters and of various glycolysis enzymes, in particular LDH (Kim et al. 2006; Dang et al. 2008). HIF-1α also induces PDK (Kim et al. 2006; Marin-Hernandez et al. 2009; Papandreou et al. 2011), which inactivates PDH.

Independently of the complex mechanisms supporting the reprogramming of cancer cell metabolism, if we block enhanced glycolysis, do we arrest cell growth or kill cells? In an attempt to answer this question, we worked within the Biology and Therapies for Locally Aggressive Cancer (Bio-TICLA) team, in the Normandy Regional Study Group on Cancer (GRECAN), on cultured cells from human cancers and on nude mice bearing human mesothelioma. We chose to work preferentially on this cancer, because our region is particularly affected due to local industries where asbestos was extensively used over long periods, and because this cancer has a very poor outcome due to inactive chemotherapy. Because of the high chemoresistance of mesothelioma, we hypothesize that any significant results obtained with regard to its treatment could also prove useful for other solid tumours. Since pyruvate (term derived from *pyros*, fire) is at the crossroads of glycolysis and glutaminolysis, we decided to test 3-BrPA, an agent likely to inhibit pyruvate-associated reactions. We report herein a synthesis of our work testing this agent in a mesothelioma cell line in vitro and in vivo studies.

Materials and methods

In vitro

We used two human cell lines on malignant mesothelioma (MSTO-211H and NCI-H28), These lines were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC). The doubling time of MSTO-211H was approximately 24 h, whereas NCI-H28 cells proliferated more slowly (Zhang et al. 2009a; Zhang et al. 2009b). We observed that NCI-H28 cells were resistant to a high dose (one injection at a dose of 20 μg per ml) of cisplatin, in contrast to MSTO-211H cells which were sensitive to this high dose, but resistant to a lower dose (5 μg per mL). At the low dose, MSTO-211H cells demonstrated only a transient slowing down of their proliferation, growth recovery being observed from the 5th day after the cisplatin injection (Zhang et al. 2009a; Zhang et al. 2009b).

In vivo

We used female Swiss mice/Nude CD1 aged from 4 to 6 weeks and weighing approximately 25 g (Charles River France). These mice developed peritoneal carcinomatosis after receiving an intraperitoneal (ip) injection of 2×10^7 MSTO-211H cells in 1 ml. This peritoneal carcinomatosis was visible from the 15th day and caused death in animals by more or less 30 days (Zhang et al. 2009b).

Chemicals

A 3-BrPA (Sigma Aldrich) solution was dissolved in 0.9% NaCl and neutralized by NaOH until pH 7.5. The cisplatin solution (CDDP, *cis*-diamino-dichlororo-platinium (II)) was obtained from MERCK (LYON, France).

Analysis of cellular DNA content by flow cytometry

a) Preparation of cells. After 2-DG treatment, detached cells were collected separately. Adherent cells were then harvested by trypsin/EDTA dissociation. Adherent and detached cells were pooled and washed in PBS before being fixed in 70% ethanol and stored at −20 °C until analysis. Before flow cytometry analysis, the cells were washed in PBS and incubated for 30 min at a temperature of 37 °C in PBS in order to allow the release of low molecular weight (m.w.) DNA, characteristic of apoptotic cells. After centrifugation at 4,000×g for 10 min, the cell pellets were resuspended and stained with propidium iodide (PI) using the DNA Prep Coulter Reagent Kit (Beckman-Coulter) at a final density of 10^6 cells/mL.
b) Instrument settings. The samples were analyzed using an EPICS XL flow cytometer (Beckman Coulter) equipped with an argon laser at 15 mW. PI-stained cells were analyzed using 488 nm excitation. A 620 nm band pass filter was placed on the red fluorescence of PI. Computerized gating was applied on the side and forward scatter to exclude very small debris and on pulse width and integral peak of red fluorescence to eliminate aggregates. All samples were analyzed at a flow rate lower than 100 events per second and with a sheath pressure of 30 psi.
c) Data analysis. EXPO 32 Acquisition Software (Beckman Coulter) was run for data acquisition.

Nuclear morphology study

After treatment, detached cells were separately collected and adherent cells were dissociated by trypsin/EDTA. Cells were then pooled and collected on a polylysine-coated glass slide by cytocentrifugation, fixed in an ethanol/chloroform/acetic

acid solution (6:3:1), and incubated for 15 min at room temperature with a 1 μg/mL DAPI (4′,6-diamidino-2-phenyl-indole) aqueous solution. Slides were then extensively washed in distilled water, mounted in Mowiol and analyzed under fluorescence microscope.

Western immunoblotting

After a 24-h exposure cells were rinsed with ice-cold PBS and lysed in a RIPA buffer (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl pH 8, 1% Triton X100, 4 mM PMSF, 2 mM Aprotinin, 5 mM EDTA, 10 mM NaF, 10 mM NaPPi, 1 mM Na_3VO_4) for 30 min on ice. Lysates were clarified by centrifugation at 10,000 rpm for 10 min at 4 °C and protein concentrations were determined using the Bradford assay (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) according to manufacturer's instructions. Equal amounts of total cellular protein (20 μg) were resolved in a Bis-Tris–HCl buffered (pH 6,4) 4–12% polyacrylamide gel (NuPAGE® Novex® 4–12% Bis-tris gel, Invitrogen, France) for 40 min at 200 V and electrophoretically transferred on a PVDF membrane (GE Healthcare) for 1 h 15 min at 30 V. The membrane was blocked for 1 h at room temperature in T-TBS (132 mM NaCl, 20 mM Tris–HCl pH 7.6, 0.05% Tween 20) supplemented with 5% non-fat dry milk. The membrane was incubated for 1 h at room temperature in T-TBS-milk with the following primary antibodies: anti-PARP (1:1000, Cell-Signaling Technology, Beverly, USA), anti-caspase-3 and anti-cleaved caspase-3 (1:1000, Cell-Signaling Technology, Beverly, USA), anti-Mcl-1 (1:750, Santa-Cruz Biotechnology, CA, USA), and anti-α-tubulin (1:4000, Sigma, Saint Louis, USA).

After three washes with T-TBS, the membrane was incubated for 1 h at room temperature in T-TBS-milk with the adequate peroxidase conjugated secondary antibody (anti-mouse or anti-rabbit IgG, GE Healthcare). After 3 washes with T-TBS and one with TBS, immunoreactivity was detected by enhanced chemiluminescence using an ECL kit (GE Healthcare).

Mitochondrial respiration

MSTO-211H and NCI-H28 cells were grown in a 75 cm^2 flask until 80–90% of confluence. Cells were detached in a 0.25% trypsin/EDTA solution, harvested by centrifugation (100*g* for 5 min), rinsed with phosphate-buffered saline (PBS) then suspended in the respiration buffer (KMES 100 mM, KH_2HPO_4 5 mM, EGTA 1 mM, EDTA 3 mM, BSA 1 mg/mL and ADP 1 mM, pH 7,4). Oxygen consumption was measured at 37 °C using the Hansatech polarograph in a final volume of 0.4 mL. Mitochondrial respiration was recorded after addition of 0.005% digitonin, 25 μM rotenone and 25 mM succinate. Reaction specificity was demonstrated using 2.5 mM KCN. Results shown are expressed as nmol of O_2/min/mL.

Statistical analysis

Survival was calculated in days according to the Kaplan-Meier method and survivals were compared using the log-rank test (logiciel SAS 9.1), with a 95% confidence interval; a *p* value less than 0.05 was considered as significant.

Results

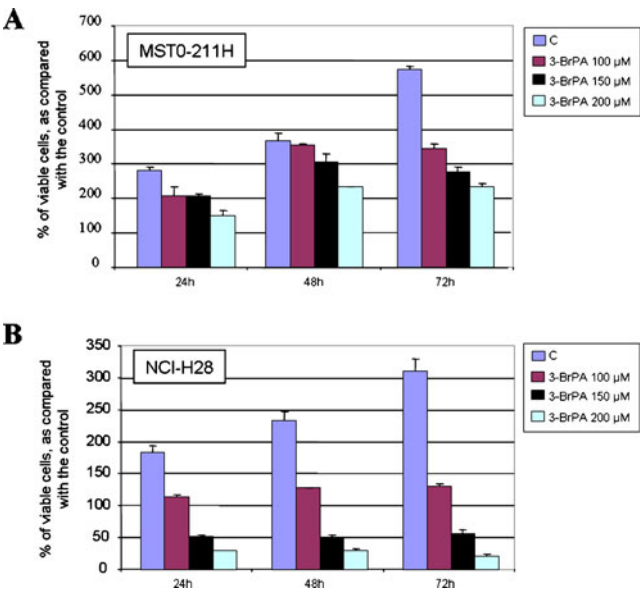


Fig. 2 Effect of 3-BrPA treatment on cell growth of mesothelioma carcinoma cell lines MSTO-211H [**a**] and NCI-H28 [**b**]. Kinetic evolution (24–72 h) of cell viability (assessed by trypan blue exclusion test) in response to exposure to Control: C 3-BrPA 100, 150, 200 μM

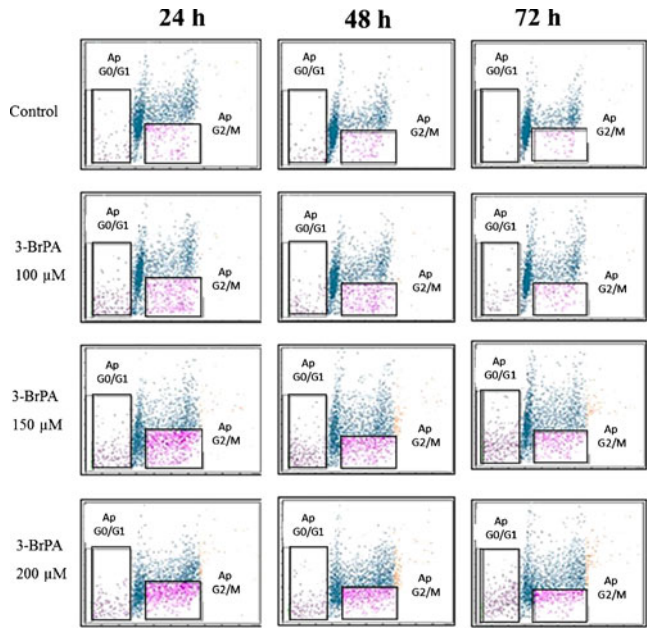


Fig. 4 Effect of 3-BrPA treatment on cell cycle repartition of mesothelioma carcinoma cell line NCI-H28. DNA flow cytometry, expressed as forward scatter (FS) in function of propidium iodide fluorescence (FL3), was determined at 24, 48 or 72 h

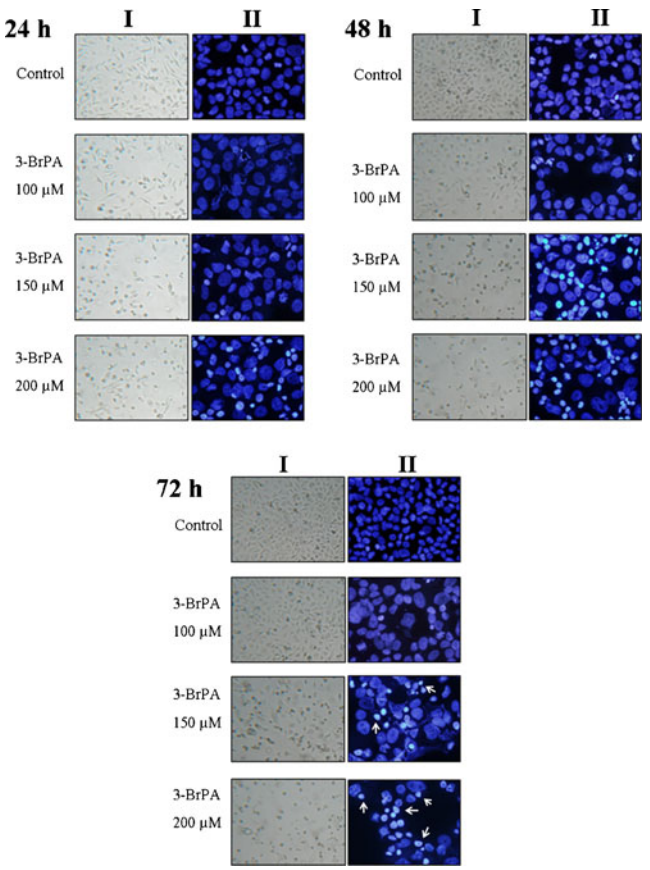


Fig. 3 Effect of 3-BrPA treatment cell morphology and on apoptosis induction on cell growth of mesothelioma carcinoma cell line NCI-H28 after 24, 48 or 72 h exposure. [I]: Morphological features of the cell layers; [II]: Nuclear morphology after DAPI staining (arrows indicate nuclear condensation and fragmentation)

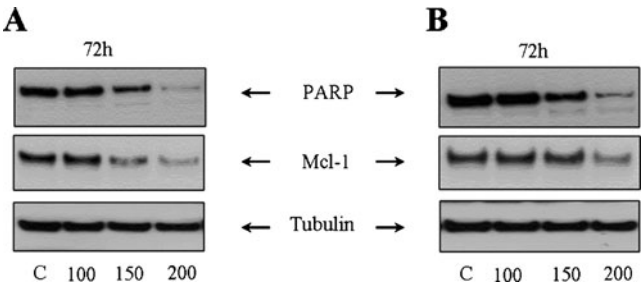


Fig. 5 Dose- and time-dependent effect of a treatment with 3-BrPA on protein expression of PARP and Mcl-1 on mesothelioma carcinoma cell lines MSTO-211H [**a**] and NCI-H28 [**b**]. Exponentially growing cell lines were treated with 100, 150 or 200 µM 3-BrPA and harvested at 72 h. The expression of PARP, Mcl-1 proteins was analyzed by western-blot using the appropriate antibodies

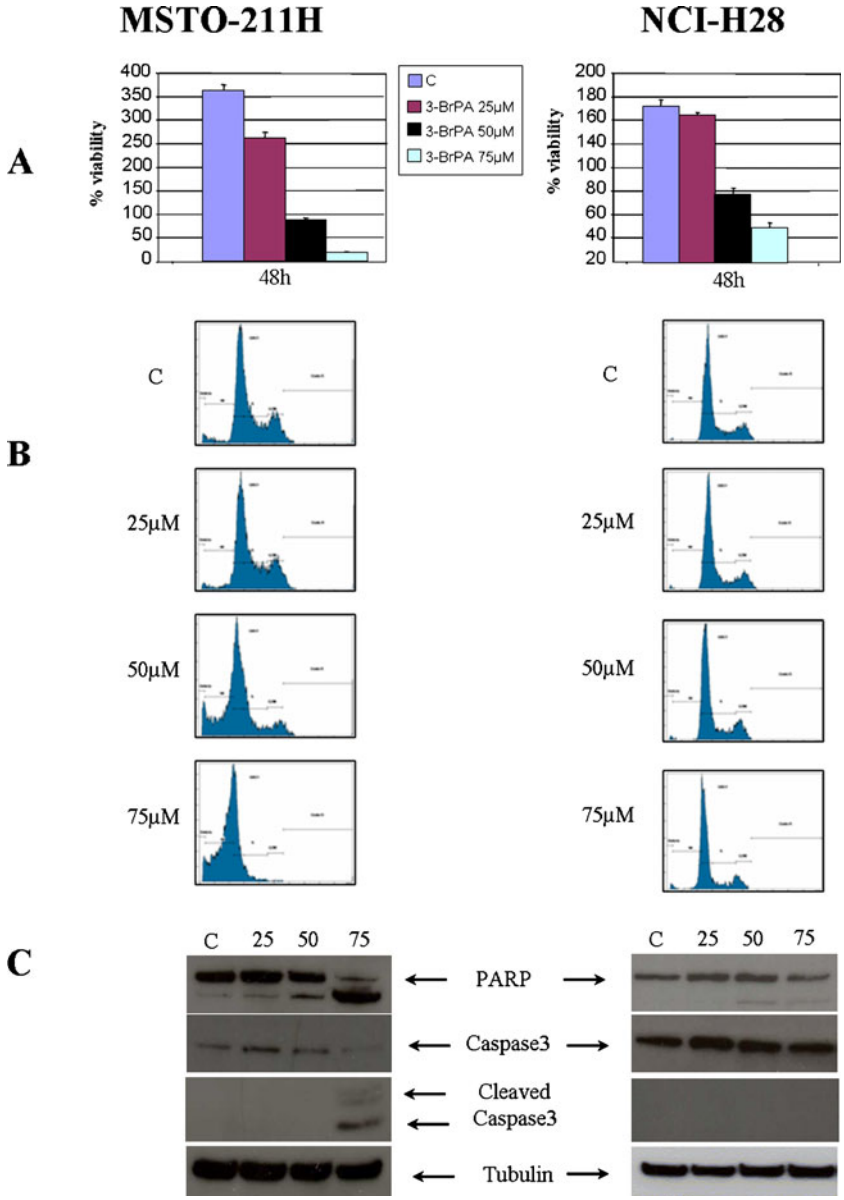


Fig. 6 Effect of 3-BrPA immediately administered to the mesothelioma carcinoma cell lines MSTO-211H and NCI-H28 after 48 h of exposure. **a** Percent of viability (assessed by trypan blue exclusion test) in response to 3-BrPA (C: 0, 25, 50, 75 µM). **b** Effect of 3-BrPA treatment (C: 0, 25, 50, 75 µM) on cell cycle repartition 48 h after exposure. **c** Detection by western blot analysis, 48 h after exposure of 3-BrPA, of the proteins PARP, caspase 3, cleaved caspase 3 and tubulin

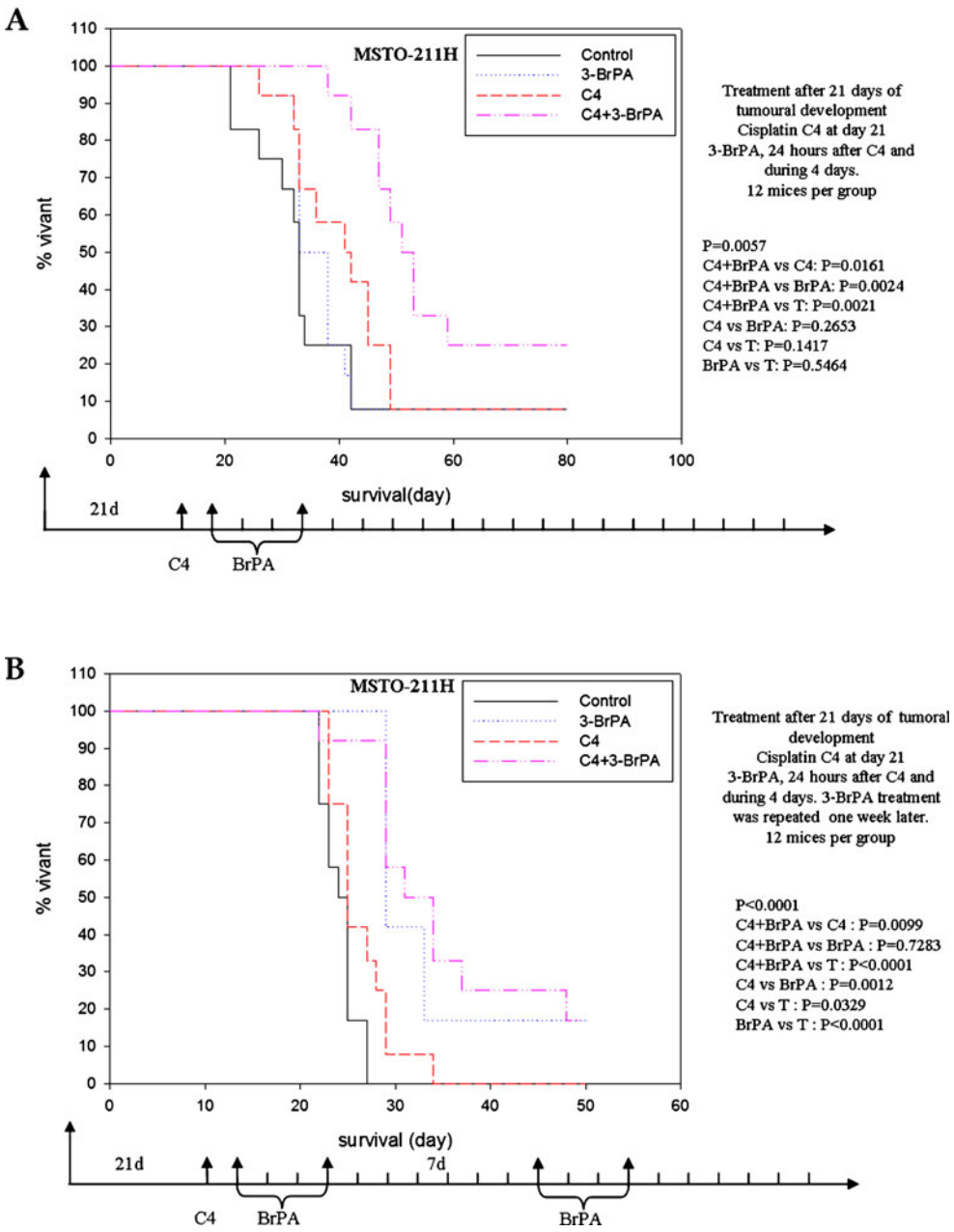
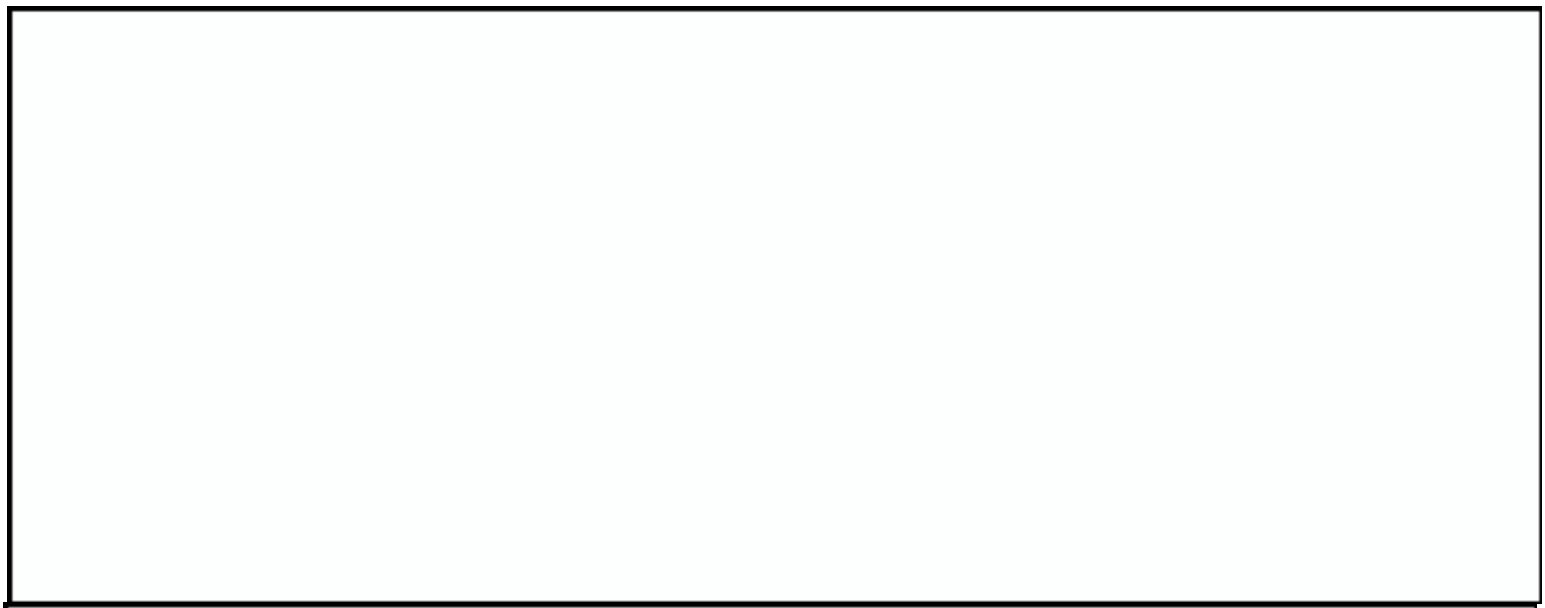
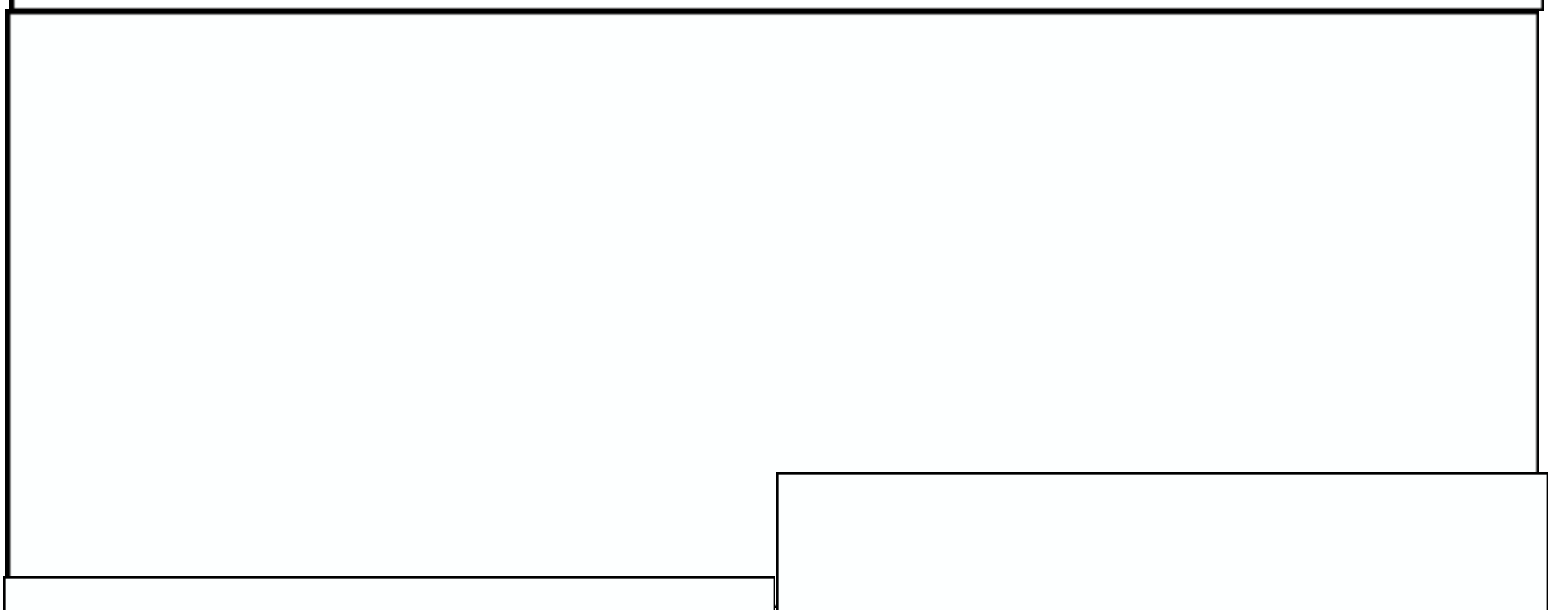
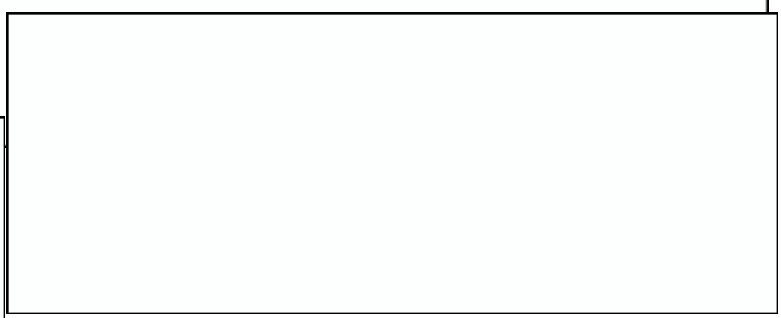
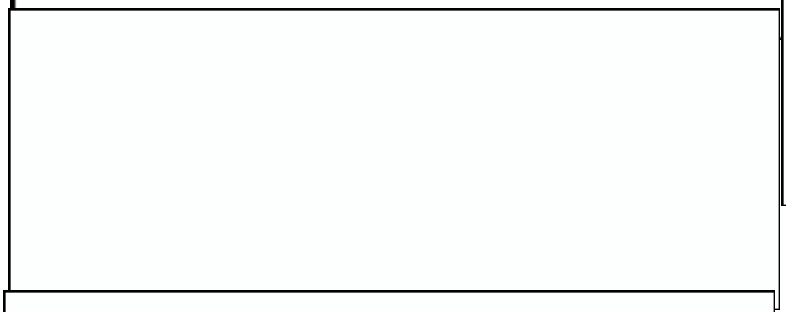


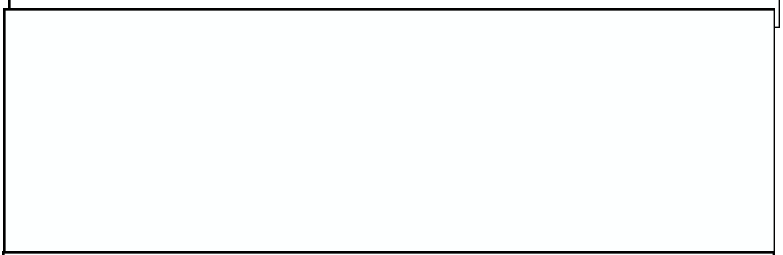
Fig. 7 Effect of 3-BrPA on survival of nude mice carrying a peritoneal carcinomatosis obtained by injection of human mesothelioma cells MSTO-211H. **a** This experiment showed the efficacy of the association of a cisplatin (C4: 4 mg/kg) injection at 21 days, followed by a series of 4 intra-peritoneal injections of 3-BrPA (2.67 mg/kg; pH 7.5). In contrast, these agents were inefficient when administrated alone. **b** This second experiment confirmed that the association of drugs was efficient, whereas cisplatin alone was inefficient in prolonging survival of mice. When a second series of 3-BrPA injections was performed, 3-BrPA alone was efficient in prolonging survival

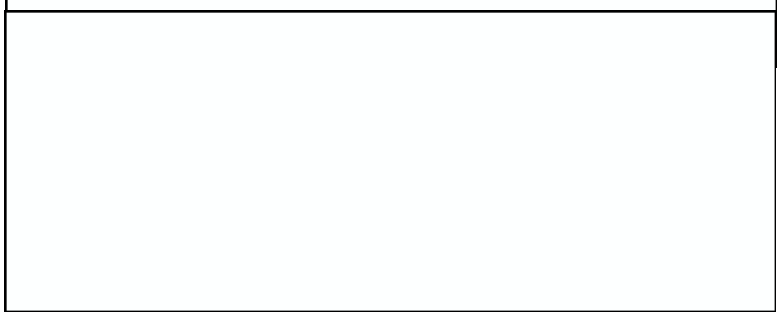












References

Baker JP, Rabin BR (1969) Effects of bromopyruvate on the control and catalytic properties of glutamate dehydrogenase. Eur J Biochem 11(1):154–159

Burz C, Berindan-Neagoe I, Balacescu O, Irimie A (2009) Apoptosis in cancer: key molecular signaling pathways and therapy targets. Acta Oncol 48(6):811–821

Cairns RA, Harris IS, Mak TW (2011) Regulation of cancer cell metabolism. Nat Rev Cancer 11(2):85–95

Campbell PN (2000) Biochemistry illustrated. Churchill Livingstone,

Carretta A, Landoni C, Melloni G, Ceresoli GL, Compierchio A, Fazio F et al (2000) 18-FDG positron emission tomography in the evaluation of malignant pleural diseases—a pilot study. Eur J Cardiothorac Surg 17(4):377–383

Chang GG, Hsu RY (1973) The substrate analog bromopyruvate as a substrate, an inhibitor and an alkylating agent of malic

enzyme of pigeon liver. Biochem Biophys Res Commun 55(3):580–587
Christofk HR, Vander Heiden MG, Harris MH, Ramanathan A, Gerszten RE, Wei R et al (2008) The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. Nature 452(7184):230–233
Dang CV, Kim JW, Gao P, Yustein J (2008) The interplay between MYC and HIF in cancer. Nat Rev Cancer 8(1):51–56
Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM et al (2009) Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. Nature 462(7274):739–744
Danial NN, Gramm CF, Scorrano L, Zhang CY, Krauss S, Ranger AM et al (2003) BAD and glucokinase reside in a mitochondrial complex that integrates glycolysis and apoptosis. Nature 424(6951):952–956
Deberardinis RJ, Cheng T (2010) Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer. Oncogene 29 (3):313–324
Deberardinis RJ, Sayed N, Ditsworth D, Thompson CB (2008) Brick by brick: metabolism and tumor cell growth. Curr Opin Genet Dev 18(1):54–61
Eagle H, Oyama VI, Levy M, Horton CL, Fleischman R (1956) The growth response of mammalian cells in tissue culture to L-glutamine and L-glutamic acid. J Biol Chem 218(2):607–616
Ganapathy-Kanniappan S, Kunjithapatham R, Buijs M, Vossen JA, Tchernyshyov I, Cole RN et al (2009) Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is pyruvylated during 3-bromopyruvate mediated cancer cell death. Anticancer Res 29 (12):4909–4918
Ganapathy-Kanniappan S, Vali M, Kunjithapatham R, Buijs M, Syed LH, Rao P et al (2010) 3-Bromopyruvate: a new targeted antiglycolytic agent and a promise for cancer therapy. Curr Pharm Biotechnol 11(5):510–517
Geschwind JF, Georgiades CS, Ko YH, Pedersen PL (2004) Recently elucidated energy catabolism pathways provide opportunities for novel treatments in hepatocellular carcinoma. Expert Rev Anticancer Ther 4(3):449–457
Green DR, Kroemer G (2004) The pathophysiology of mitochondrial cell death. Science 305(5684):626–629
Gruning NM, Lehrach H, Ralser M (2010) Regulatory crosstalk of the metabolic network. Trends Biochem Sci 35(4):220–227
Icard P, Poulain L, Lincet H (2012) Understanding the central role of citrate in the metabolism of cancer cells. Biochim Biophys Acta 1825(1):111–116
Ihrlund LS, Hernlund E, Khan O, Shoshan MC (2008) 3-bromopyruvate as inhibitor of tumour cell energy metabolism and chemopotentiator of platinum drugs. Mol Oncol 2(1):94–101
Israël M (2004) Four hidden metamorphoses: a remark on blood, muscle, mental diseases and cancer. John Libbey Eurotext
Israël M (2005) Cancer: a dysmethylation syndrome. John Libbey Eurotext
Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab 3 (3):177–185
Ko YH, Pedersen PL, Geschwind JF (2001) Glucose catabolism in the rabbit VX2 tumor model for liver cancer: characterization and targeting hexokinase. Cancer Lett 173:83–91
Ko YH, Smith BL, Wang Y, Pomper MG, Rini DA, Torbenson MS et al (2004) Advanced cancers: eradication in all cases using 3-bromopyruvate therapy to deplete ATP. Biochem Biophys Res Commun 324(1):269–275
Koppenol WH, Bounds PL, Dang CV (2011) Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism. Nat Rev Cancer 11 (5):325–337
Kroemer G, Pouyssegur J (2008) Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. Cancer Cell 13(6):472–482
Leist M, Single B, Castoldi AF, Kuhnle S, Nicotera P (1997) Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis. J Exp Med 185(8):1481–1486
Lelli JL Jr, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB (1998) ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells. Free Radic Biol Med 25(6):694–702
Lincet H, Guével B, Pineau C, Allouche S, Lemoisson E, Poulain L, et al. (2011) Comparative 2D-DIGE proteomic analysis of ovarian carcinoma cells: Toward a reorientation of biosynthesis pathways associated with acquired platinum resistance. *J Proteomics*, [Epub ahead of print]
Lopez-Rios F, Sanchez-Arago M, Garcia-Garcia E, Ortega AD, Berrendero JR, Pozo-Rodriguez F et al (2007) Loss of the mitochondrial bioenergetic capacity underlies the glucose avidity of carcinomas. Cancer Res 67(19):9013–9017
Marin-Hernandez A, Gallardo-Perez JC, Ralph SJ, Rodriguez-Enriquez S, Moreno-Sanchez R (2009) HIF-1alpha modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over-expression of specific glycolytic isoforms. Mini Rev Med Chem 9(9):1084–1101
Mazurek S (2003) The tumor metabolome. Anticancer Res 23:1149–1154
Mazurek S (2011) Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells. Int J Biochem Cell Biol 43(7):969–980
Olovnikov IA, Kravchenko JE, Chumakov PM (2009) Homeostatic functions of the p53 tumor suppressor: regulation of energy metabolism and antioxidant defense. Semin Cancer Biol 19(1):32–41
Papandreou I, Goliasova T, Denko NC (2011) Anticancer drugs that target metabolism: is dichloroacetate the new paradigm? Int J Cancer 128 (5):1001–1008
Pastorino JG, Hoek JB (2008) Regulation of hexokinase binding to VDAC. J Bioenerg Biomembr 40(3):171–182
Pedersen PL, Mathupala S, Rempel A, Geschwind JF, Ko YH (2002) Mitochondrial bound type II hexokinase: a key player in the growth and survival of many cancers and an ideal prospect for therapeutic intervention. Biochim Biophys Acta 1555(1–3):14–20
Porporato PE, Dhup S, Dadhich RK, Copetti T, Sonveaux P (2011) Anticancer targets in the glycolytic metabolism of tumors: a comprehensive review. *Front Pharmacol*, 2(49): doi:10.3389
Reitzer LJ, Wice BM, Kennell D (1979) Evidence that glutamine, not sugar, is the major energy source for cultured HeLa cells. J Biol Chem 254(8):2669–2676
Samudio I, Fiegl M, Andreeff M (2009) Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. Cancer Res 69(6):2163–2166
Simonnet H, Demont J, Pfeiffer K, Guenaneche L, Bouvier R, Brandt U et al (2003) Mitochondrial complex I is deficient in renal oncocytomas. Carcinogenesis 24(9):1461–1466
Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 324(5930):1029–1033
Varin E, Denoyelle C, Brotin E, Meryet-Figuiere M, Giffard F, Abeilard E et al (2010) Downregulation of Bcl-xL and Mcl-1 is sufficient to induce cell death in mesothelioma cells highly refractory to conventional chemotherapy. Carcinogenesis 31(6):984–993
Warburg O (1930) The metabolism of tumors. Constable & Co. Ltd, London
Warburg O (1956) On the origin of cancer cells. Science 123(3191):309–314
Warr MR, Shore GC (2008) Unique biology of Mcl-1: therapeutic opportunities in cancer. Curr Mol Med 8(2):138–147
Wellen KE, Hatzivassiliou G, Sachdeva UM, Bui TV, Cross JR, Thompson CB (2009) ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. Science 324(5930):1076–1080
Willis SN, Chen L, Dewson G, Wei A, Naik E, Fletcher JI et al (2005) Proapoptotic Bak is sequestered by Mcl-1 and Bcl-xL, but not Bcl-2, until displaced by BH3-only proteins. Genes Dev 19(11):1294–1305

Xu RH, Pelicano H, Zhou Y, Carew JS, Feng L, Bhalla KN et al (2005) Inhibition of glycolysis in cancer cells: a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. Cancer Res 65(2):613–621

Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W et al (2009) IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. N Engl J Med 360 (8):765–773

Yip KW, Reed JC (2008) Bcl-2 family proteins and cancer. Oncogene 27(50):6398–63406

Zhang X, Varin E, Allouche S, Lu Y, Poulain L, Icard P (2009a) Effect of citrate on malignant pleural mesothelioma cells: a synergistic effect with cisplatin. Anticancer Res 29(4):1249–1254

Zhang X, Varin E, Briand M, Allouche S, Heutte N, Schwartz L et al (2009b) Novel therapy for malignant pleural mesothelioma based on anti-energetic effect: an experimental study using 3-Bromopyruvate on nude mice. Anticancer Res 29(4):1443–1448

Exercise is accompanied by powerful intensity-dependent vasodilation and increases in blood flow to the active muscle (Andersen & Saltin, 1985; Radegran, 1997; Wray *et al.* 2004). This exercise hyperaemia is challenged by activation of sympatho-adrenergic and nonadrenergic vasoconstrictor systems. During increasing intensities of exercise the concomitant increasing activity in sympathetic vasocontrictor nerves is driven by a combination of central nervous coactivation of motor control and sympathetic outflow (i.e. 'central command') and muscle-derived afferents (i.e. 'mechano- and metaboreflexes') (Victor *et al.* 1989, 1995). During higher levels of sympathetic activity, plasma renin acivity increases, leading to increased production of the nonadrenergic vasoconstrictor angiotensin II (AngII) (Staessen *et al.* 1987; Tidgren *et al.* 1991; Bocqueraz *et al.* 2004). Several studies indicate that both resting and exercise-induced sympathetic activity and AngII production are elevated in pathological conditions such as hypertension and heart failure (Kinugawa *et al.* 1996, 1997; Cheng *et al.* 2001; Mansfield *et al.* 2003; Schlaich *et al.* 2004). In addition, the non-adrenergic vasoconstrictor endothelin-1 seems to have an increased functional significance in patients with cardiovascular disease compared to controls (McEniery *et al.* 2002; Yousufuddin *et al.* 2000). Thus, the exercise-induced activation and efficacy of vasodilator and vasoconstrictor systems within skeletal muscle is dependent upon the type and intensity of exercise as well as pathophysiological state.

The interplay between the vasoactive systems results in a complex integrative control of local blood flow within exercising skeletal muscle. In some models of exercise, there is experimental evidence that sympathoexcitation may cause vasoconstriction in the active skeletal muscle (Buckwalter & Clifford, 1999; Joyner *et al.* 1992). However,

it has been acknowledged for decades that the response to adrenergic stimuli may be attenuated in exercising muscle compared to resting muscle (Remensynder *et al.* 1962), a phenomenon termed functional sympatholysis. More recently, a variety of studies in rodent, canine and human models of exercise have widely agreed that the vasoconstrictor responses to sympathetic nerve activity or intra-arterial sympathomimetic drugs are at least partially inhibited by metabolic products of muscle contraction (Thomas & Victor, 1997; Thomas *et al.* 1997, 1998, 2001; Hansen *et al.* 1999; Sander *et al.* 2000; Dinenno & Joyner, 2003; Buckwalter *et al.* 2004*a*; Keller *et al.* 2004; Wray *et al.* 2004;). The significance of this phenomenon has been illustrated in rats with experimental heart failure (Thomas *et al.* 2001) and in children with Duchenne's muscular dystrophy (Sander *et al.* 2000). In both these conditions, metabolic inhibition of sympathetic vasoconstriction is diminished, which leads to hypoperfusion of the exercising muscles during sympathoexcitation. Thus, subnormal metabolic inhibition of sympathetic vasoconstriction could contribute to development of muscle fatigue. Specifically, it has been hypothesized that this mechanism constitutes part of the 'peripheral factor' of exercise intolerance in human heart failure (Hansen *et al.* 2000).

While the exercise-induced attenuation of adrenergic vasoconstriction has been well characterized, little is known about the extent to which non-adrenergic vasoconstrictor systems are susceptible to the metabolic events of exercise. Thus, the present study focuses on AngII-mediated vasoconstrictor effects in human thigh muscle. Specifically, we hypothesized that in exercising human muscle AngII-vasoconstriction would be significantly less inhibited than α_1-vasoconstriction. If proven, this hypothesis would strongly suggest that attenuation of α_1-mediated vasoconstriction is related to a specific inhibitory action of metabolic events. If refuted, this would provide evidence in humans that non-adrenergic vasoconstriction is also sensitive to metabolic inhibition. To this end, we measured femoral blood flow directly at rest and during two workloads of dynamic steady-state knee-extensor exercise with superimposed intra-arterial administration of the endogenous angiotensin (AT)-receptor agonist AngII and a selective α_1-agonist phenylephrine (PE).

Methods

Subjects and general procedures

Eleven healthy young men (age: 25 ± 2 years; body mass index (BMI), 25 ± 1 kg m^{-2}) gave written informed consent to participate. The study was approved by the local ethics committee of Copenhagen and Frederiksberg and conformed to the Helsinki Declaration. All experiments were performed in a thermoneutral environment, with subjects seated in a semirecumbent position (approximately 45 deg hipflexion). Heart rate (HR) was obtained from an ECG recording (BioAmp, ADInstruments). One-legged knee-extensor exercise was performed at 60 r.p.m. on a modified cycle ergometer as previously described (Anderson & Saltin, 1985; Wray *et al.* 2004). The knee extensor force and rhythm were recorded via a strain gauge (customized signal processor, FBJ Industries).

Catheterization

Under local anaesthesia (lidocaine; Danish county pharmaceutical corporation), the arterial (Arrow, 20 gauge) and venous (Cook, 18 gauge) catheters were inserted into the femoral artery and vein of the right leg. The catheters were used for intra-arterial drug infusions, direct phasic blood pressure measurements (BP), and femoral blood flow measurements via thermodilution (FBF_{TD}) (Wray *et al.* 2004). BP was measured at the level of the heart by adjustment of the position of the pressure transducer (Baxter), which was interfaced with a blood pressure amplifier (BPamp, ADInstruments). The thermodilution technique has been previously described and validated in detail (Andersen & Saltin, 1985; Wray *et al.* 2004), and provides accurate and reproducible measurements of leg blood flow during knee-extensor exercise. Thermodilution was not used during rest because it is not suitable for determination of the low blood flows seen during infusions of vasoconstricting drugs.

Ultrasound imaging and Doppler were used to determine femoral artery diameter (FAD) and blood velocity (FBV) (7.5 MHz mechanical sector transducer, CFM 800, GE Medical). Femoral blood flow by ultrasound (FBF_D) was calculated as previously described (Wray *et al.* 2004).

Drugs

PE (Danish county pharmaceutical corporation) was used as a specific α_1-adrenergic agonist. AngII (Clinalfa, Switzerland) was used as an AT-receptor agonist. Drugs were diluted with normal saline and intra-arterial infusion rates ranged from 0.2 to 6 ml min^{-1}.

Experimental protocols

The protocol is outlined in Fig. 1. In all subjects we measured BP, HR, FBF, and FAD during (1) rest; (2) 7 W (low workload); and (3) 27 W one-legged knee-extensor exercise (moderate workload). The resting condition was always first, whereas the order of the two exercise intensities was alternated. Measurements during rest and

exercise were obtained before and during continuous intra-arterial infusions of 6–7 incremental doses of PE and AngII. The measurements were made during the last 45 s of each dose (total time was 2–3 min on each dose). The doses used during rest and exercise were: PE, 0.0125–0.8 μg kg^{-1} min^{-1} and 0.05–1.6 μg kg^{-1} min^{-1}; AngII, 0.25–16 and 1.0–32 ng kg^{-1} min^{-1}. The wide range of drug doses allowed for evaluation of saturation kinetics, and *post hoc* comparison of doses normalized to femoral blood flow using linear interpolation between individually obtained values. The order of the two vasoconstrictors was balanced, and the drugs were separated by at least 15 min, which was accompanied by restoration of predrug haemodynamic values. To avoid the initial non-steady state, measurements were not made during the first 10 min of each exercise bout. We used recovery periods of at least 45 min between exercise conditions.

Data analysis and statistics

All data were sampled at 400 Hz, recorded on a PC, and analysed offline (PowerLab, ADInstruments). Mean arterial pressure (MAP) was derived from the arterial pressure waveform. Femoral vascular conductance (FVC) was calculated by the formula: FVC = FBF/MAP, and vascular resistance (FVR) by: FVR = MAP/FBF. The variables analysed did not depart from normal distributions by F test, or homogeneity of variances by Bartlett's Chi-square test. Student's t test for paired data was applied to test for differences between baseline values (e.g. steady-state values before drug intervention). Within-group differences were assessed by one- or two-way ANOVA for repeated measures, for drug, dose, and exercise intensity. *Post hoc* analysis was performed by Dunnett's procedure for one-way ANOVA and by Tukey's procedure for two-way ANOVA. Statistical significance was set at $P < 0.05$ and adjusted by the Bonferroni method as appropriate.

Results

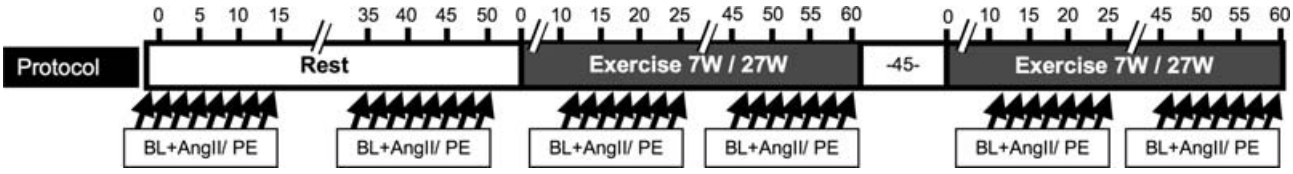


Figure 1. Protocol outline for constant intra-arterial (femoral) infusions of 7 AngII doses (0.25–16 ng kg^{-1} min^{-1}) and 7 PE doses (0.0125–0.8 μg kg^{-1} min^{-1}) during rest; as well as 6 AngII doses (0.5–32 ng kg^{-1} min^{-1}) and 6 PE doses (0.05–1.6 μg·kg^{-1} min^{-1}) during 7 w and 27 W ipsilateral knee-extensor exercise

The time course is represented on the top axis in minutes. The order of the drugs and of the exercise levels were random and balanced. There was a resting period of at least 45 min between exercise bouts. Measurements of femoral blood flow during baseline and each drug dose are marked by arrows. Each dose was administered as a constant intra-arterial infusion for at least 2 min, with measurements obtained during the last 45 s. Each shift of dose was a doubling of the previous dose. BL, baseline; PE, phenylephrine; AngII, angiotensin II.

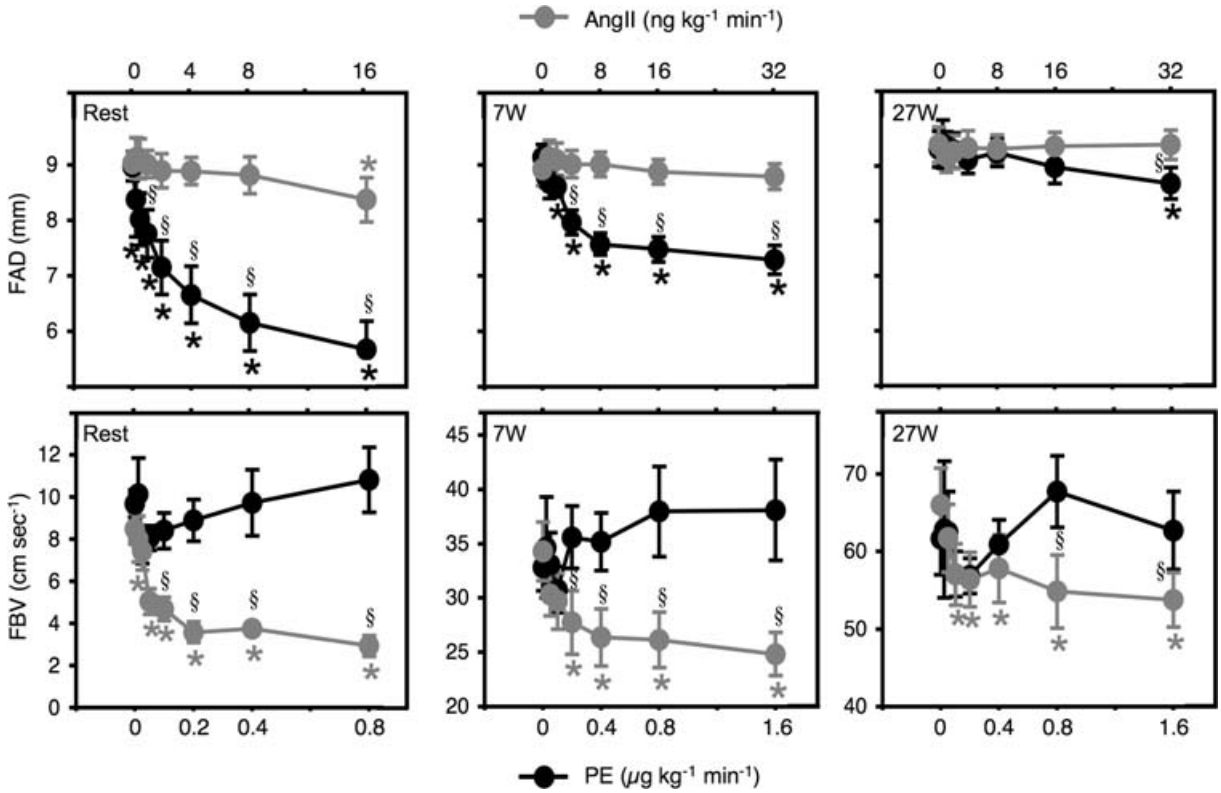


Figure 2. Femoral artery diameter and blood velocity
Dose–response relationships for intra-arterial AngII and PE during rest, 7 W, and 27 W exercise. AngII, angiotensin II; PE, phenylephrine; FAD; femoral artery diameter; FBV, femoral blood velocity. $^{*}P < 0.05$ compared to baseline; $\S P < 0.05$ between PE and AngII. Error bars are S.E.M.

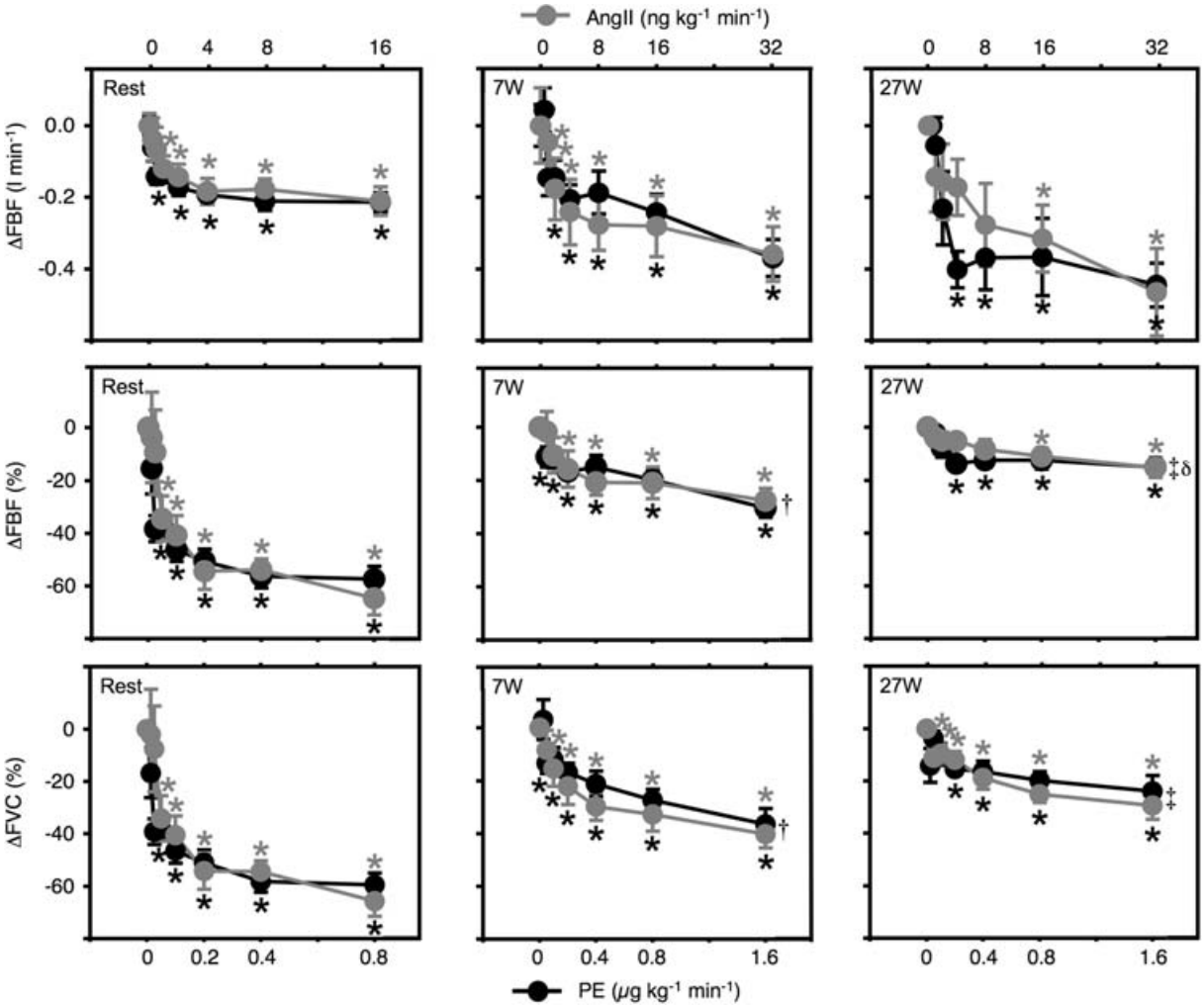


Figure 3. Femoral blood flow and conductance

Dose–response relationships for intra-arterial AngII and PE during rest, 7 W, and 27 W exercise. AngII, angiotensin II; PE, phenylephrine; ΔFBF, changes in femoral blood flow (absolute in top panels and relative in middle panels); ΔFVC, changes in femoral vascular conductance (relative in bottom panels). $^*P < 0.05$ compared to baseline; †$P < 0.05$ between rest and 7 W; ‡$P < 0.05$ between rest and 27 W; $\delta P < 0.05$ between rest and 7 W. Error bars are S.E.M.

Table 1. Values during baseline (BL) and maximal drug (Drug) doses during rest, 7 W, and 27 W

		Resting		7 W		27 W	
		BL	Drug	BL	Drug	BL	Drug
HR (beats min^{-1})	PE	55 ± 3	52 ± 2	67 ± 3	54 ± 3*	77 ± 3	65 ± 3*
	AngII	55 ± 3	55 ± 2	65 ± 4	59 ± 4*	76 ± 3	73 ± 4*
MAP (mmHg)	PE	88 ± 3	92 ± 3*	89 ± 4	104 ± 6*	93 ± 4	105 ± 7*
	AngII	88 ± 3	90 ± 4	87 ± 3	108 ± 6*	90 ± 3	111 ± 6*
FBF_D (l min^{-1})	PE	0.37 ± 0.03	0.16 ± 0.02*	1.27 ± 0.05	0.91 ± 0.07*	2.50 ± 0.20	2.16 ± 0.10*
	AngII	0.32 ± 0.03	0.09 ± 0.02*	1.25 ± 0.07	0.90 ± 0.07*	2.68 ± 0.15	2.21 ± 0.15*
FBF_{TD} (l min^{-1})	PE	—	—	1.06 ± 0.04	0.82 ± 0.04*	2.90 ± 0.14	2.46 ± 0.11*
	AngII	—	—	1.17 ± 0.11	0.81 ± 0.04*	2.87 ± 0.18	2.41 ± 0.15*
FVC_D (ml mmHg min^{-1})	PE	4.2 ± 0.3	1.7 ± 0.2*	14.4 ± 1.0	9.3 ± 1.3*	28.5 ± 3.5	21.1 ± 2.1*
	AngII	3.6 ± 0.4	1.0 ± 0.2*	14.5 ± 0.9	8.4 ± 0.6*	30.6 ± 2.7	20.8 ± 2.0*
FVC_{TD} (ml mmHg min^{-1})	PE	—	—	13.6 ± 1.0	8.2 ± 0.5*	32.8 ± 2.6	24.6 ± 2.3*
	AngII	—	—	13.6 ± 1.4	7.6 ± 0.4*	32.5 ± 2.7	22.5 ± 2.1*

AngII, angiotensin II; PE, phenylephrine; HR, heart rate; MAP, mean arterial pressure; FBF_D, femoral blood flow by Doppler; FBF_{TD}, femoral blood flow by thermodilution; FVC_D, femoral vascular conductance by Doppler; FVC_{TD}, femoral vascular conductance by thermodilution; *$P < 0.05$ for drug compared to baseline.

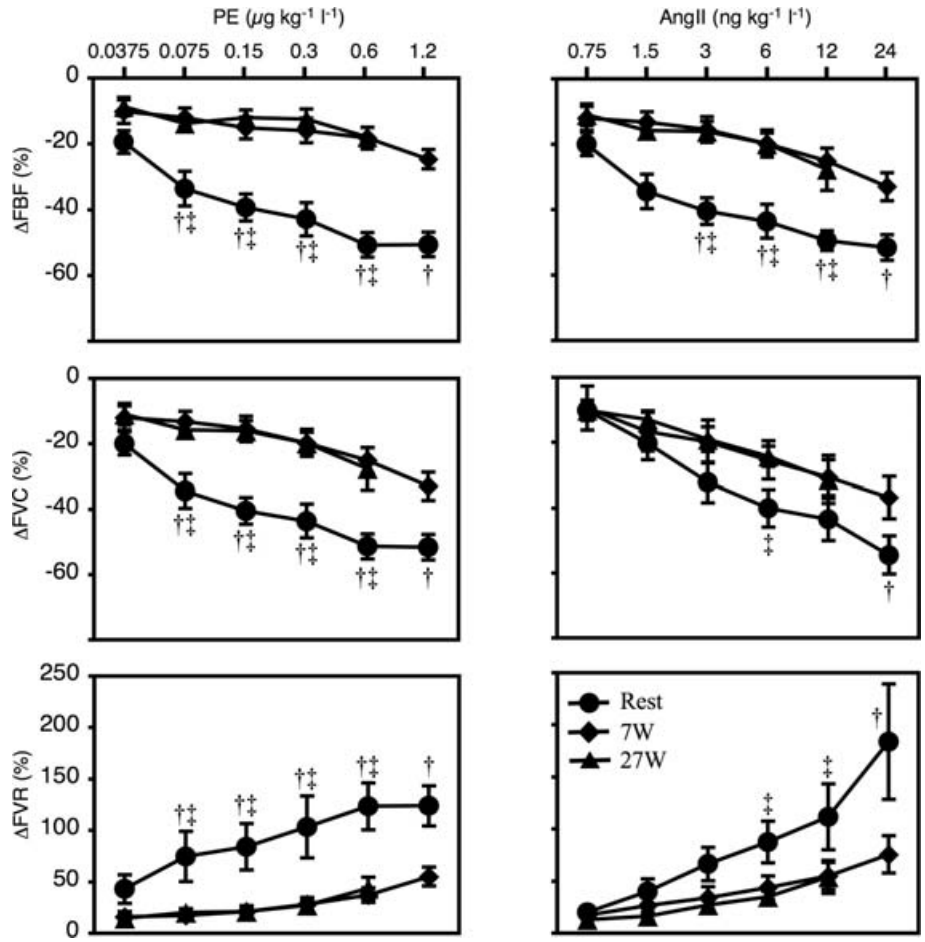


Figure 4. Femoral blood flow, conductance and resistance
Flow-adjusted dose–response relationships for intra-arterial AngII and PE during rest, 7 W, and 27 W exercise. AngII, angiotensin II; PE, phenylephrine; ΔFBF, relative changes in femoral blood flow; ΔFVC, relative changes in femoral vascular conductance; ΔFVR, relative changes in femoral vascular resistance. †$P < 0.05$ between rest and 7 W; ‡$P < 0.05$ between rest and 27 W. Error bars are S.E.M.

References

Andersen P & Saltin B (1985). Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* **366**, 233–249.

Baan J Jr, Chang PC, Vermeij P, Pfaffendorf M & Van Zwieten PA (1996). Effects of losartan on vasoconstrictor responses to angiotensin II in the forearm vascular bed of healthy volunteers. *Cardiovasc Res* **32**, 973–979.

Blanchet M, Sheppard R, Racine N, Ducharme A, Curnier D, Tardif JC, Sirois P, Lamoureux MC, De Champlain J & White M (2005). Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor plus irbesartan on maximal and submaximal exercise capacity and neurohumoral activation in patients with congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **149**, e1–7.

Bocqueraz O, Koulmann N, Guigas B, Jimenez C & Melin B (2004). Fluid-regulatory hormone responses during cycling exercise in acute hypobaric hypoxia. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 1730–1736.

Buckwalter JB & Clifford PS (1999). α-Adrenergic vasoconstriction in active skeletal muscles during dynamic exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **277**, H33–H39.

Buckwalter JB, Hamann JJ & Clifford PS (2003). Vasoconstriction in active skeletal muscles: a potential role for P2X purinergic receptors? *J Appl Physiol* **95**, 953–959.

Buckwalter JB, Hamann JJ, Kluess HA & Clifford PS (2004*b*). Vasoconstriction in exercising skeletal muscles: a potential role for neuropeptide Y? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **287**, H144–H149.

Buckwalter JB, Taylor JC, Hamann JJ & Clifford PS (2004*a*). Role of nitric oxide in exercise sympatholysis. *J Appl Physiol* **97**, 417–423.

Burcher E & Garlick D (1973). Antagonism of vasoconstrictor responses by exercise in the gracilis muscle of the dog. *J Pharmacol Exp Ther* **187**, 78–85.

Chang PC, Grossman E, Kopin IJ, Goldstein DS, Folio CJ & Holmes C (1995). On the existence of functional angiotensin II receptors on vascular sympathetic nerve terminals in the human forearm. *J Hypertens* **13**, 1275–1284.

Cheng C-P, Ukai T, Onishi K, Ohte N, Suzuki M, Zhang Z-S, Cheng H-J, Tachibana H, Igawa A & Little WC (2001). The role of ang II and endothelin-1 in exercise-induced diastolic dysfunction in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H1853–H1860.

Clemson B, Gaul Lawrence Gubin SS , Campsey DS, McConville J, Nussberger J & Zelis R (1994). Prejunctional angiotensin II receptors. facilitation of norepinephrine release in the human forearm. *J Clin Invest* **93**, 684–691.

Cox SL, Trendelenburg AU & Starke K (1999). Prejunctional angiotensin receptors involved in the facilitation of noradrenaline release in mouse tissues. *Br J Pharmacol* **127**, 1256–1262.

Dinenno FA, Eisenach JH, Dietz NM & Joyner MJ (2002). Post-junctional alpha-adrenoceptors and basal limb vascular tone in healthy men. *J Physiol* **540**, 1103–1110.

Dinenno FA & Joyner MJ (2003). Blunted sympathetic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of healthy humans: is nitric oxide obligatory? *J Physiol 533* **1**, 281–292.

Dinenno FA & Joyner MJ (2004). Combined NO and PG inhibition augments alpha-adrenergic vasoconstriction in contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **287**, H2576–H2584.

Faber JE (1988). In situ analysis of alpha-adrenoceptors on arteriolar and venular smooth muscle in rat skeletal muscle microcirculation. *Circ Res* **62**, 37–50.

Gohla A, Schultz G & Offermans S (2000). Role for G12/G13 in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ Res* **87**, 221–227.

Goldsmith SR, Garr M & McLaurin M (1998). Regulation of regional norepinephrine spillover in heart failure: the effect of angiotensin II and beta-adrenergic agonists in the forearm circulation. *J Card Fail* **4**, 305–310.

Hansen J, Sander M & Thomas GD (2000). Metabolic modulation of sympathetic vasoconstriction in exercising skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* **168**, 489–503.

Hansen J, Sayad D, Thomas GD, Clarke GD, Peshock RM & Victor RG (1999). Exercise-induced attenuation of alpha-adrenoceptor mediated vasoconstriction in humans: evidence from phase-contrast MRI. *Cardiovasc Res* **41**, 220–228.

Hartshorne DJ (1998). Myosin phosphatase: subunits and interactions. *Acta Physiol Scand* **164**, 483–493.

Joyner MJ, Nauss LA, Warner MA & Warner DO (1992). Sympathetic modulation of blood flow and O_2 uptake in rhythmically contracting human forearm muscles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **263**, H1078–H1083.

Keller DM, Ogoh D, Green S, Olivencia-Yurvati A & Raven PB (2004). Inhibition of Katp channel activity augments baroreflex mediated vasoconstriction in exercising skeletal muscle. *J Physiol* **561**, 273–282.

Kinugawa T, Endo A, Kato M, Kato T, Ahmmed GU, Omodani H, Osaki S, Ogino K, Hisatome I, Miyakoda H, Fujimoto Y, Yoshida A & Shigemasa C (1997). Responses of plasma catecholamines, renin-angiotensin-aldosterone system, and atrial natriuretic peptide to exercise in patients with essential hypertension. *Cardiology* **88**, 238–245.

Kinugawa T, Ogino K, Kitamura H, Saitoh M, Omodani H, Osaki S, Hisatome I & Miyakoda H (1996). Catecholamines, renin-angiotensin-aldosterone system, and atrial natriuretic peptide at rest and during submaximal exercise in patients with congestive heart failure. *Am J Med Sci* **312**, 110–117.

Krum H, Lambert E, Windebank E, Campbell DJ & Esler M (2006). Effect of angiotensin II receptor blockade on autonomic nervous system function in patients with essential hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **290**, H1706–H1712.

Leuenberger U, Gaul L, Noack H, Gubin S & Zelis R (1996). Angiotensin-converting enzyme inhibition and the norepinephrine spillover response to dynamic exercise. *J Appl Physiol* **81**, 1138–1142.

Mansfield D, Kaye DM, Brunner La Rocca H, Solin P, Esler MD & Naughton MT (2003). Raised sympathetic nerve activity in heart failure and central sleep apnea is due to heart failure severity. *Circulation* **107**, 1396–1400.

McEniery CM, Wilkinson IB, Jenkins DG & Webb DJ (2002). Endogenous endothelin-1 limits exercise-induced vasodilation in hypertensive humans. *Hypertension* **40**, 202–206.

Nielsen S, Halliwill JR, Joyner MJ & Jensen MD (2004). Vascular response to angiotensin II in upper body obesity. *Hypertension* **44**, 435–441.

Paxton WG, Runge M, Horaist C, Cohen C, Alexander RW & Bernstein KE (1993). Immunohistochemical localization of rat angiotensin II AT1 receptor. *Am J Physiol* **264**, F989–F995.

Radegran G (1997). Ultrasound Doppler estimates of femoral artery blood flow during dynamic knee extensor exercise in humans. *J Appl Physiol* **83**, 1383–1388.

Remensynder JP, Mitchell JH & Sarnoff SJ (1962). Functional sympatholysis during muscular activity. *Circ Res* **11**, 370–380.

Rosenmeier JB, Dinneno FA, Fritzlar SJ & Joyner MJ (2003). α_1- and α_2-adrenergic vasoconstriction is blunted in contracting human muscle. *J Physiol* **547**, 971–979.

Rosenmeier JB, Hansen J & Gonzalez-Alonso J (2004). Circulating ATP-induced vasodilation overrides sympathetic vasoconstrictor activity in human skeletal muscle. *J Physiol* **558**, 351–365.

Sander M, Chavoshan B, Harris SA, Iannaccone ST, Stull JT, Thomas GD & Victor RG (2000). Functional muscle ischemia in neuronal nitric oxide synthase-deficient skeletal muscle of children with Duchenne's muscular dystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 13818–13823.

Saris JJ, van Dijk MA, Kroon I, Schalekamp MA & Dauser AH (2000). Functional importance of angiotensin-converting-enzyme-dependent in situ angiotensin II generation in the human forearm. *Hypertension* **35**, 764–768.

Schlaich MP, Kaye DM, Lambert E, Hastings J, Campbell DJ, Lambert G & Esler MD (2005). Angiotensin II and norepinephrine release: interaction and effects on the heart. *J Hypertens* **23**, 1077–1082.

Schlaich MP, Lambert E, Kaye DM, Krozowski Z, Campbell DJ, Lambert G, Hastings J, Aggarwal A & Esler MD (2004). Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and angiotensin neuromodulation. *Hypertension* **43**, 169–175.

Seasholtz TM, Gurdal H, Wang H-Y, Johnson MD & Friedman E (1997). Desensitization of norepinephrine receptor function is associated with G protein uncoupling in the rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **42**, H279–H285.

Staessen J, Fagard R, Hespel P, Lijnen P, Vanhees L & Amery A (1987). Plasma renin system during exercise in normal men. *J Appl Physiol* **63**, 188–194.

Stull JT, Lin PJ, Krueger JK, Trewhella J & Zhi G (1998). Myosin light chain kinase: functional domains and structural motifs. *Acta Physiol Scand* **164**, 471–482.

Thomas GD, Hansen J & Victor RG (1994). Inhibition of alpha 2-adrenergic vasoconstriction during contraction of glycolytic, not oxidative, rat hindlimb muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **266**, H920–H929.

Thomas GD, Hansen J & Victor RG (1997). ATP-sensitive potassium channels mediate contraction-induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *J Clin Invest* **99**, 2602–2609.

Thomas GD, Sander M, Lau KS, Huang PL, Stull JT & Victor RG (1998). Impaired metabolic modulation of α-adrenergic vasoconstriction in dystrophin-deficient skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 15090–15095.

Thomas GD & Victor RG (1997). Nitric oxide mediates contraction-induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *J Physiol* **506**, 817–826.

Thomas GD, Zhang W & Victor RG (2001). Impaired modulation of sympathetic vasoconstriction in contracting skeletal muscle of rats with chronic myocardial infarctions: role of oxidative stress. *Circ Res* **88**, 816–823.

Tidgren B, Hjemdahl P, Theodorsson E & Nussberger J (1991). Renal neurohormonal and vascular responses to dynamic exercise in humans. *J Appl Physiol* **70**, 2279–2286.

Trendelenburg AU, Meyer A, Klebroff W, Guimaraes S & Starke K (2003). Crosstalk between presynaptic angiotensin receptors, bradykinin receptors and alpha 2-autoreceptors in sympathetic neurons: a study in alpha 2-adrenoceptor-deficient mice. *Br J Pharmacol* **138**, 1389–1402.

Tschakovsky ME, Sujirattanawimol K, Ruble SB, Valic Z & Joyner MJ (2002). Is sympathetic neural vasoconstriction blunted in the vascular bed of exercising human muscle? *J Physiol* **541**, 623–635.

VanTeeffelen JW & Segal SS (2003). Interaction between sympathetic nerve activation and muscle fibre contraction in resistance vessels of hamster retractor muscle. *J Physiol* **550**, 563–574.

Vicaut E, Montalescot G, Hou X, Stucker O & Teisseire B (1989). Arteriolar vasoconstriction and tachyphylaxis with intra-arterial angiotensin-II. *Microvasc Res* **37**, 28–41.

Victor RG, Pryor SL, Secher NH & Mitchell JH (1989). Effects of partial neuromuscular blockade on sympathetic nerve responses to static exercise in humans. *Circ Res* **65**, 468–476.

Victor RG, Secher NH, Lyson T & Mitchell JH (1995). Central command increases muscle sympathetic nerve activity during intense intermittent isometric exercise in humans. *Circ Res* **76**, 127–131.

Wray DW, Fadel PJ, Smith ML, Raven PB & Sander M (2004). Inhibition of α-adrenergic vasoconstriction in exercising human thigh muscles. *J Physiol* **555**, 545–563.

Yousufuddin M, Shamim W, Chambers JS, Henein M, Amin FR, Anker SD, Kemp M, Hooper J & Coats AJS (2000). Superiority of endothelin-1 over norepinephrine in exercise-induced alterations of the conduit artery tone of the non-exercised arm in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol* **73**, 15–25.

Acknowledgements

This study was performed at the Copenhagen Muscle Research Center with the financial support of the Danish National Research Foundation (#504–14). M.S.'s work was supported by grants and fellowships from the Danish Heart Foundation, the Danish Medical Research Council, the Novo Foundation, the Michaelsen Foundation, and the Kaj Hansen Foundation. This study was also supported in part by funding from NIH (#HL045547) to Dr Raven. This work has been completed in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy for R. Matthew Brothers.

Introduction

Renal sodium handling is an essential physiological function in mammals for body fluid maintenance and blood pressure regulation. Regulation of the systemic sodium balance occurs predominantly through the control of renal tubule sodium reabsorption. Adjustments in sodium excretion occur partly through adaptive changes in the abundances of apical sodium transporter proteins expressed in the various renal tubule segments [1–3]. The major apical sodium transporters that contribute significantly to this regulation are the type 3 Na/H exchanger in the proximal tubule, the bumetanide-sensitive type 2 Na^+K^+2Cl co-transporter (NKCC2) in the thick ascending limb of Henle (TAL), the thiazide-sensitive NaCl co-transporter (NCC) in the distal convoluted tubule, and the amiloride-sensitive epithelial sodium channel (ENaC) in the connecting tubules and collecting ducts [4].

The gene mutation or alteration of expression of these apical sodium transporters leads to the modification of systemic blood pressure. For example, defective NCC is the cause of Gitelman's syndrome, which is characterized by urinary sodium loss, resulting in orthostatic hypotension [5]. In contrast, gain-of-function mutations of ENaC in the collecting ducts generate Liddle's syndrome, which is phenotypically characterized by the retention of sodium and water leading to systemic hypertension [6]. Higher NKCC2 activity in Dahl salt-sensitive rats contributes to the development of hypertension in this model [7], whereas enhanced ENaC expression is associated with the development of hypertension in the spontaneously hypertensive rat (SHR) [8]. Renal apical sodium transporters thus play an important role in the regulation of systemic sodium balance and blood pressure.

To define the role of the sensory nerves in the development of salt-sensitive hypertension, we previously established a salt-sensitive hypertension model in which capsaicin-sensitive sensory nerves were degenerated. This model is characterized by an impairment of

increment in urine sodium and water excretion and an elevation in blood pressure when a high sodium diet is given. Our subsequent studies indicated that the development of hypertension in this model is associated with insufficient suppression of plasma renin activity and plasma aldosterone levels, enhancement of the sympathoexcitatory response, activation of the endothelin-1 system, and enhancement of superoxide production in response to salt load [9–12]. It is unknown, however, whether derangements in neurohormonal systems in this salt-sensitive hypertension model affect renal function and blood pressure via alteration of the expression and function of sodium transporters expressed in the renal tubules. The information gained may further our understanding of the underlying mechanisms of the increased salt sensitivity of arterial pressure. This study was designed to examine the hypothesis that the expression or activities of NKCC2, NCC and α-ENaC, three major sodium transporters in the kidney, are upregulated, which may contribute to sodium and water retention and the development of hypertension in rats subjected to sensory nerve degeneration and high salt intake.

Methods

Animals and treatment

The experimental protocols involving animals were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee. Pretreatment of animals with capsaicin was performed as described previously [13]. Briefly, neonatal Wistar rats received 50 mg/kg capsaicin subcutaneously on days 1 and 2 of life. Control rats were treated with vehicle solution (5% ethanol, 5% Tween 80 in saline). Male rats at 7 weeks of age were divided into four groups and pair-fed different sodium diets for 2 weeks: capsaicin pretreatment plus a high sodium diet (4%, Cap-HS), capsaicin plus a normal sodium diet (0.5%, Cap-NS), control plus a high sodium diet (Con-HS), and control plus a normal sodium diet (Con-NS). After the treatment, a subset of rats in each group was used for functional tests with bolus injections of diuretics and measurements of mean arterial pressure (MAP) and urine flow rate (UFR). The remainder in each group were used for the collection of blood for the measurement of hematocrit and for assaying renal calcitonin gene-related peptide (CGRP) release and protein expression of ion transporters by Western blot without being subjected to functional tests. The rat food was purchased from Harlan Teklad Diets (Madison, Wisconsin, USA).

Surgical procedure

At the end of dietary treatment, the rats were anesthetized with inactin (80 mg/kg, intraperitoneally) and ketamine (30 mg/kg, intramuscularly) and placed on a warming pad to maintain body temperature between 36 and 37°C. A tracheal cannula was inserted to facilitate breathing. The right jugular vein and right femoral artery were cannulated for intravenous infusion and measurement of MAP, respectively. MAP was measured with the use of the Gould 6600 series transducer and recorded with P3 analysis modules (Valley View, Ohio, USA). After a midline abdominal incision, two ureters were cannulated for the collection of urine. The animals were intravenously infused with 2% bovine serum albumin in 0.9% sodium chloride solution during surgery, and 0.9% sodium chloride solution after surgery and throughout the experiment at a rate of 6 ml/kg per hour to replace fluid losses. Animals were kept in the anesthetized condition throughout the acute experiment by the addition of inactin (15 mg/kg, intraperitoneally).

Administration of diuretics

After 3-h equilibration after the surgery, urine was collected and MAP was recorded as baselines for an half hour. Vehicle and diuretics were intravenously injected in the volume of 0.5 ml per kg body weight. MAP was continuously monitored and urine collected for at least 30 min (6×5 min in each) after the injection of vehicle or diuretics for calculation of the UFR and urinary sodium excretion (UNaV). The urinary sodium concentration was determined using a flame photometer (IL943; Instrumentation Laboratories, Lexington, Massachusetts, USA). Each rat received only one of the following diuretics: furosemide (1 mg/kg, intravenously; Sigma, St Louis, USA) [14], a selective NKCC2 antagonist; trichlormethiazide (10 mg/kg, intravenously; Sigma) [15], a selective NCC antagonist; or amiloride (1 mg/kg, intravenously; Sigma) [16], a selective ENaC antagonist. These doses have been demonstrated to block the respective ion transporters [14–16].

Hematocrit measurement

The rats were anesthetized with ketamine and xylazine (80 and 4 mg/kg intraperitoneally) and decapitated. Blood samples were collected in ethylenediamine tetraacetic acid tubes. The hematocrit in fresh blood samples was determined by the use of Microhematocrits (Becton Dickinson, Sparks, Maryland, USA).

Renal calcitonin gene-related peptide release

The left kidney was removed and cut into four parts from the midpoint of the renal hilum. Each part was weighed, chipped and equilibrated in aerated HEPES buffer (25 mmol/l HEPES, 135 mmol/l NaCl, 3.5 mmol/l KCl, 2.5 mmol/l $CaCl_2$, 1 mmol/l $MgCl_2$, 3.3 mmol/l D-glucose, 0.1 mmol/l ascorbic acid, 0.1% bovine serum albumin, 10 μmol/l DL-thiorphan, 1 mmol/l phenylalanine, and 50 μmol/l *p*-chloromercuriphenylsulfonic acid, pH 7.4) (5% carbon dioxide and 95% oxygen; 37°C), containing indomethacin (10 μmol/l) for 1 h [17]. The medium was then removed and immediately replaced with fresh HEPES buffer containing capsaicin (1 μmol/l), capsazepine (10 μmol/l), capsazepine plus capsaicin, or vehicle. The medium was aspirated after 10 min of incubation and

stored at −80°C for later measurements of the CGRP concentration.

Radioimmunoassay of calcitonin gene-related peptide

The CGRP concentration in the samples collected above was extracted by the use of a C18-E column (Strata; Phenomenex, Torrance, California, USA) and assayed by the use of the rabbit anti-rat CGRP radioimmunoassay kit (Peninsula Laboratories Inc., San Carlos, California, USA). The anti-rat CGRP antibody has 100% cross-reactivity with rat α-CGRP and 79% cross-reactivity with rat β-CGRP. There is no cross-reactivity with rat amylin, calcitonin, somatostatin, or substance P. The assay was performed as recommended by the supplier. The CGRP concentration was adjusted by the renal tissue weight.

Western blot analysis

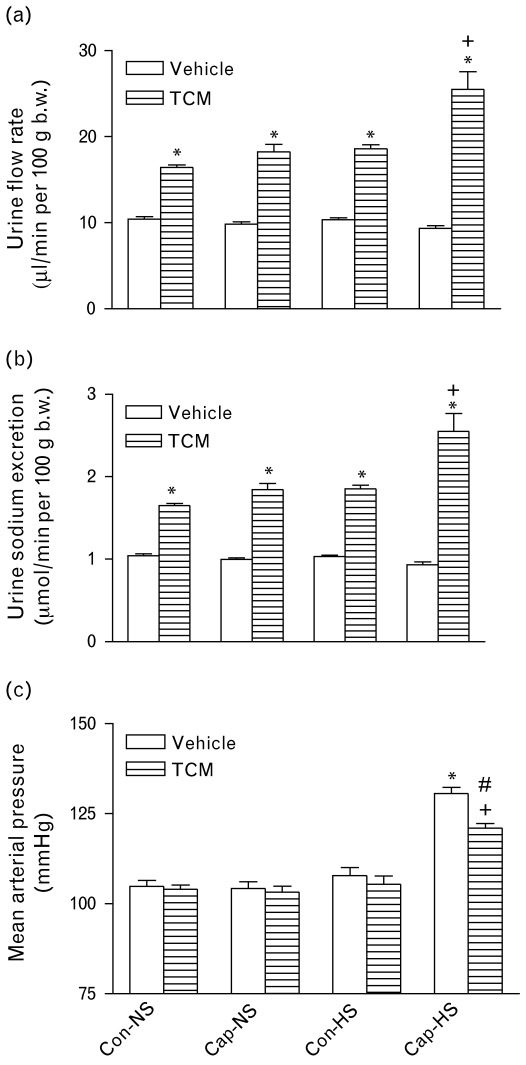
The right kidneys were removed. The renal cortex and medulla were separated. The total membrane protein of the renal cortex and medulla was extracted. Forty micrograms of each sample was loaded on a 10% sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel, and transferred to the polyvinylidene fluoride membrane as described previously [18]. The membranes were then incubated with rabbit anti-NKCC2 polyclonal antibody (1 μg/ml), rabbit anti-NCC polyclonal antibody (2.5 μg/ml), or rabbit anti-α-ENaC polyclonal antibody (2 μg/ml; Chemicon International, Temecula, California, USA) in blocking solution at 4°C overnight. After washing, the membranes were incubated with goat anti-rabbit IgG-horseradish peroxidase (1 : 2000; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA,) in blocking solution for 1 h at room temperature. The successive chemiluminescent detection was carried out as described previously [18]. The membranes were then stripped using Western blot recycling kit (Alpha Diagnostic International, San Antonio, Texas, USA) and reprobed with rabbit anti-β-actin polyclonal antibody (1 : 2000; Abcam, Cambridge, Massachusetts, USA). The intensity of the band was normalized with that of β-actin.

Statistical analysis

Values are expressed as mean ± SE. Differences between groups were determined by one-way analysis of variance followed by the Tukey–Kramer multiple comparison tests, and were considered statistically significant at $P < 0.05$.

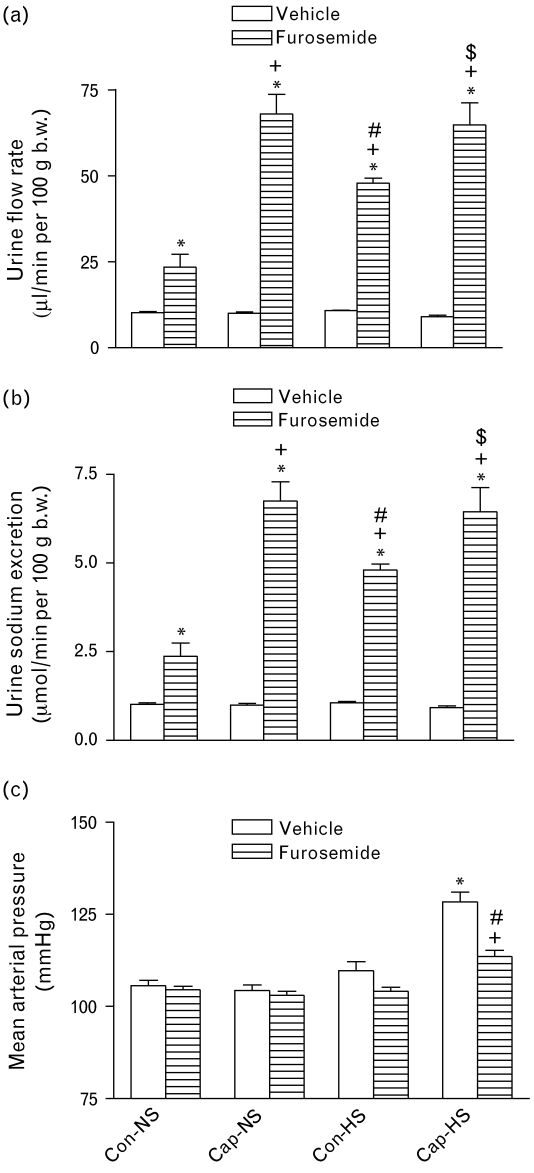
Results

Fig. 1



Natriuretic, diuretic and depressor effects observed 10 min after the administration of trichlormethiazide (10 mg/kg, intravenously), at which time the maximal natriuresis and diuresis were seen at the same time as the maximal reductions in blood pressure. (a) Urine flow rate. (b) Urine sodium excretion. $N = 5$, $^{*}P < 0.001$ versus vehicle of corresponding group; $^{+}P < 0.01$ versus trichlormethiazide of control rats with a normal sodium diet (Con-NS); trichlormethiazide of capsaicin-pretreated rats with a normal sodium diet (Cap-NS) and trichlormethiazide of control rats with a high sodium diet (Con-HS). (c) Mean arterial pressure. $N = 5$, $^{*}P < 0.01$ versus vehicle of Con-NS, Cap-NS and Con-HS rats; $^{+}P < 0.01$ versus trichlormethiazide of Con-NS, Cap-NS and Con-HS rats; $^{\#}P < 0.01$ versus vehicle of capsaicin-pretreated rats with a high sodium diet (Cap-HS). ▭ Vehicle; ▤ trichlormethiazide.

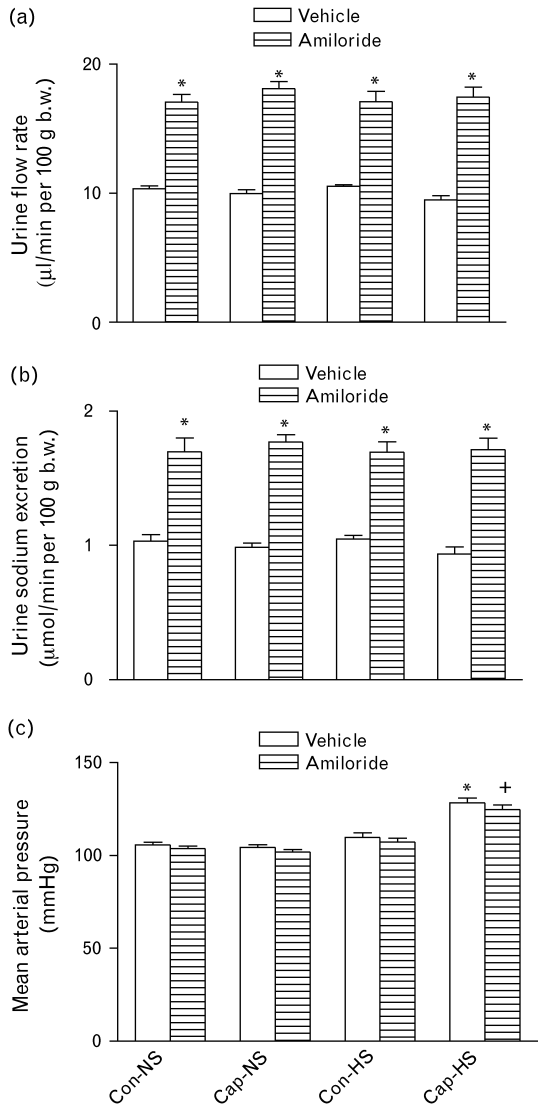
Fig. 2



Natriuretic, diuretic and depressor effects observed 5 min after the administration of furosemide (1 mg/kg, intravenously), at which time the maximal natriuresis and diuresis were seen at the same time as the maximal reductions in blood pressure. (a) Urine flow rate. (b) Urine sodium excretion. $N = 6$, $^{*}P < 0.001$ versus vehicle of corresponding group; $^{+}P < 0.01$ versus furosemide of control rats with a normal sodium diet (Con-NS), $^{\#}P < 0.01$ versus furosemide of capsaicin-pretreated rats with a normal sodium diet (Cap-NS), $^{\$}P < 0.05$ versus furosemide of control rats with a high sodium diet (Con-HS). (c) Mean arterial pressure. $N = 6$, $^{*}P < 0.001$ versus vehicle of Con-NS, Cap-NS and Con-HS rats; $^{+}P < 0.001$ versus furosemide of Con-NS, Cap-NS and Con-HS rats; $^{\#}P < 0.001$ versus vehicle of capsaicin-pretreated rats with a high sodium diet (Cap-HS). ▭ Vehicle; ▤ furosemide.

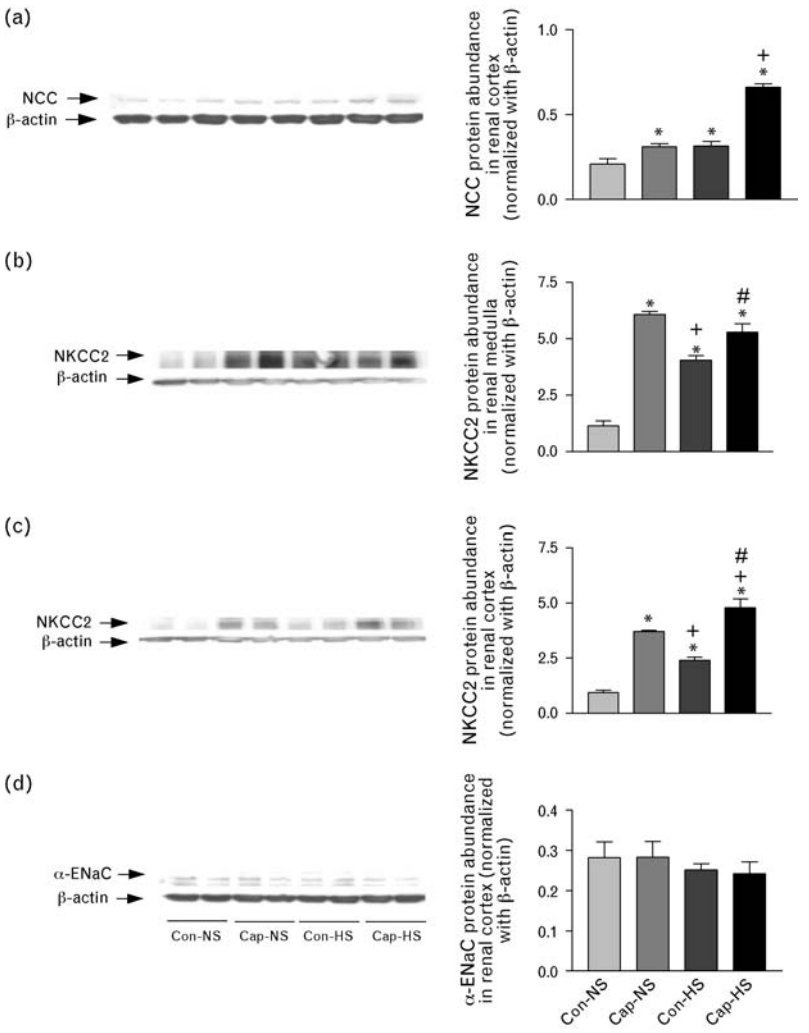
Discussion

Fig. 3



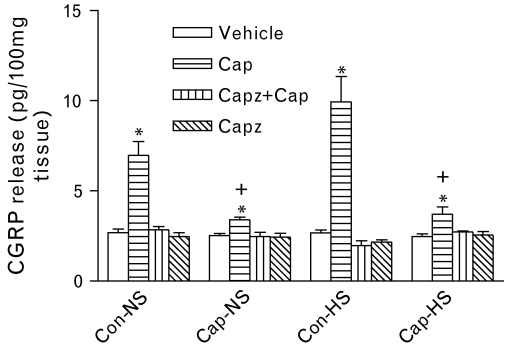
Natriuretic, diuretic and depressor effects observed 10 min after the administration of amiloride (1 mg/kg, intravenously), at which time the maximal natriuresis and diuresis were seen at the same time as the maximal reductions in blood pressure. (a) Urine flow rate. (b) Urine sodium excretion. $N = 5$, $^{*}P < 0.001$ versus vehicle of corresponding group. (c) Mean arterial pressure. $N = 5$, $^{*}P < 0.001$ versus vehicle of control rats with a normal sodium diet (Con-NS), vehicle of capsaicin-pretreated rats with a normal sodium diet (Cap-NS) and vehicle of control rats with a high sodium diet (Con-HS); $^{+}P < 0.01$ versus amiloride of Con-NS, Cap-NS and Con-HS rats. ▭ Vehicle; ▤ amiloride.

Fig. 4



Protein levels of thiazide-sensitive NaCl co-transporter (NCC), bumetanide-sensitive type 2 Na^+K^+2Cl co-transporter (NKCC) and amiloride-sensitive epithelial sodium channel α-subunit (α-ENaC) in the kidneys. The protein abundance was normalized with β-actin. (a) NCC abundance in the renal cortex. $N = 5$, $^*P < 0.05$ versus control rats with a normal sodium diet (Con-NS), $^+P < 0.01$ versus capsaicin-pretreated rats with a normal sodium diet (Cap-NS) and control rats with a high sodium diet (Con-HS). (b) NKCC2 abundance in the renal medulla. $N = 5$, $^*P < 0.01$ versus Con-NS rats, $^+P < 0.01$ versus Cap-NS rats, $^\#P < 0.05$ versus Con-HS rats. (c) NKCC2 abundance in the renal cortex. $N = 5$, $^*P < 0.01$ versus Con-NS rats, $^+P < 0.05$ versus Cap-NS rats, $^\#P < 0.01$ versus Con-HS rats. (d) α-ENaC abundance in the renal cortex. $N = 55$, $P > 0.05$.

Fig. 5



Effects of capsaicin (cap) with or without capsazepine (capz) on calcitonin gene-related peptide (CGRP) release from renal tissues. $N = 5$, $^{*}P < 0.05$ versus vehicle, capsazepine plus capsaicin and capsazepine; $^{+}P < 0.001$ versus capsaicin of control rats with a normal sodium diet (Con-NS) and capsaicin of control rats with a high sodium diet (Con-HS). ▭ Vehicle; ▤ capsaicin; ▦ capsazepine and capsaicin; ▨ capsazepine.

References

1 Kim GH, Masilamani S, Turner R, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA. The thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter is an aldosterone-induced protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; **95**:14552–14557.

2 Masilamani S, Kim GH, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA. Aldosterone-mediated regulation of ENaC α, β, and γ subunit proteins in rat kidney. *J Clin Invest* 1999; **104**:R19–R23.

3 Masilamani S, Wang X, Kim GH, Brooks H, Nielsen J, Nielsen S, *et al.* Time course of renal Na-K-ATPase, NHE3, NKCC2, NCC, and ENaC abundance changes with dietary NaCl restriction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; **283**:F648–F657.

4 Reeves WB, Andreoli TE. Tubular sodium transport. In: Schrier RW, editor. *Diseases of the kidney and urinary tract*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. pp. 135–175.

5 Scheinman SJ, Guay-Woodford LM, Thakker RV, Warnock DG. Genetic disorders of renal electrolyte transport. *N Engl J Med* 1999; **340**:1177–1187.

6 Shimkets RA, Warnock DG, Bositis CM, Nelson-Williams C, Hansson JH, Schambelan M, *et al.* Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the β subunit of the epithelial sodium channel. *Cell* 1994; **79**:407–414.

7 Alvarez-Guerra M, Garay RP. Renal Na-K-Cl cotransporter NKCC2 in Dahl salt-sensitive rats. *J Hypertens* 2002; **20**:721–727.

8 Kim SW, Wang W, Kwon TH, Knepper MA, Frokiaer J, Nielsen S. Increased expression of ENaC subunits and increased apical targeting of AQP2 in the kidneys of spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; **289**:F957–F968.

9 Huang Y, Wang DH. Role of renin–angiotensin–aldosterone system in salt-sensitive hypertension induced by sensory denervation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; **281**:H2143–H2149.

10 Wang DH, Li J. Antihypertensive mechanisms underlying a novel salt-sensitive hypertensive model induced by sensory denervation. *Hypertension* 1999; **33**:499–503.

11 Wang DH, Wu W, Lookingland KJ. Degeneration of capsaicin-sensitive sensory nerves leads to increased salt sensitivity through enhancement of sympathoexcitatory response. *Hypertension* 2001; **37**:440–443.

12 Ye DZ, Wang DH. Function and regulation of endothelin-1 and its receptors in salt sensitive hypertension induced by sensory nerve degeneration. *Hypertension* 2002; **39**:673–678.

13 Holzer-Petsche U, Lembeck F. Systemic capsaicin treatment impairs the micturition reflex in the rat. *Br J Pharmacol* 1984; **83**:935–941.

14 Fujita T, Kumagai Y, Ikeda Y, Inamura N, Iwata T, Ogino M, Majima M. Involvement of the renal kallikrein–kinin system in furosemide-induced natriuresis in rats. *Jpn J Pharmacol* 2000; **84**:133–139.

15 Ballew JR, Fink GD. Characterization of the antihypertensive effect of a thiazide diuretic in angiotensin II-induced hypertension. *J Hypertens* 2001; **19**:1601–1606.

16 Shalmi M, Thomsen K. Inhibition of tubular lithium reabsorption by amiloride in the conscious sodium-restricted rat. *Eur J Pharmacol* 1993; **230**:33–39.

17 Kopp UC, Cicha MZ. PGE_2 increases substance P release from renal pelvic sensory nerves via activation of N-type calcium channels. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999; **276**:R1241–R1248.

18 Li J, Kaminski NE, Wang DH. Anandamide-induced depressor effect in spontaneously hypertensive rats: role of the vanilloid receptor. *Hypertension* 2003; **41**:757–762.

19 Beaumont K, Vaughn DA, Casto R, Printz MP, Fanestil DD. Thiazide diuretic receptors in spontaneously hypertensive rats and 2-kidney 1-clip hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens A* 1990; **12**:215–226.

20 Capasso G, Rizzo M, Evangelista C, Ferrari P, Geelen G, Lang F, Bianchi G. Altered expression of rena apical plasma membrane Na^+ transports in the early phase of genetic hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; **288**:F1173–F1182.

21 Glorioso N, Filigheddu F, Troffa C, Soro A, Parpaglia PP, Tsikoudakis A, *et al.* Interaction of alpha(1)-Na,K-ATPase and Na,K,2Cl-cotransporter genes in human essential hypertension. *Hypertension* 2001; **38**:204–209.

22 Aviv A, Hollenberg NK, Weder A. Urinary potassium excretion and sodium sensitivity in blacks. *Hypertension* 2004; **43**:707–713.

23 Krieger JE, Roman RJ, Cowley AW. Hemodynamics and blood volume in angiotensin II salt-dependent hypertension in dogs. *Am J Physiol* 1989; **257**:H1402–H1412.

24 Ballew JR, Fink GD. Characterization of the antihypertensive effect of a thiazide diuretic in angiotensin II-induced hypertension. *J Hypertens* 2001; **19**:1601–1606.

25 Pickkers P, Dormans T, Russel F, Hughes A, Thien T, Schaper N, Smits P. Direct vascular effects of furosemide in humans. *Circulation* 1997; **96**:1847–1852.

26 May A, Puoti A, Gaeggeler HP, Horisberger JD, Rossier BC. Early effect of aldosterone on the rate of synthesis of the epithelial sodium channel alpha subunit in A6 renal cells. *J Am Soc Nephrol* 1997; **8**:1813–1822.

27 Cowley AW, Roman RJ. The role of the kidney in hypertension. *JAMA* 1996; **275**:1581–1589.

28 Kwon TH, Nielsen J, Kim YH, Knepper MA, Frokiaer J, Nielsen S. Regulation of sodium transporters in the thick ascending limb of rat kidney: response to angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **285**:F152–F165.

29 Eihawary AM, Pang CC. Renal vascular and tubular action of calcitonin gene-related peptide: effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; **273**:56–63.

30 DiBona GF, Jones SY, Kopp UC. Renal mechanoreceptor dysfunction: an intermediate phenotype in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1999; **33**:472–475.

31 Barajas L, Powers K. Innervation of the renal proximal convoluted tubule of the rat. *Am J Anat* 1989; **186**:378–388.

32 Bajaras L, Powers KV. Innervation of the thick ascending limb of Henle. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1988; **255**:F340–F348.

33 Slick GL, Aguilera AJ, Zambraski EJ, DiBona GF, Kaloyanides GJ. Renal neuroadrenergic transmission. *Am J Physiol* 1975; **229**:60–65.

34 DiBona GF. Neurogenic regulation of renal tubular sodium reabsorption. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1977; **233**:F73–F81.

35 Jonassen TE, Brond L, Torp M, Graebe M, Nielsen S, Skott O, *et al.* Effects of renal denervation on tubular sodium handling in rats with CBL-induced liver cirrhosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **284**:F555–F563.

36 Daugharty TM, Ueki IF, Nicholas DP, Brenner BM. Renal response to chronic intravenous salt loading in the rat. *J Clin Invest* 1973; **52**:21–31.

37 Ecelbarger CA, Terris J, Nielsen S, Wade JB, Knepper MA. Localization and regulation of the rat renal Na(+)-K(+)-2Cl-co-transporter, BSC-1. *Am J Physiol* 1996; **271**:F619–F628.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC COMPL M1-3*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC COMPL M1-4/M1-6*

DFGSP3 et DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1 (1 sur 2 fascicules)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 question
- Des pages vierges pour composer

L'article est sur fascicule séparé (fascicule n°2)

Note

Nom du tuteur de l'article :

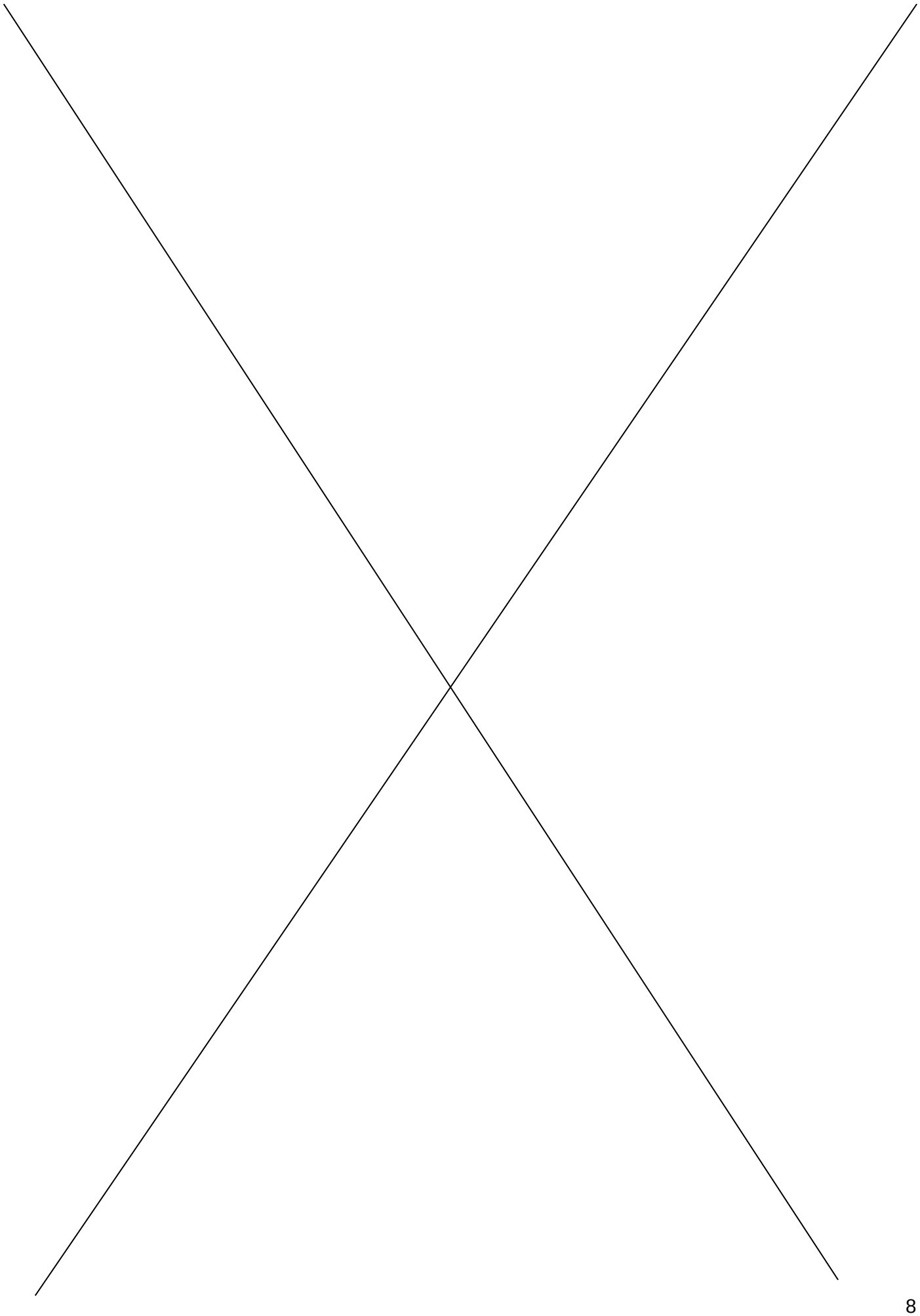
Calculatrice autorisée
Dictionnaire français/anglais « papier » autorisé
Surligneurs autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 *pages numérotées de 1 à 8*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession d'1 fascicule et de l'article (qui constitue le fascicule 2)

UELC COMPL M1 (3 et 4 A)
Noms du responsable enseignant de l'UELC : Audrey Janoly-Duménil

Question : Description, commentaire et analyse des résultats de l’article scientifique.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC COMPL M1-3*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC COMPL M1-4/M1-6*

DFGSP3 et DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1 (1 sur 2 fascicules)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 question
- Des pages vierges pour composer

L'article est sur fascicule séparé (fascicule n°2)

Note

Nom du tuteur de l'article :

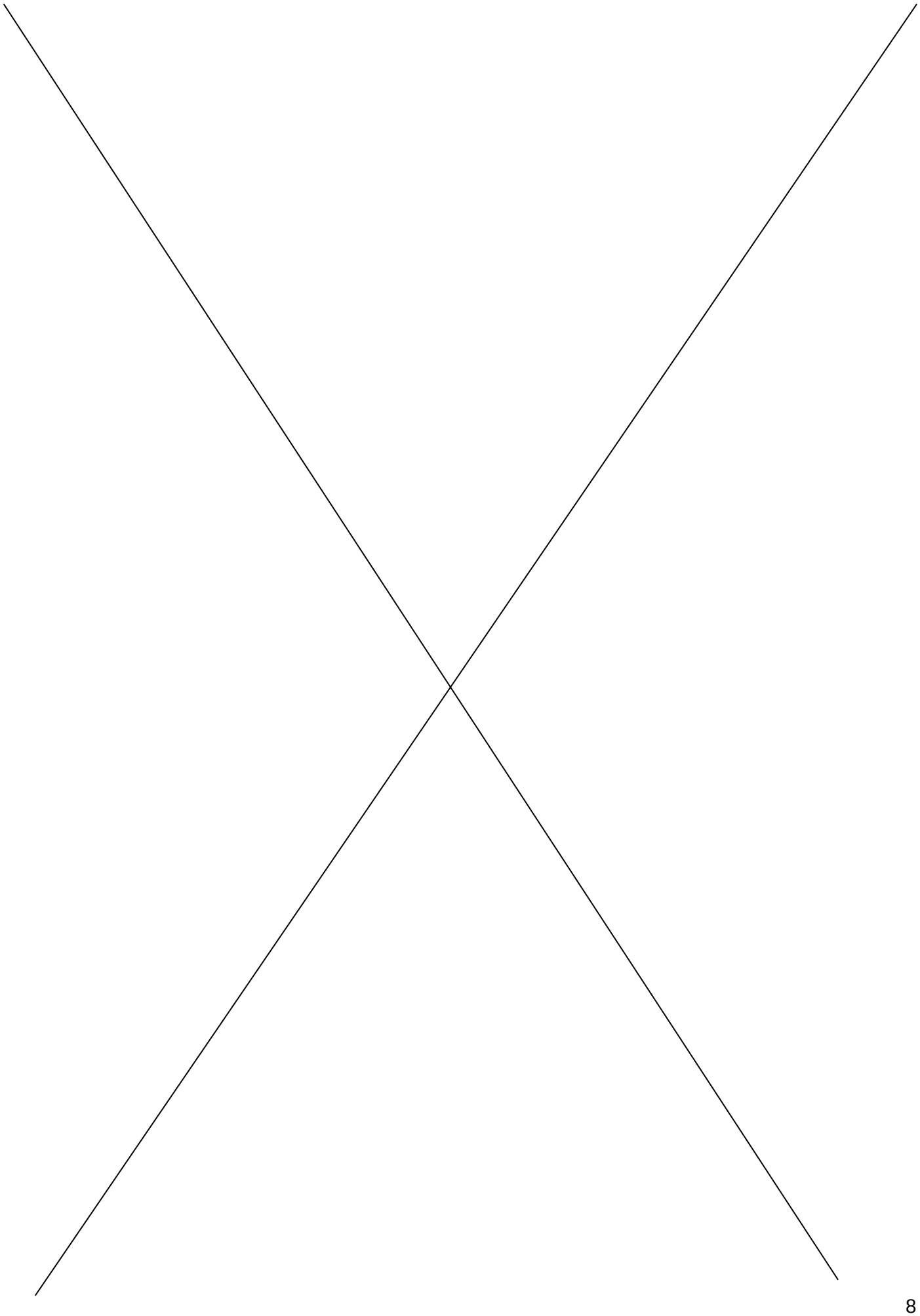
Calculatrice autorisée
Dictionnaire français/anglais « papier » autorisé
Surligneurs autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 *pages numérotées de 1 à 8*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession d'1 fascicule et de l'article (qui constitue le fascicule 2)

UELC COMPL M1 (3 et 4 A)
Noms du responsable enseignant de l'UELC : Audrey Janoly-Duménil

Question : Description, commentaire et analyse des résultats de l’article scientifique.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Cycle de Conférence*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE UELC Cycle de Conférence

Année 2023/ 2024

Session initiale

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 30 minutes, comprenant 1 fascicule

Ce fascicule comprend :

- 7 questions rédactionnelles

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté(s) de 1 à 5

UELC Cycle de conférence

Nom(s) du(des) responsable(s) : Christine Vinciguerra ; Anne Doléans-Jordheim

Question 1 : Q1 : Les poisons à travers les âges.

Q1-1 Citez les différentes origines des poisons, avec un exemple par origine

Q1-2 Retracez 3 événements historiques en lien avec les poisons à 3 périodes différentes de l'histoire : Antiquité / Moyen âge et Renaissance / Ere moderne.

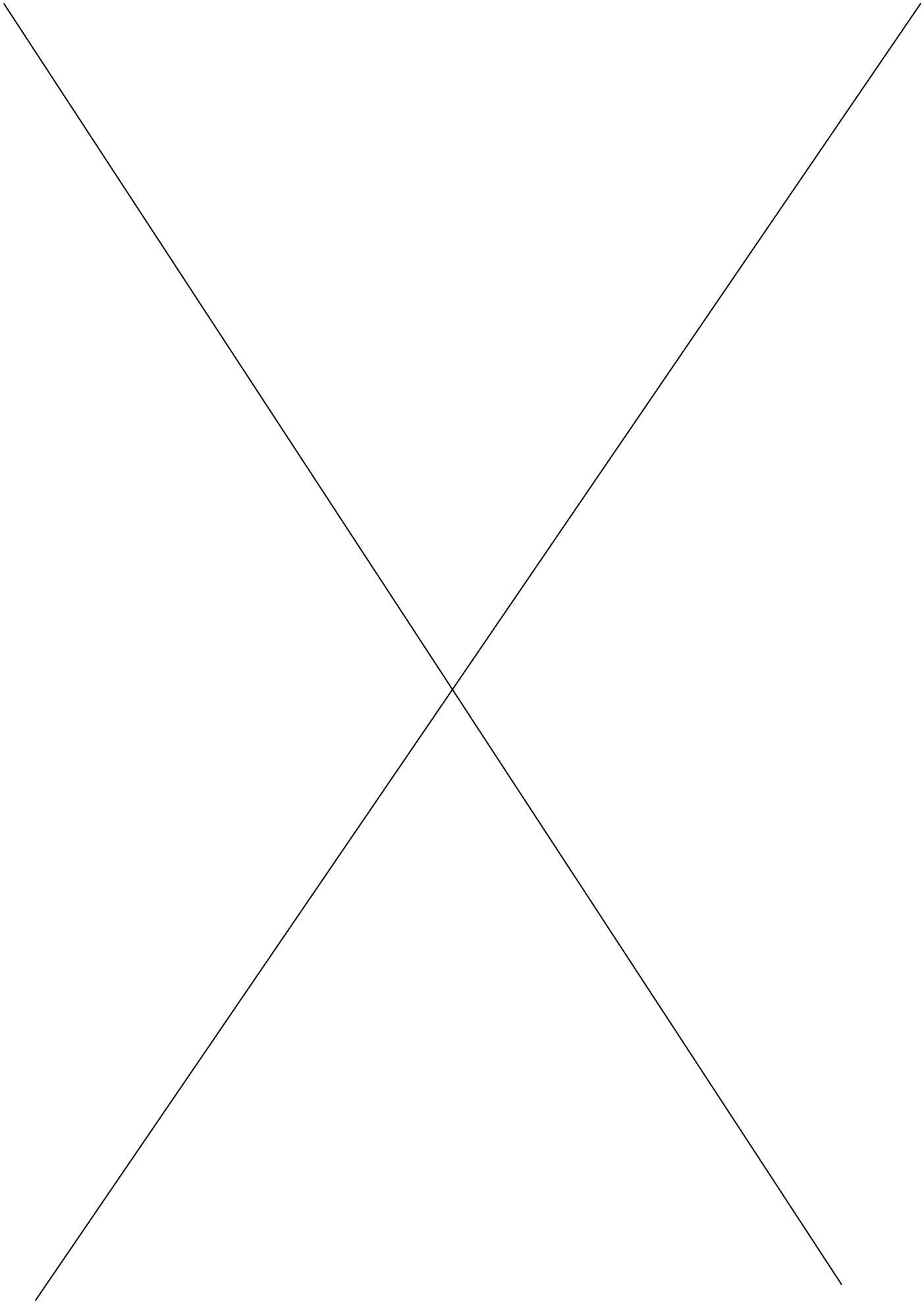
Q2 : La distribution corporelle de l'eau : préciser les différences liées à l'âge et celles existants entre les hommes et les femmes. Comment s'expliquent-elles ?

Q3 : Une dépression périnatale se traduit par des signes chez la mère mais aussi chez l'enfant. Quels sont, chez ce dernier, les troubles qui peuvent être observés ?

Q4 : Quels sont les 2 mécanismes responsables d'interactions médicamenteuses ?

Q5 : Quel est l'intérêt d'associer le Ritonavir à d'autres principes actifs ? Quels sont les inconvénients ?

Q6 : Quelles sont les informations / éléments qui vous ont le plus marqué lors de la conférence sur le paludisme ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

Epreuve de : **UELC « Economie de la Santé »**

Réservé au Secrétariat

Epreuve de « UELC Economie de la Santé »

DFGSP 2 et 3 et DFASP 1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 3)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30 min, comprenant 3 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend deux questions pour la partie « Systèmes de Santé » et un texte

Note

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 3 fascicules numérotés de 1 à 3

Nom de l'UE : UELC Economie de la Santé
Noms des responsables de l'UE : Nora Moumjid et Hans Späth

« Systèmes de Santé » (8 points)

Question 1 (8 points)

En bas de la page 3 de ce fascicule vous trouverez un extrait d'un communiqué de presse de l'ARS Auvergne Rhône-Alpes (AuRA). Après lecture de ce texte, vous répondrez aux deux questions suivantes en tenant compte des informations du texte et de vos connaissances.

Question 1.1. (5 points)

Indiquez deux organismes institutionnels nationaux du système de santé français à qui l'ARS AuRA peut demander des conseils pour gérer l'épidémie de rougeole mentionnée dans le texte et expliquez quels conseils ces organismes pourront fournir à l'ARS.

Question 1.2. (3 points)
Expliquez trois actions que l'ARS AuRA pourra mettre en œuvre pour limiter l'impact de l'épidémie de rougeole.
.

Point presse: Cas de rougeole dans l'Est lyonnais

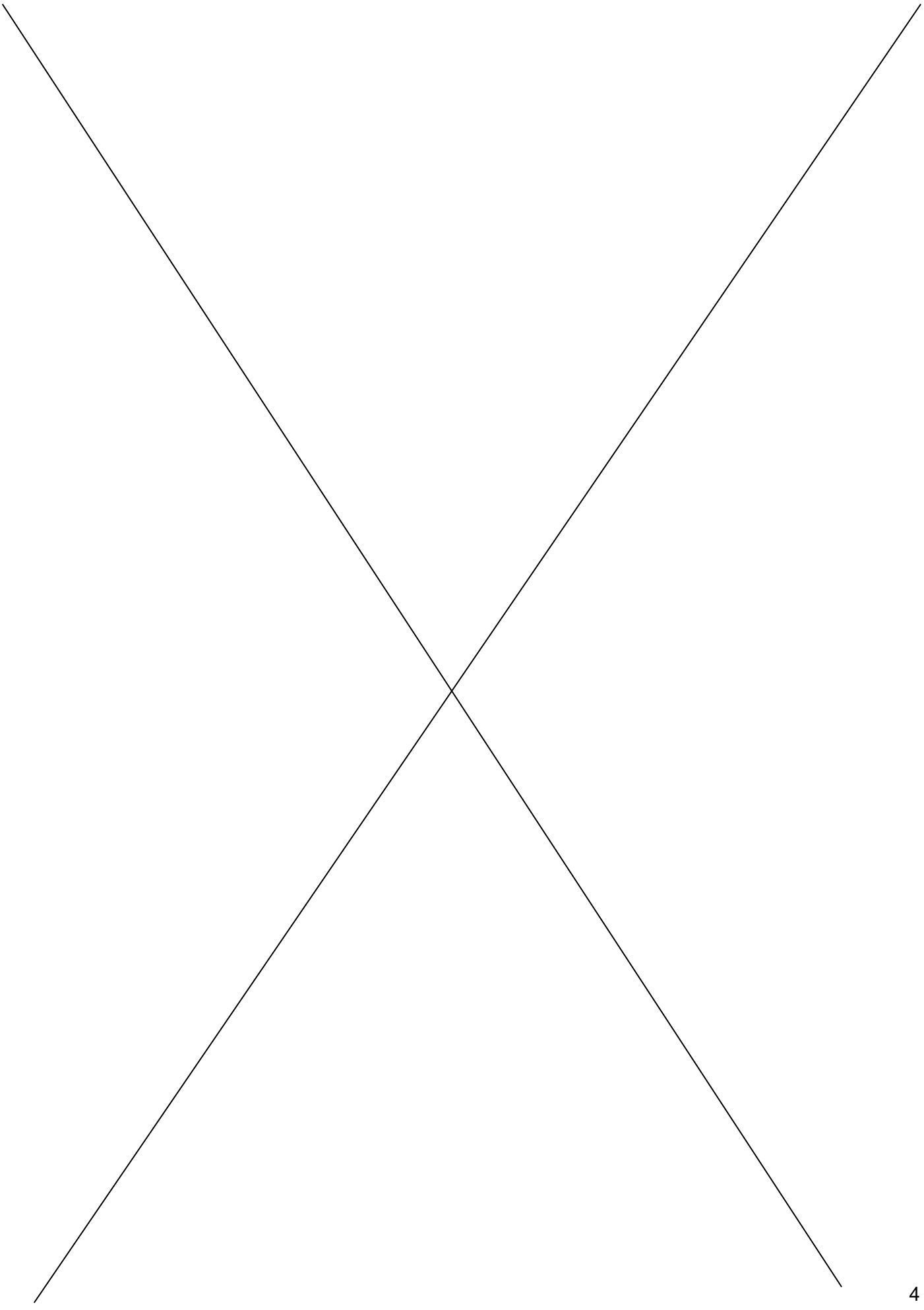
Communiqué de presse de l'ARS Auvergne Rhône-Alpes du 13 mars 2024

Cette épidémie concerne une majorité d'enfants (22 sur 25 cas crèche) sans lien retrouvé entre elles mais situées dans 4 communes voisines urbaines jouxtant la ville de Lyon. Le cas groupé en crèche concerne 7 enfants de moins de 13 mois non vaccinés dont 5 ont été hospitalisés.

Contexte et Synthèse

Le 22 janvier 2024, l'ARS Auvergne-Rhône-Alpes a reçu le signalement d'un cas de rougeole chez un enfant non vacciné scolarisé dans une école privée de Décines dans le Rhône. Cet enfant était de retour de voyage. D'autres signalements en lien avec cet établissement ou des membres de leur famille ont ensuite été reçus. A partir de mi-février, de nouveaux cas de rougeole ont été signalés dans la zone de l'Est Lyonnais entre Décines, Meyzieu, Bron, Saint-Priest, sans lien retrouvé avec le premier établissement scolaire.

Cette situation est en faveur d'un probable début de transmission du virus de la rougeole dans l'Est lyonnais [….].



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

Epreuve de : **UELC « Economie de la Santé »**

Réservé au Secrétariat

Epreuve de « UELC Economie de la Santé »

DFGSP 2 et 3 et DFASP 1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 2 (de 1 à 3)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30 min, comprenant 3 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend deux questions pour la partie « Dépenses de Santé »

Note

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 3 fascicules numérotés de 1 à 3

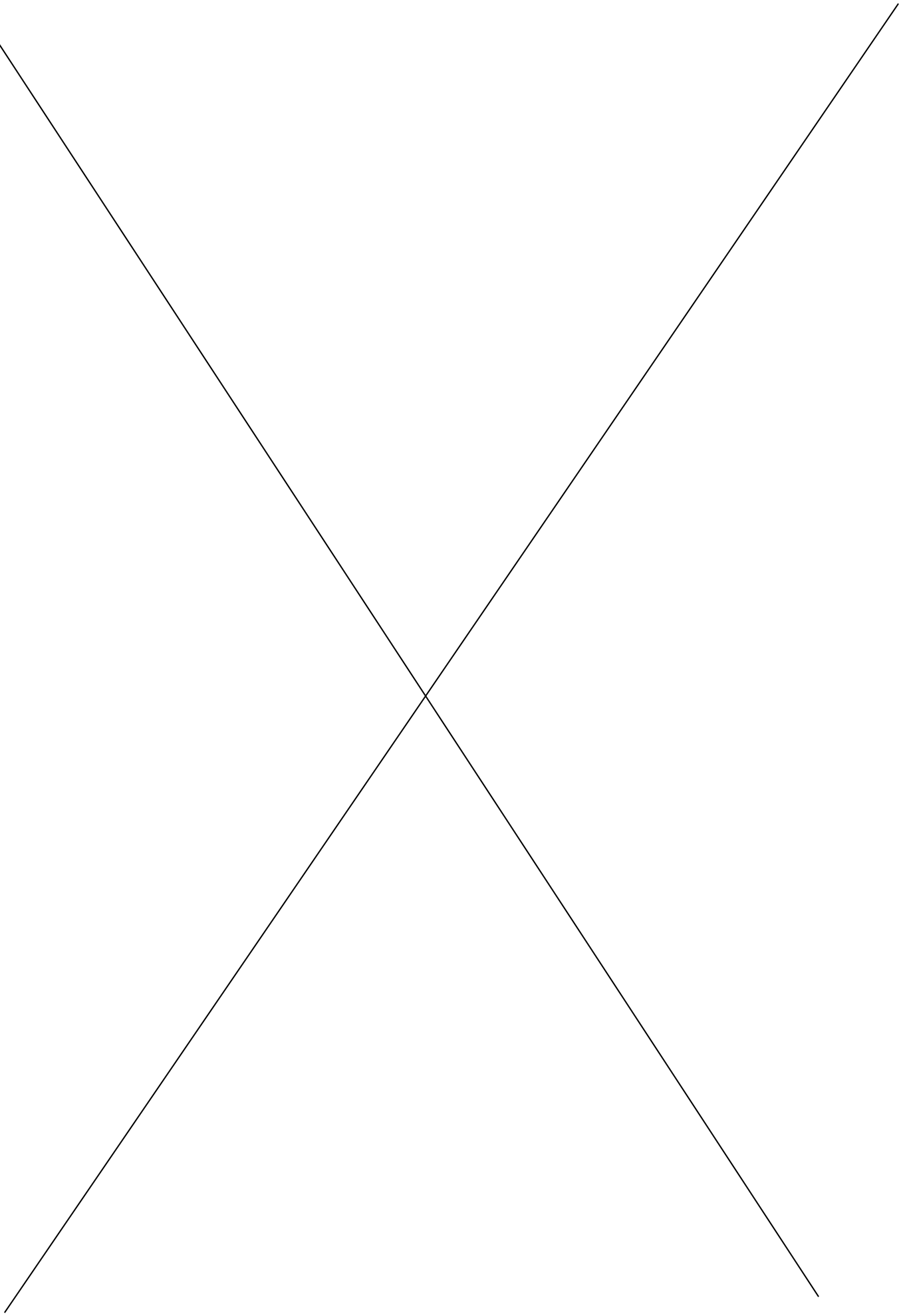
Nom de l'UE : UELC Economie de la Santé
Noms des responsables de l'UE : Nora Moumjid et Hans Späth

« Dépenses de santé » : deux questions (6 points)

Question 1 (3 points)
Vous êtes Ministre de la Santé. Dans votre politique de maîtrise des dépenses de santé, quel poste dans la consommation de soins et biens médicaux choisissez-vous comme poste prioritaire pour maîtriser les dépenses de santé ? Présentez deux raisons qui expliquent ce choix.

Question 2 (3 points)

Présentez deux moyens que vous utilisez au sein de ce poste pour maîtriser les dépenses avec pour chacun un avantage et une limite.



RESERVE AU SECRETARIAT

NOM et Prénoms :

Epreuve de : **UELC « Economie de la Santé »**

Réservé au Secrétariat

Epreuve de « UELC Economie de la Santé »

DFGSP 2 et 3 et DFASP 1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 3 (de 1 à 3)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30 min, comprenant 3 fascicules

Ce fascicule n°3 pour la partie « Evaluation médico-économique » comprend un exercice avec quatre questions et une annexe

NOTE

Calculatrice : autorisée

I. J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

II. J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 3 fascicules numérotés de 1 à 3

Nom de l'UE : UELC Economie de la Santé
Noms des responsables de l'UE : Nora Moumjid et Hans Späth

Exercice (6 points)

Exercice : Une étude médico-économique comparant un traitement innovant à un traitement standard sur un horizon temporel de 2 ans a permis d'obtenir les résultats suivants :

	T.Standard			T.Innovant		
	État initial-6 mois	6-12 mois	12 -24 mois	État initial-6 mois	6-12 mois	12 -24 mois
Coût moyen (€)	300	400	300	1000	1200	800
Réponse EQ5D	11122	12112	11122	11122	11113	11112
Score d'utilité						

Question 1 (1 points) :
Calculer les scores d'utilité. Vous trouverez dans le tableau ci-dessus : les réponses aux questionnaires EQ5D pour deux patients types (le tableau fourni en annexe rappelle la formule de scorage du questionnaire EQ5D).

Question 2 (2 points) :
Représenter le diagramme des QALYs et calculer les QALYs associés à chacune des interventions.

Question 3 (2 points) :
Calculer le ratio coût-utilité de la stratégie innovante par rapport à la stratégie standard. Interprétez-le.

Question 4 (1 point) : adopteriez-vous la stratégie innovante, justifiez ?

ANNEXE

Fiche technique 3.2. Système de classification EQ-5D

■ Questionnaire

Pour utiliser cet instrument, il est nécessaire d'enregistrer son projet d'étude auprès de l'Euroqol group, lequel vous renseignera sur les conditions d'utilisation, y compris sur les frais de licence s'ils sont applicables.

Toutes les informations nécessaires sont accessibles sur le site www.euroqol.org

Mobilité

Je n'ai aucun problème pour me déplacer à pied ❑
J'ai des problèmes pour me déplacer à pied ❑
Je suis obligé(e) de rester alité(e) ❑

Autonomie de la personne

Je n'ai aucun problème pour prendre soin de moi ❑
J'ai des problèmes pour me laver ou m'habiller tout(e) seul(e) ❑
Je suis incapable de me laver ou de m'habiller tout(e) seul(e) ❑

Activités courantes (*exemples : travail, études, travaux domestiques, activités familiales ou loisirs*)

Je n'ai aucun problème pour accomplir mes activités courantes ❑
J'ai des problèmes pour accomplir mes activités courantes ❑
Je suis incapable d'accomplir mes activités courantes ❑

Douleurs/gêne

Je n'ai ni douleurs, ni gêne ❑
J'ai des douleurs ou une gêne modérée(s) ❑
J'ai des douleurs ou une gêne extrême(s) ❑

Anxiété/dépression

Je ne suis ni anxieux(se), ni déprimé(e) ❑
Je suis modérément anxieux(se) ou déprimé(e) ❑
Je suis extrêmement anxieux(se) ou déprimé(e) ❑

'© 1990 EuroQol Group. EQ-5D™ is a trade mark of the EuroQol Group

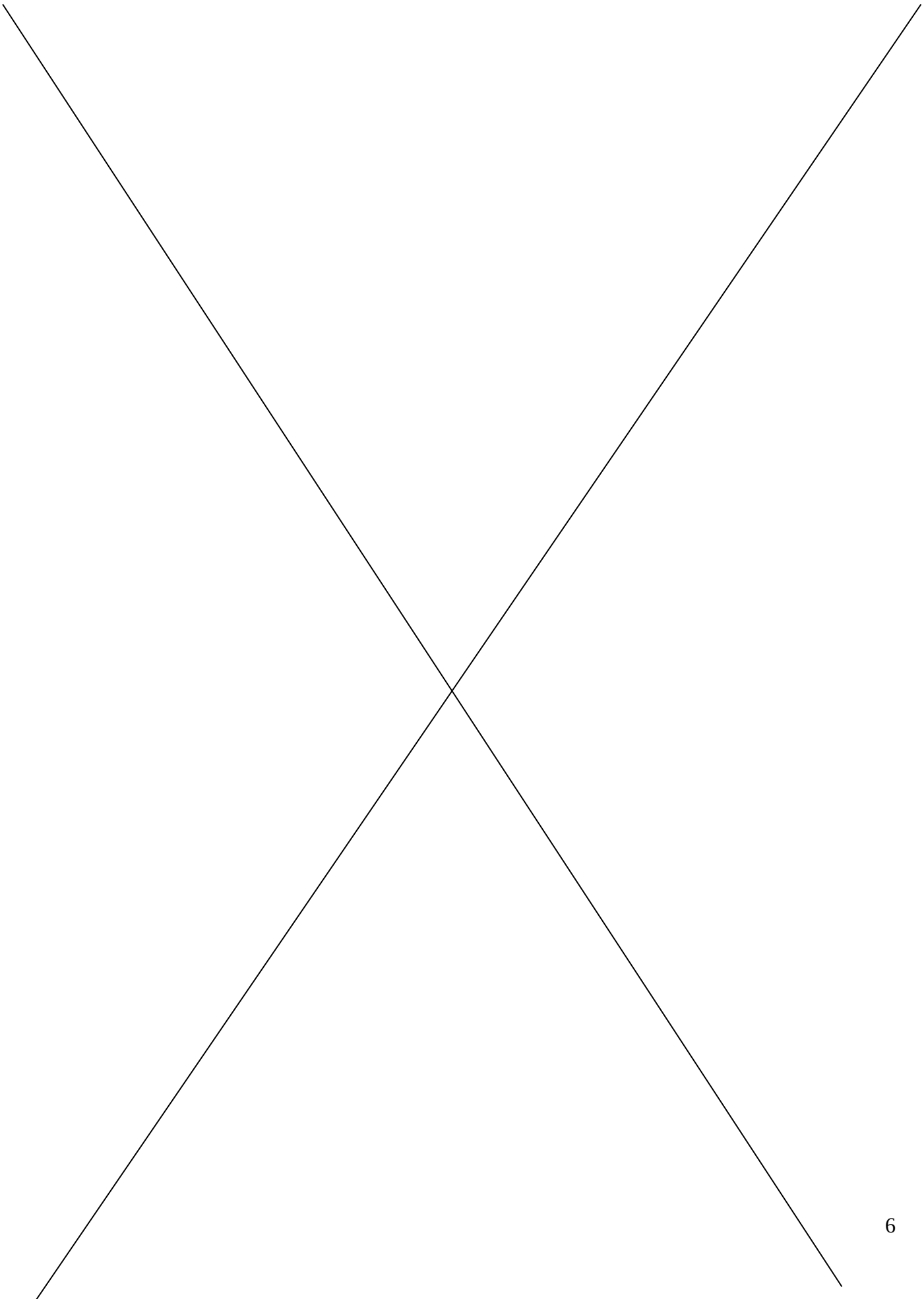
- **Matrice de pondération**

Dimension	Niveau de réponse	Score de préférence	
Mobilité	1		0
	2	u1	0,15
	3		0,37
Autonomie de la personne	1		0
	2	u2	0,21
	3		0,32
Activités courantes	1		0
	2	u3	0,16
	3		0,19
Douleurs / gênes	1		0
	2	u4	0,11
	3		0,26
Anxiété / dépression	1		0
	2	u5	0,09
	3		0,20
Constante	Si au moins une dimension est au niveau 3	N3	0,17

Source : Chevalier 2010

- **Fonction de scorage**

U(E) = 1 – u1 - u2 - u3 - u4 - u5 – N3



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Algèbre*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ALGEBRE

UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

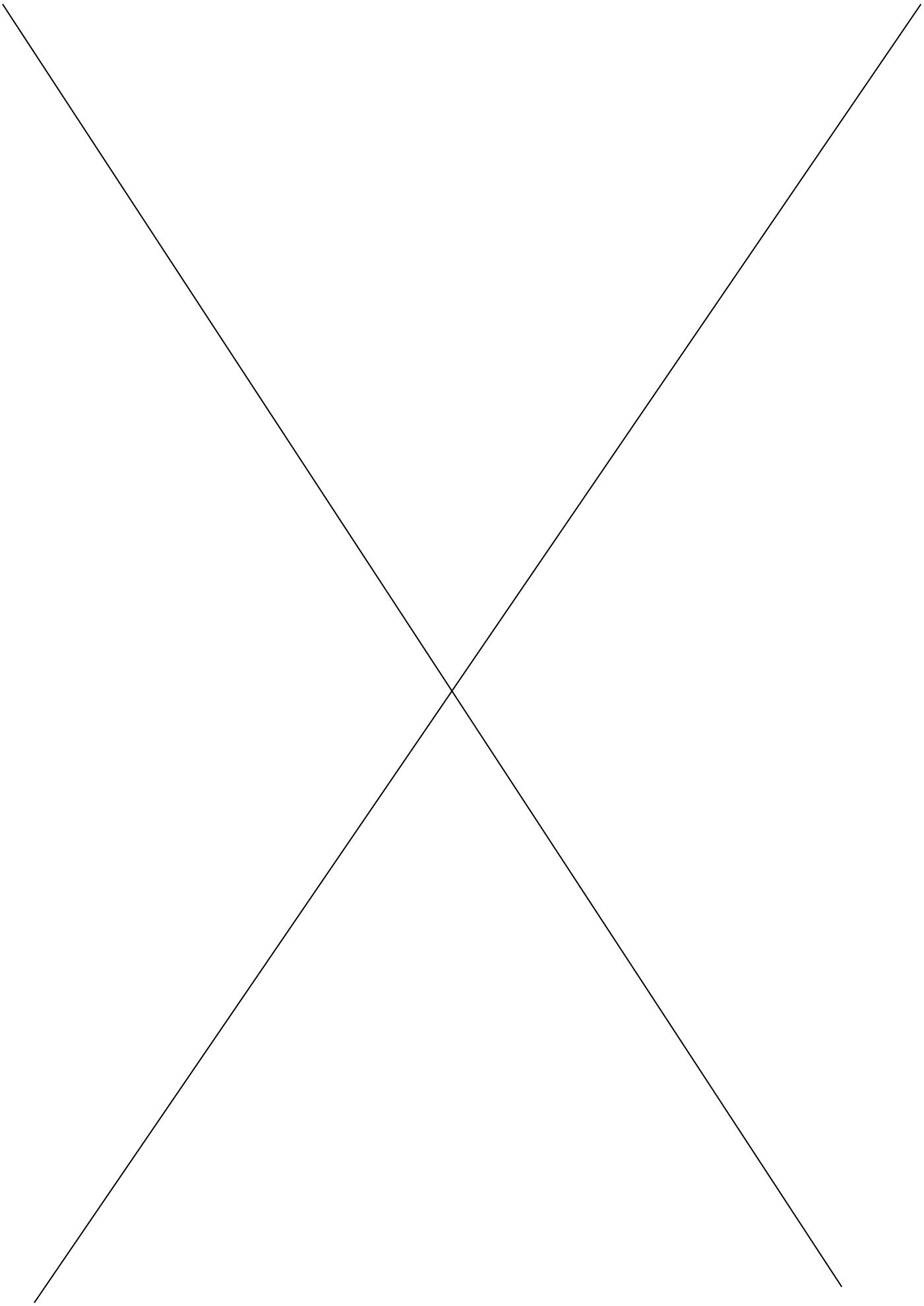
L'épreuve comprend :

- sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Algèbre
M-A Dronne



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Algèbre*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ALGEBRE

UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

L'épreuve comprend :

- sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Algèbre
M-A Dronne

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

L'épreuve comprend :

- Sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : documents papiers, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Analyse
L. Brandolese

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
1ère Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

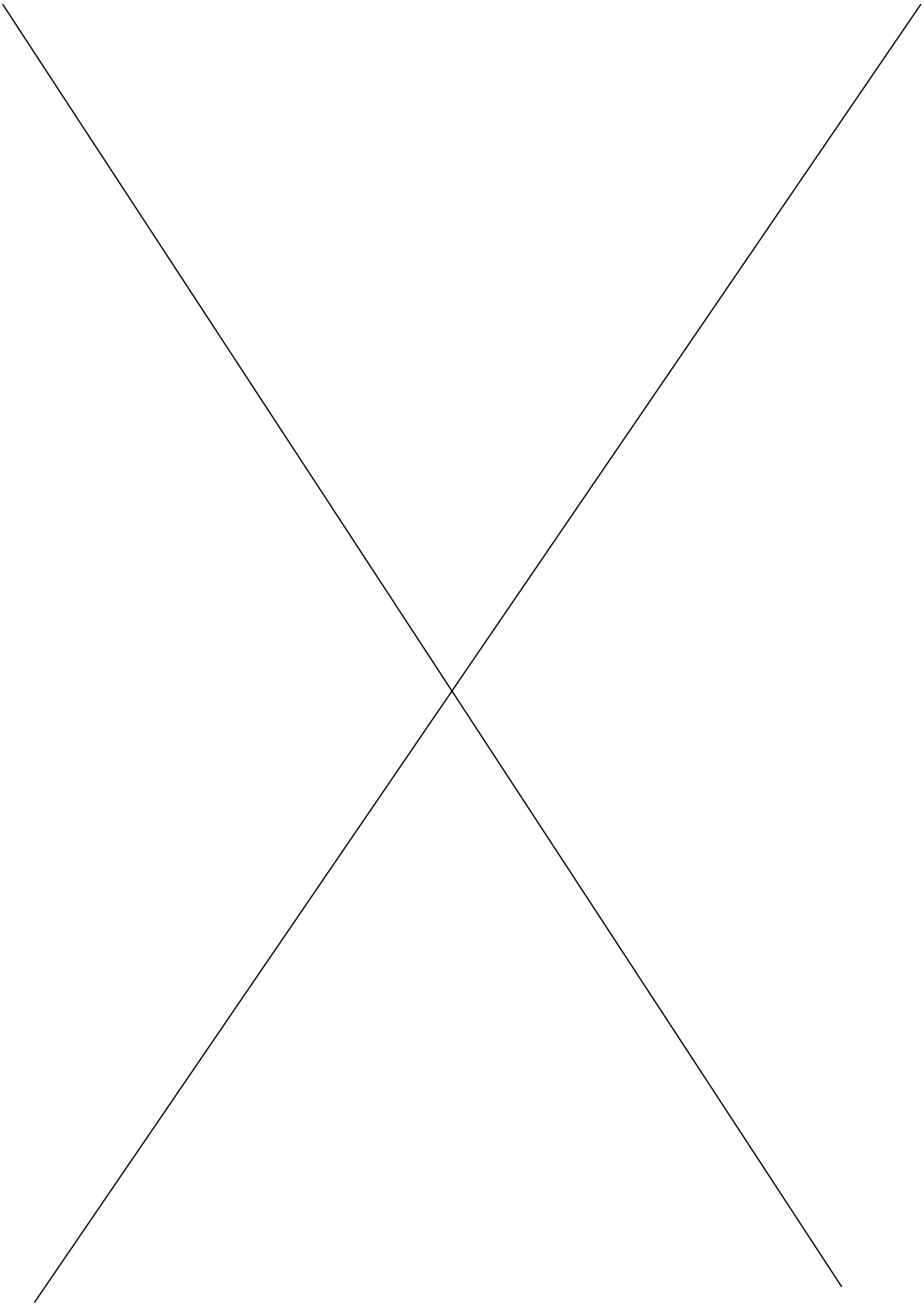
L'épreuve comprend :

- Sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : documents papiers, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Analyse
L. Brandolese



Nom
Prénom

UELC Ingénieur 6 : IRM
COMPOSER DIRECTEMENT SUR LE SUJET

Question 1 : Qu'est-ce que le phénomène de supraconductivité ?

Question 2 : Décrivez l'impact sur l'aimantation globale M0 d'une impulsion de radio fréquence de 90° transmise par une antenne d'émission.

Question 3 : Énoncez la définition du temps de relaxation T2, tout en rappelant l'équation de Bloch correspondante à ce phénomène de relaxation.

Question 4 : Listez les 3 types de gradients de champs magnétique essentiels dans le codage spatial du signal IRM.

Nom
Prénom

UELC Ingénieur 6 : TEMP/Scintigraphie Gamma
COMPOSER DIRECTEMENT SUR LE SUJET

Question 1 : Citer les principaux radioisotopes utilisés en scintigraphie gamma et tomographie à émission monophotonique (TEMP). Quelles sont leurs caractéristiques ?

Question 2 : Dans le domaine des énergies utilisées en médecine nucléaire, quels sont les deux principales interactions rayonnement-matière ? Laquelle est à privilégier ? A éviter ?

Question 3 : Citer les différents composants d'une gamma-caméra Anger ainsi que leurs rôles

Nom
Prénom

UELC Ingénieur 6 : TEP
COMPOSER DIRECTEMENT SUR LE SUJET

1- Citer 2 isotopes pour l'imagerie par tomographie par émission de positon (TEP)

2- En imagerie TEP, à quoi correspondent les coïncidences diffusées ? Quelles sont les conséquences de ces coïncidences et comment peut-on les corriger ?

3- Définir 3 critères de performance des caméras TEP.

Nom

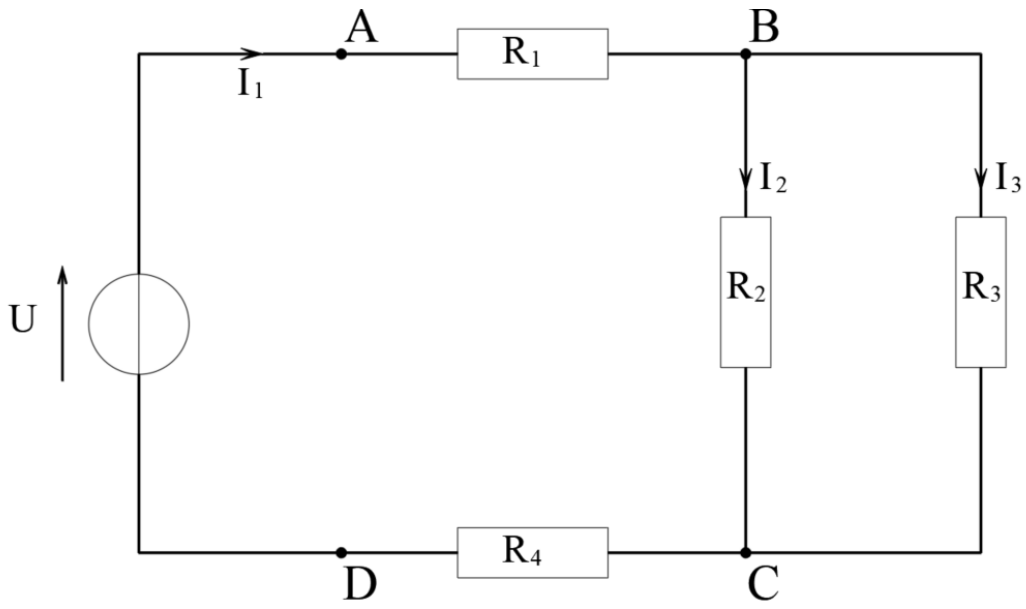
Prénom

UELC Ingénieur 6 : Electricité

COMPOSER DIRECTEMENT SUR LE SUJET

Exercice 1 :

Soit le circuit suivant, composé des résistors R_1, R_2, R_3, et R_4 dont les résistances ont pour valeurs respectives 5 Ω, 10 Ω, 10 Ω et 5 Ω. La tension aux bornes du générateur idéal de tension est U = 12 V.



1) Que vaut la résistance équivalente entre les points A et D ?

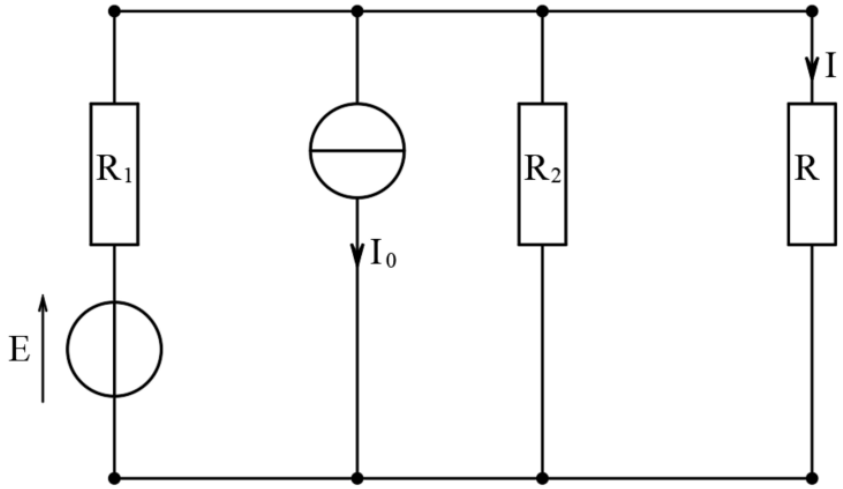
2) Calculez l'intensité I_1

3) Déterminez la puissance électrique consommée par R_1

4) Calculez les intensités I_2 et I_3

Exercice 2 : Modélisations de Thévenin et Norton

Soit le circuit électrique ci-dessous :



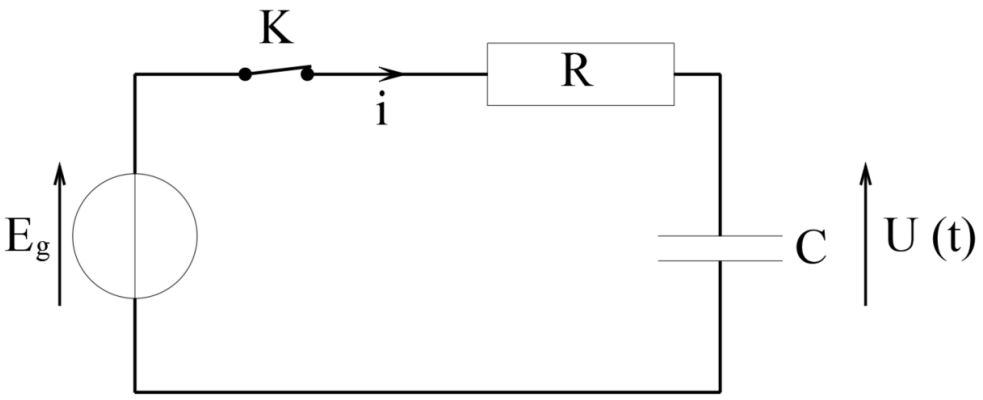
On donne : E= 3 V, R_1=50 Ω; R_2=200 Ω; R= 160 Ω et I_0 = 20 mA

Calculer l'intensité I du courant circulant dans le résistor de résistance R en appliquant la méthode des transformations successives Thévenin/Norton.

Exercice 3 : Circuit RC

Considérons le circuit ci-dessous comprenant un générateur idéal de tension de f.e.m. Eg, un condensateur de capacité C et un résistor de résistance R.

Le condensateur est initialement déchargé. On ferme l'interrupteur K à t = 0.



1) Que vaut la tension aux bornes du condensateur U(t) en fonction de t, Eg, R et C ?

2) Au bout de combien de temps le condensateur sera-t-il chargé à 90 % ? Donnez l'expression de ce temps en fonction de R et C.

3) Que vaut l’intensité i(t) dans ce circuit, en fonction de t, Eg, R et C ?

Nom

Prénom

UELC Ingénieur 6 : Échographie

COMPOSER DIRECTEMENT SUR LE SUJET

I) Expliquez brièvement le principe de l'échographie

Vous expliquerez notamment :

-quel est le type de source utilisé,

-pourquoi on utilise un gel entre la sonde et la peau,

-quelles sont les informations que l'on peut obtenir lors de l'exploration d'un organe avec une échographie « classique »

II) Expliquez quelles sont les informations pouvant être obtenues plus particulièrement :

a) avec l'échographie « Doppler ». Donnez un exemple d'affection pouvant être étudiée avec cette méthode.

b) avec l'échographie « de contraste », ECUS. Donnez un exemple d'affection pouvant être étudiée avec cette méthode.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice de Pharmacocinétique

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 8 pages numérotées de 1 à 8

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

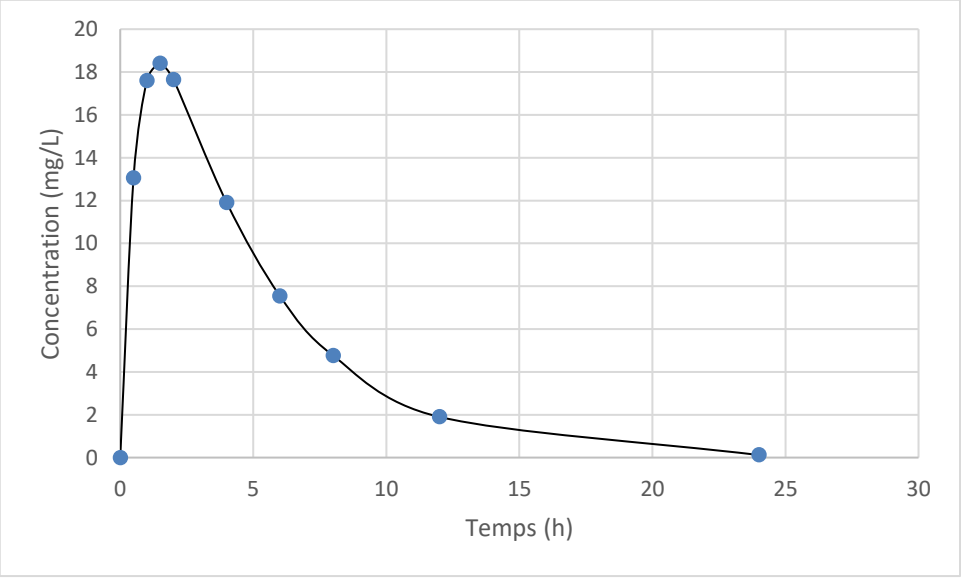
Correcteur : Magali Larger

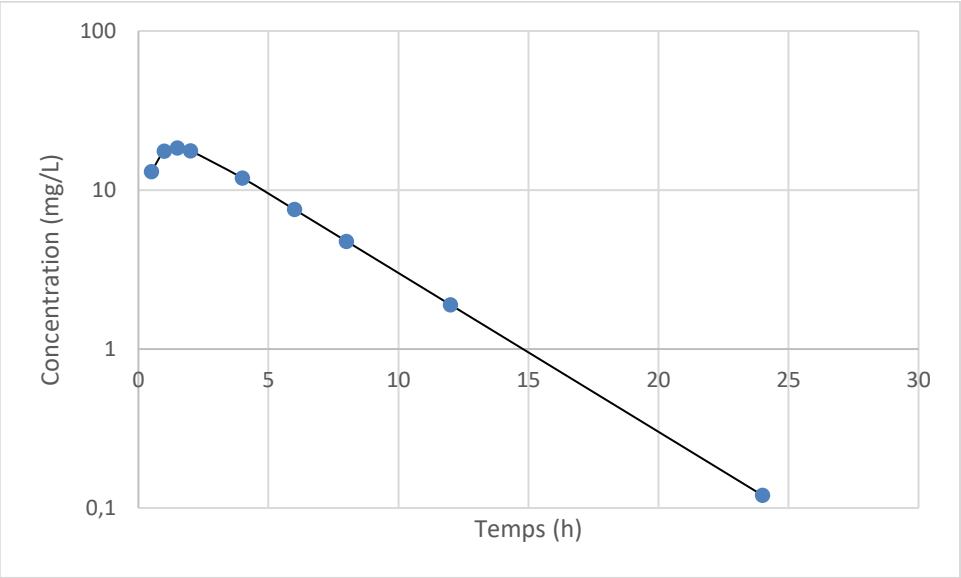
UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

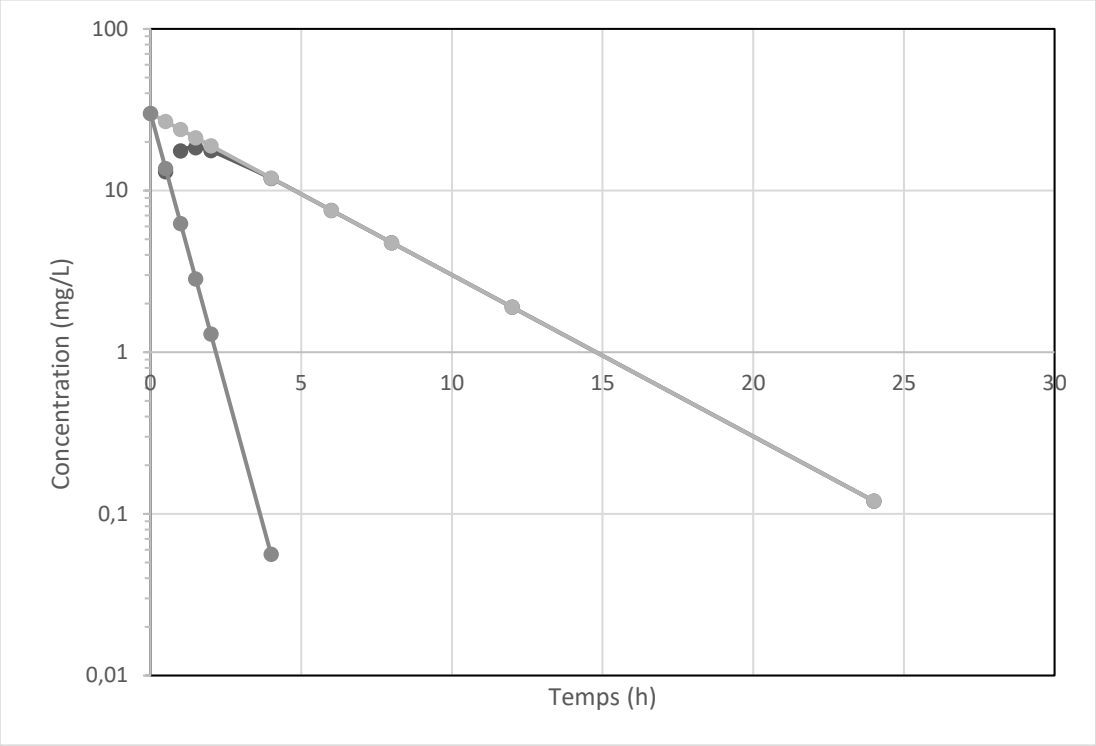
Un antibiotique est administré par voie orale à la dose de 500 mg. La biodisponibilité absolue est de 90%.

Les graphes concentrations en fonction du temps en coordonnées normales et lognormales, l'exploitation graphique de la courbe concentrations en fonction du temps ainsi que le tableau des données expérimentales sont donnés ci-dessous.

Temps (h)	Concentration (mg/L)
0	0
0.5	13.057
1	17.595
1.5	18.400
2	17.640
4	11.899
6	7.545
8	4.764
12	1.899
24	0.120







Question 1 : A combien de compartiment cette cinétique correspond-elle ? Justifier votre réponse.

Question 2 : Montrer que l'équation de la courbe concentration en fonction du temps est $C = -30 \times e^{-1.57t} + 30 \times e^{-0.23t}$

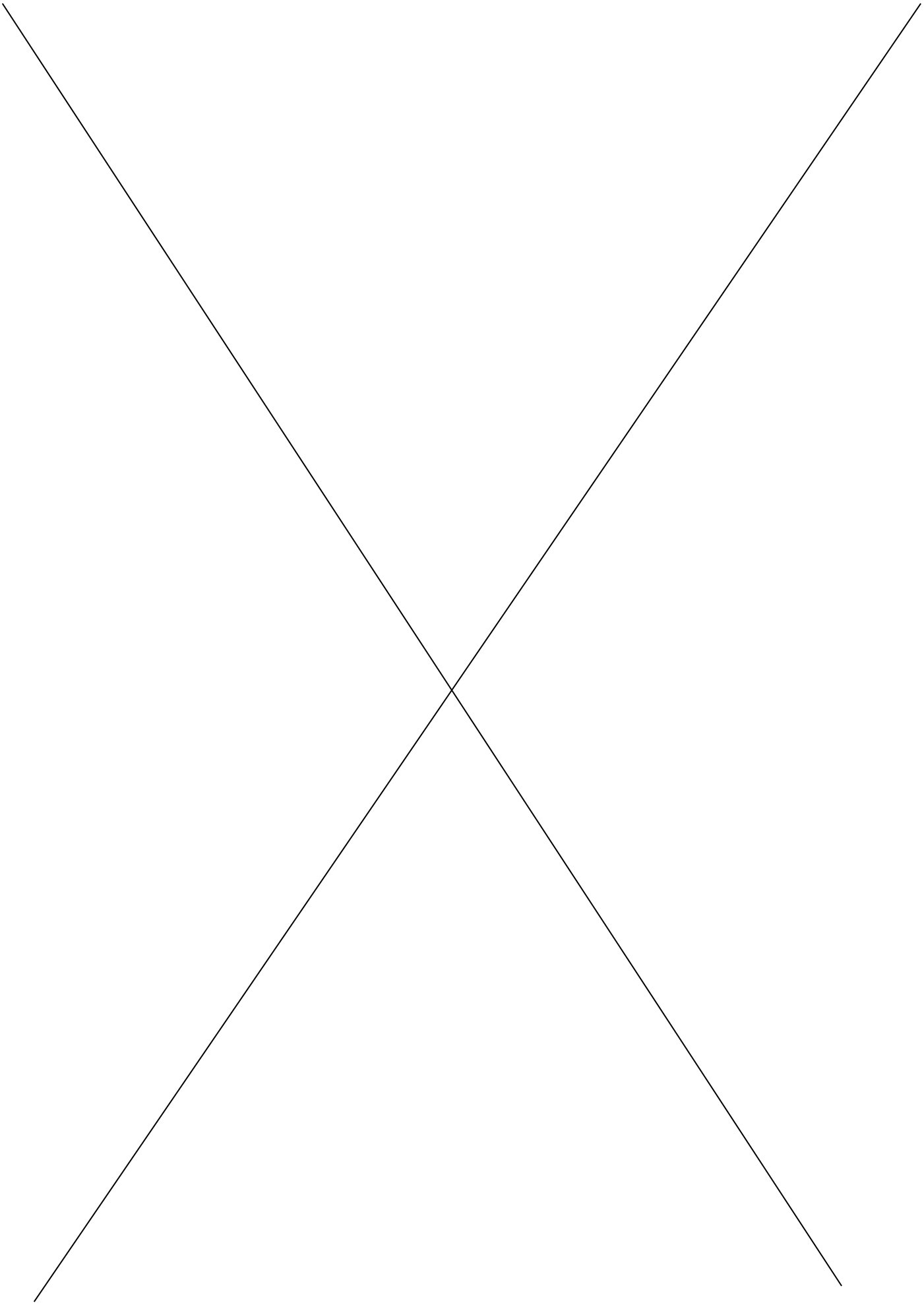
Question 3 : Calculer la clairance totale.

Question 4 : Calculer le volume de distribution.

Question 5 : L'état du patient s'aggravant, le clinicien décide d'administrer l'antibiotique par voie intraveineuse à la dose de 400 mg toutes les 4 heures. Calculer la concentration 2 heures après la 3ème dose.

Question 6 : Quelle sera la concentration maximale à l'équilibre, la concentration minimale à l'équilibre et la concentration moyenne à l'équilibre ?

Question 7 : Pour simplifier la sortie en HAD du patient, le clinicien souhaite administrer le médicament par perfusion intraveineuse au long cours. Quelle doit être la vitesse de perfusion pour obtenir une concentration à l'équilibre de 25 mg/L ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 2

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 exercice de Physiologie

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

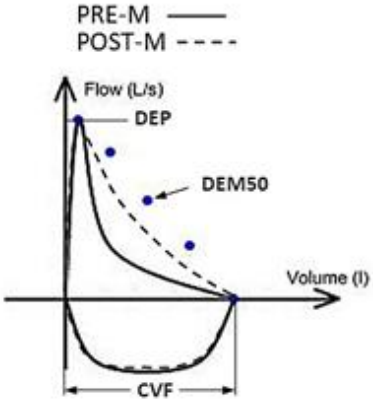
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Ming Lo

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Chez un patient de 25 ans souffrant d'importante gêne respiratoire, son médecin lui a demandé de réaliser deux tests de spirométrie, un premier avant la médication (pré-médication, PRE-M) et un deuxième 15 minutes après l'inhalation d'un bronchodilatateur (post-médication, POST-M). Les résultats sont résumés dans la figure et le tableau ci-dessous.

Courbe débit-volume

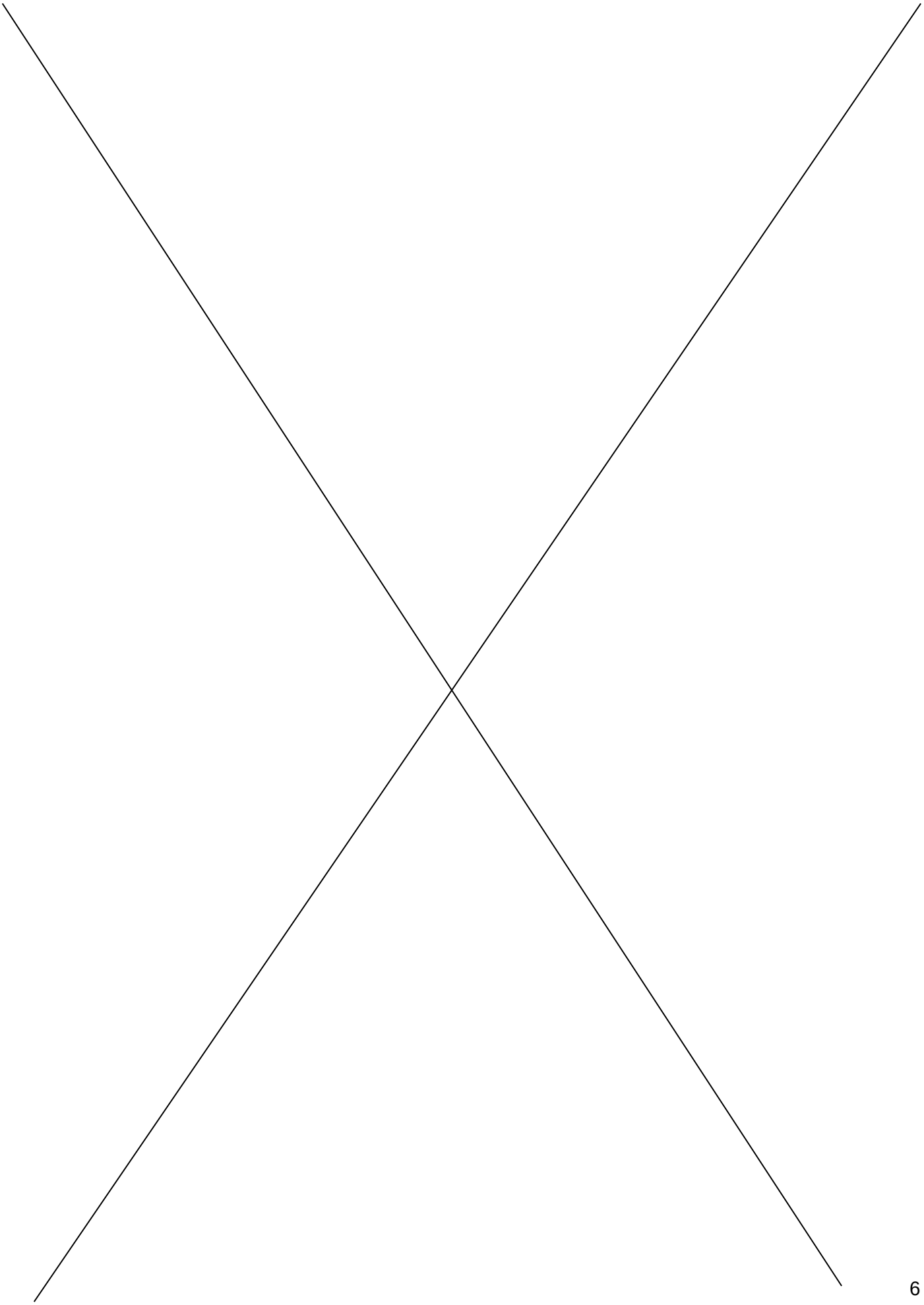


	PRED	PRE-M	%	POST-M	%
CV (L)	5,6	5,3	*95*	5,4	*96*
CVF (L)	5,5	5,0	*91*	5,1	*93*
VEMS (L)	5,1	3,3	*65*	4,3	*84*
Rapport de Tiffeneau (%)	91	62	*68*	80	*87*
DEP (L/s)	10,4	9,4	*90*	10,0	*96*
DEM50 (L/s)	5,8	3,3	*57*	4,8	*83*

Après l'inhalation du bronchodilatateur, le VEMS a passé de 3,3 à 4,3L, soit une augmentation de 30%.

Question 1 : En comparant les résultats du premier test (PRE-M) aux valeurs prédites (PRED), quel est le type de trouble respiratoire le plus probable ? Pourquoi ?

Question 2 : Quel est l'objectif du deuxième test (POST-M) ? Par rapport aux valeurs PRE-M, quelle est votre conclusion sur la réversibilité du trouble respiratoire observé ? Pourquoi ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 3

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice de Chimie analytique

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Christelle Machon

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

On souhaite déterminer la concentration d'un polluant P dans un échantillon d'eau douce. La technique analytique utilisée est l'HPLC couplée à une détection par spectrométrie de masse (LC-MS).

Une gamme d'étalonnage est réalisée selon le protocole suivant à partir d'une solution mère de P à 0,2 µmol/L et d'une solution du composé E à 0,15 µmol/L :

	Point G1	Point G2	Point G3	Point G4	Point G5
Volume solution de P à 0,2 µmol/l (µl)	10	50	100	160	200
Volume solution de E à 0,15 µmol/l (µl)	50	50	50	50	50
Eau déionisée (µl)	990	950	900	840	800

Ensuite, 10 µL de chaque point de gamme sont injectés dans la LC-MS.
Parallèlement, 1 mL d'eau douce à analyser est prélevé. 50 µL de solution de E à 0,15 µmol/L sont ajoutés. Après homogénéisation, 10 µl sont injectés dans la LC-MS.

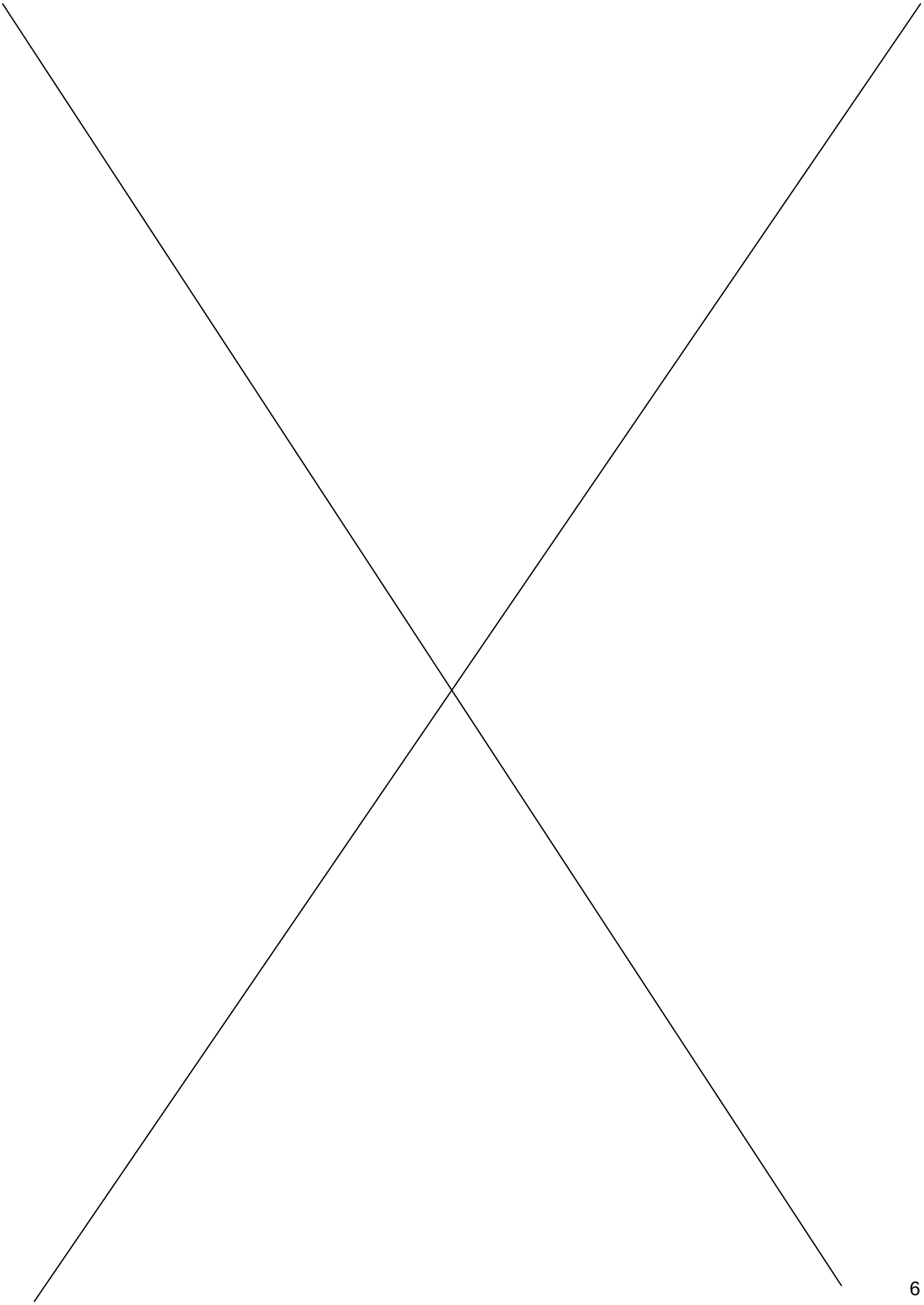
Les données du chromatogramme pour chaque point de gamme et pour l'échantillon sont présentées ci-dessous :

	Composé P		Composé E	
	Temps de rétention (min)	Surface du pic chromatographique (ua)	Temps de rétention (min)	Surface du pic chromatographique (ua)
Point G1	2,57	400	3,34	2001
Point G2	2,55	1050	3,38	2010
Point G3	2,62	1990	3,42	1907
Point G4	2,57	4010	3,38	2000
Point G5	2,58	7950	3,37	2005
Echantillon	2,55	1445	3,35	1980

QUESTION 1
Quelle méthode d'étalonnage est utilisée dans ce mode opératoire ?

QUESTION 2
Déterminez l'équation de la droite d'étalonnage, en indiquant bien les légendes de x et y.

QUESTION 3
Quelle est la concentration du polluant A dans 1 mL d'eau potable ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 4

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 1 exercice d'Enzymologie

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Karim Chikh

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

La mesure de l'activité des γ-glutamyltransférases (GGT) est effectuée selon le principe ci-dessous :

L- γ-glutamyl-p-nitroanilide + glycyl-glycine

↓ GGT

L- γ-glutamyl- glycylglycine + p-nitroaniline

On mesure la vitesse de formation de la p-nitroaniline (jaune, absorbant à 405 nm), qui sera proportionnelle à l'activité catalytique de la GGT.

Le protocole de mesure est le suivant :

- Dans une cuve thermostatée de 1 cm de trajet optique, introduire :
  - Réactif de dosage (L- γ-glutamyl-p-nitroanilide et glycyl-glycine en tampon TRIS) : 950 µL
  - Sérum : 50 µL
- Mesurer la variation d'absorbance à 405 nm à 37°C pendant 1 min.

Lors de la mesure de la concentration catalytique des GGT dans le sérum d'un patient, on retrouve les résultats suivants :

Résultats :	Temps (s)	Absorbance
	0	0
	10	0,1
	20	0,2
	30	0,3
	40	0,4
	50	0,5
	60	0,6

Question n°1 : D'après les résultats obtenus, sommes-nous en conditions de vitesse initiale pendant toute la mesure ?

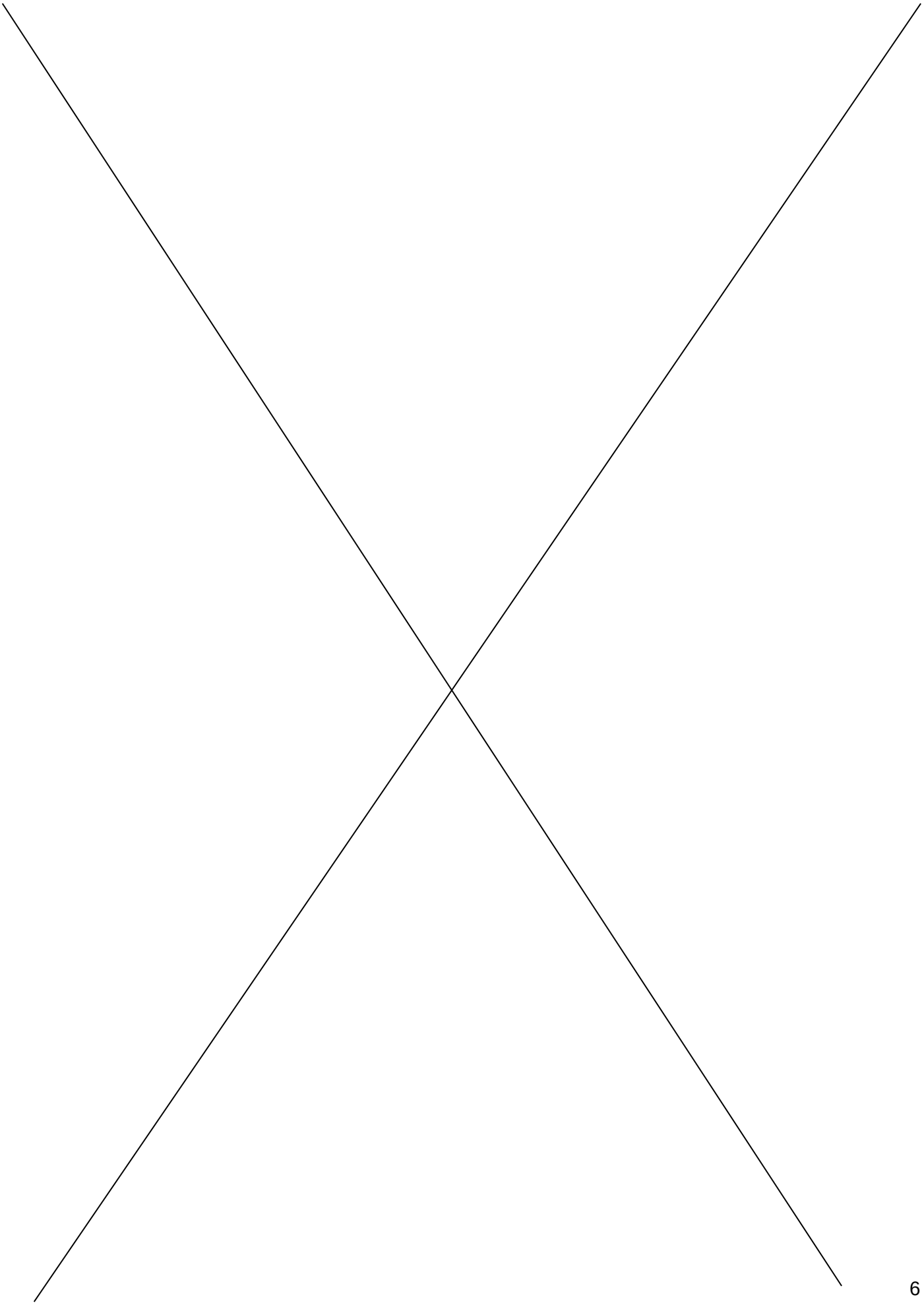
Question n°2 : Calculer la concentration d'activité GGT du sérum de ce patient en U/L et en µKat/L avec ε_{405nm} (p-nitroaniline) = 9901 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$

Pour fabriquer une solution d'étalonnage, les GGT sont purifiées par extraction à partir d'homogénats de foie d'origine animale.
L'homogénat de tissu hépatique obtenu par broyage dans un tampon adéquat possède un volume de 25 litres, contient 50 g/L de protéines et présente une concentration catalytique de 20 UI/L.
A la fin de la purification, on obtient une solution d'un volume total de 100 mL contenant 4 g/L de protéines et présentant une concentration catalytique de 4000 UI/L.

Question n°3 : quel est le rendement de l'opération en enzyme ?

Question n°4 : quelles sont les activités spécifiques de l'homogénat tissulaire et de la solution obtenue après purification ?

Question n°5 : Quel est le facteur d'enrichissement ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 5

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°5 comprend :

- 1 dossier d'Hématologie

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Yohann Jourdy

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Un homme de 55 ans arrive au service des urgences pour un syndrome infectieux (hyperthermie à 39,5°C). L'examen clinique montre une pâleur cutaneo-muqueuse, une tachycardie et des pétéchies au niveau des membres inférieurs. Un bilan biologique est réalisé et montre les résultats suivants.

Numération sanguine

Sg Leucocytes :	1,19 G/L
Sg Hématies :	2,65 T/L
Sg Hémoglobine :	78 g/L
Sg Hématocrite :	21,4 %
Sg Plaquettes :	17 G/L
Sg Réticulocytes :	21 G/L

Formule sanguine (valeurs relatives)

Polynucléaires neutrophiles :	0,29
Polynucléaires éosinophiles :	0,0
Polynucléaires basophiles :	0,0
Lymphocytes :	0,61
Monocytes :	0,1

Bilan de coagulation

Pl Taux du complexe prothrombinique :	95 %
Pl Temps de céphaline avec activateur (témoin 30 s):	33 s

Question 1 : Quelle analyse complémentaire est indispensable pour l'interprétation du taux de plaquettes ?

Question 2 : L'analyse complémentaire de la question 1 est sans anomalie. Commentez les résultats du bilan biologique en lien avec le contexte clinique.

Question 3 : Donner la définition des réticulocytes. Quelles sont les valeurs usuelles et le(s) seuil(s) utilisé(s) pour en interpréter le taux ? Qu'en concluez-vous chez ce patient ?

Question 4 : Quel examen complémentaire doit être réalisé en priorité chez ce patient pour orienter sur l'origine des anomalies observées. Argumentez votre réponse.

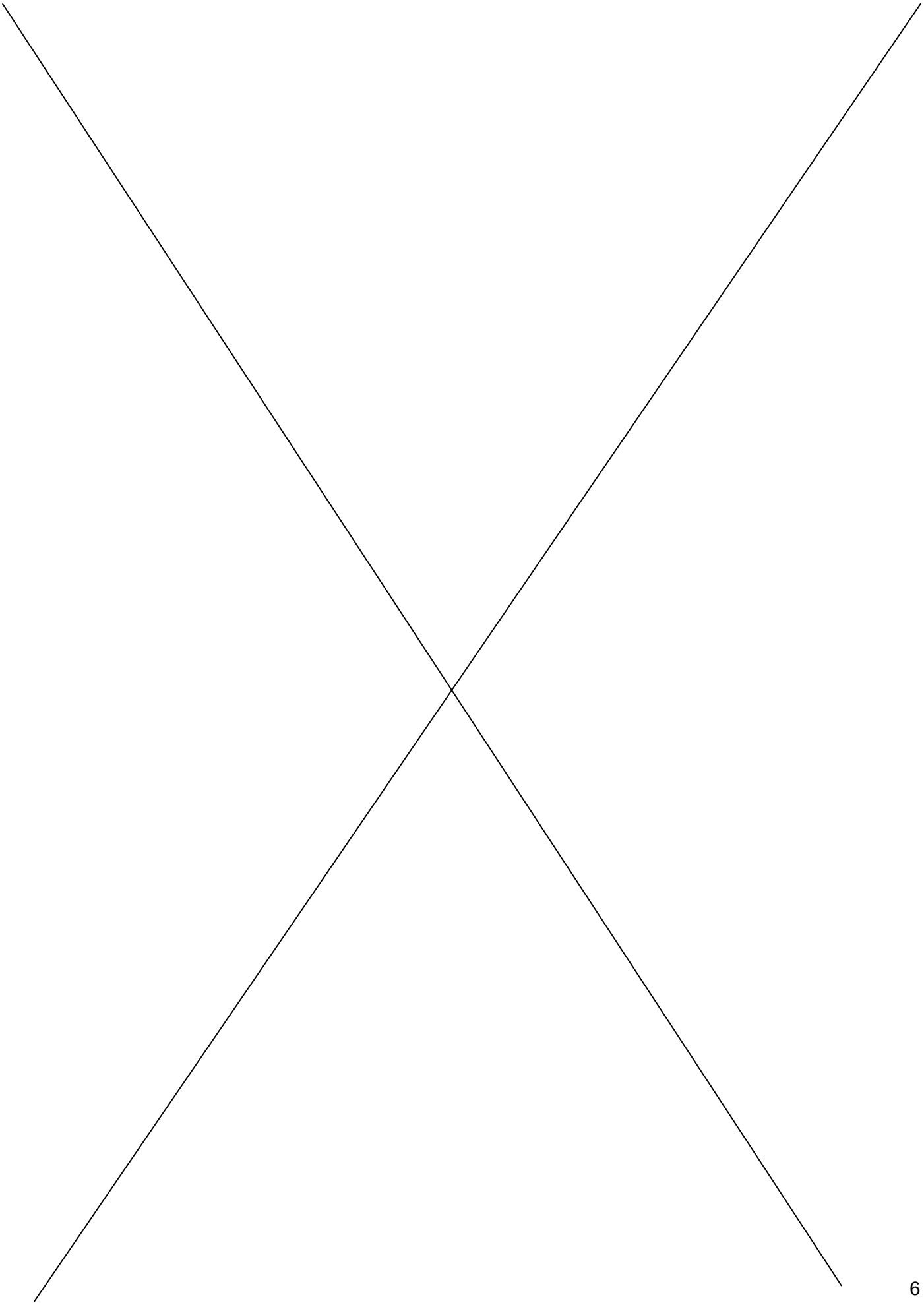
Question 5 : Le médecin décide de transfuser le patient. Un bilan d'immuno-hématologie lui est prescrit. Interprétez en les résultats.

Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires : Négatif

Groupage sanguin ABO-Rhésus

	Epreuve globulaire			**Epreuve plasmatique**		
Réactif	**Antisérum Anti-A**	**Antisérum Anti-B**	**Antisérum Anti-AB**	**Hématies A1**	**Hématies B**	**Anti-D**
Résultat	+	-	+	-	+	+

Question 6 : Quel(s) concentré(s) de globules rouges peu(ven)t-il(s) lui être transfusé(s) (indiquez toutes les possibilités) ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 5)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 5.

Correcteur : C. Machon

ENONCE

Une poche de soluté injectable contient le composé L à une concentration de 47 mg/100 mL.
Une extraction liquide-liquide est effectuée sur ce soluté injectable afin d'extraire le composé L.
Le protocole suivant est appliqué :

- Dans un tube en verre, introduire 2 mL du soluté injectable, puis 3 mL d'acétate d'éthyle. Boucher le tube. Agiter 2 minutes. Laisser décanter, puis récupérer la phase organique supérieure.

Un dosage du composé L dans l'extrait indique une concentration égale à 215 mg/L.
Dans cet exercice, le soluté injectable est considéré comme une matrice aqueuse.

QUESTION 1

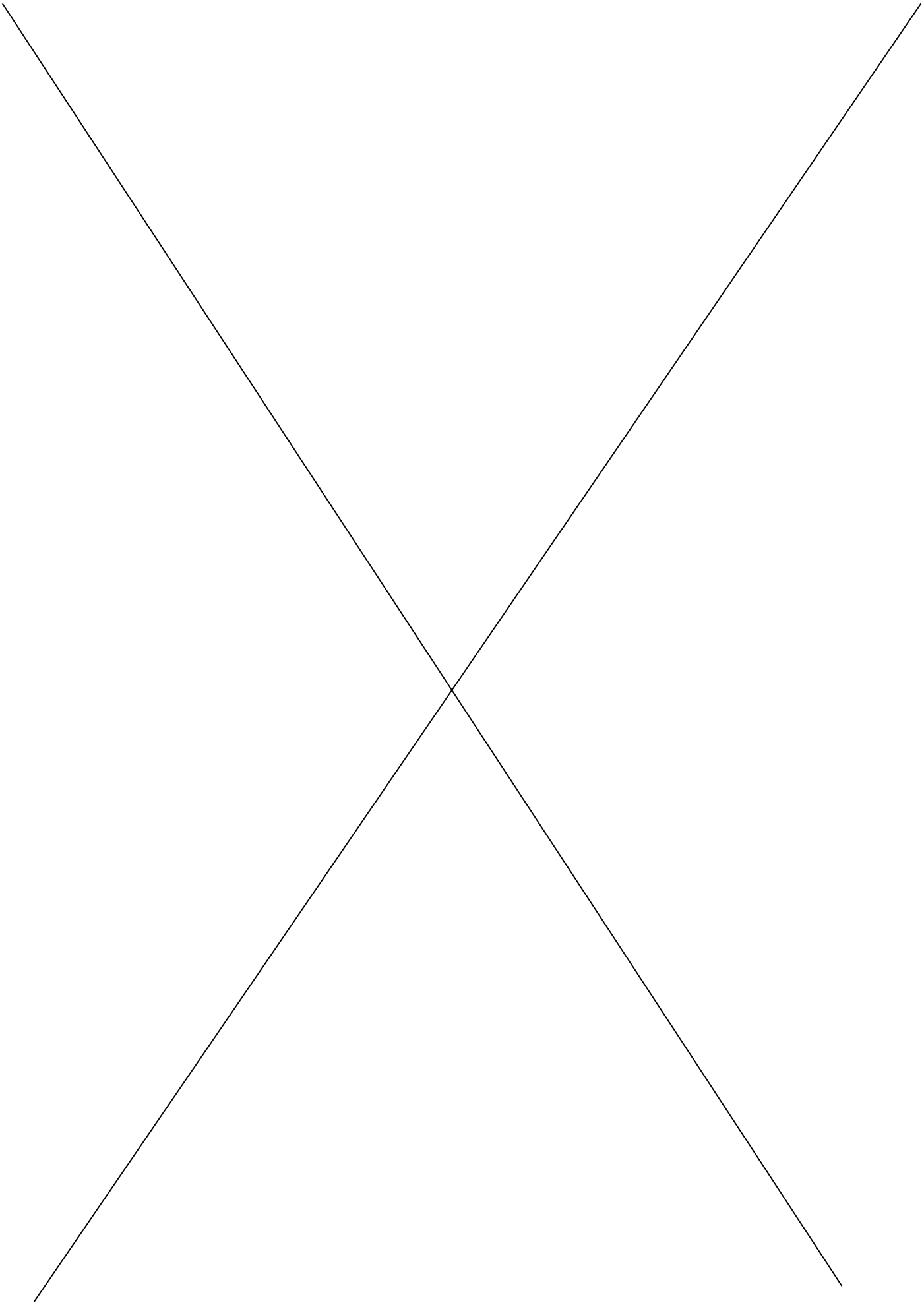
Calculer le rendement de cette extraction liquide-liquide

QUESTION 2

Calculer le coefficient de partage relatif aux concentrations (acétate d'éthyle/eau) pour le composé L.

QUESTION 3

Le rendement d'extraction calculé à la question 1 est jugé insuffisant. Une extraction liquide-liquide multiple (= à n étages) est réalisée. Combien d'étages faut-il réaliser pour obtenir un rendement d'extraction supérieur à 95 %, sachant que le volume d'acétate d'éthyle sera de 0,8 mL à chaque étage ? Le volume de soluté injectable initial est toujours de 2 mL.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 2 (de 1 à 5)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 dossier thérapeutique et biologique

Note

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 pages numérotées de 1 à 8

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 5.

Correcteur : A. Doleans-Jordheim, A. Fourier, C. Vinciguerra

ENONCE

Janvier 2024. Monsieur P, 76 ans, ancien boulanger, est amené aux urgences par le SAMU. Il a été retrouvé évanoui sur le sol par sa femme. Les antécédents du patient révèlent un tabagisme sevré il y a 15 ans et une hypertension contrôlée. A l'examen clinique, monsieur P est toujours confus. Il présente une forte fièvre (39,5°C). Selon son épouse, il a vomi plusieurs fois et s'est plaint d'un très fort mal de tête. Les urgentistes transfèrent immédiatement monsieur P en réanimation, où un traitement thérapeutique est immédiatement instauré. Une ponction lombaire est pratiquée ainsi que des prélèvements d'hémoculture. Des bilans hématologiques et biochimiques accompagnent ces analyses.

Les premiers résultats sont les suivants :

- Bactériologie :
    - Examen direct sur le LCR (coloration de Gram) : cocci à Gram positif
    - PCR syndromique : résultats en attente
- Cytochimie du LCR
    - Aspect avant centrifugation : légèrement hémorragique
    - Globules rouges : 145/µL (valeur usuelle < 2/µL)
    - Leucocytes : 5310/µL (valeur usuelle < 2/µL)
        - Polynucléaires neutrophiles 93%
        - Lymphocytes 4%
        - Monocytes 3%
    - Protéinorachie : 1.23 g/L
    - Glycorachie : 0.68 mmol/L

QUESTION 1

Expliquez le principe d'une PCR syndromique (sans expliquer le principe d'une PCR en général) ? Dans ce contexte, sur quel prélèvement est-elle effectuée ?

QUESTION 2

Interpréter les résultats de la cytochimie du LCR.

QUESTION 3

En fonction des différentes informations présentes dans l'énoncé, quel pathogène peut-être suspecté (son nom d'espèce est demandé **en entier**) ?

QUESTION 4

Concernant le LCR, citez les étapes bactériologiques qui vont compléter le diagnostic.

QUESTION 5

Indiquez la variation probable des examens biologiques suivants (augmentation, diminution ou résultat normal) si ces examens ont été réalisés pour Monsieur P.

- Protéine C réactive :
- Procalcitonine :
- Glycémie :
- Sg Globules blancs :
- Sg Plaquettes :
- Sg : Fibrinogène :

QUESTION 6

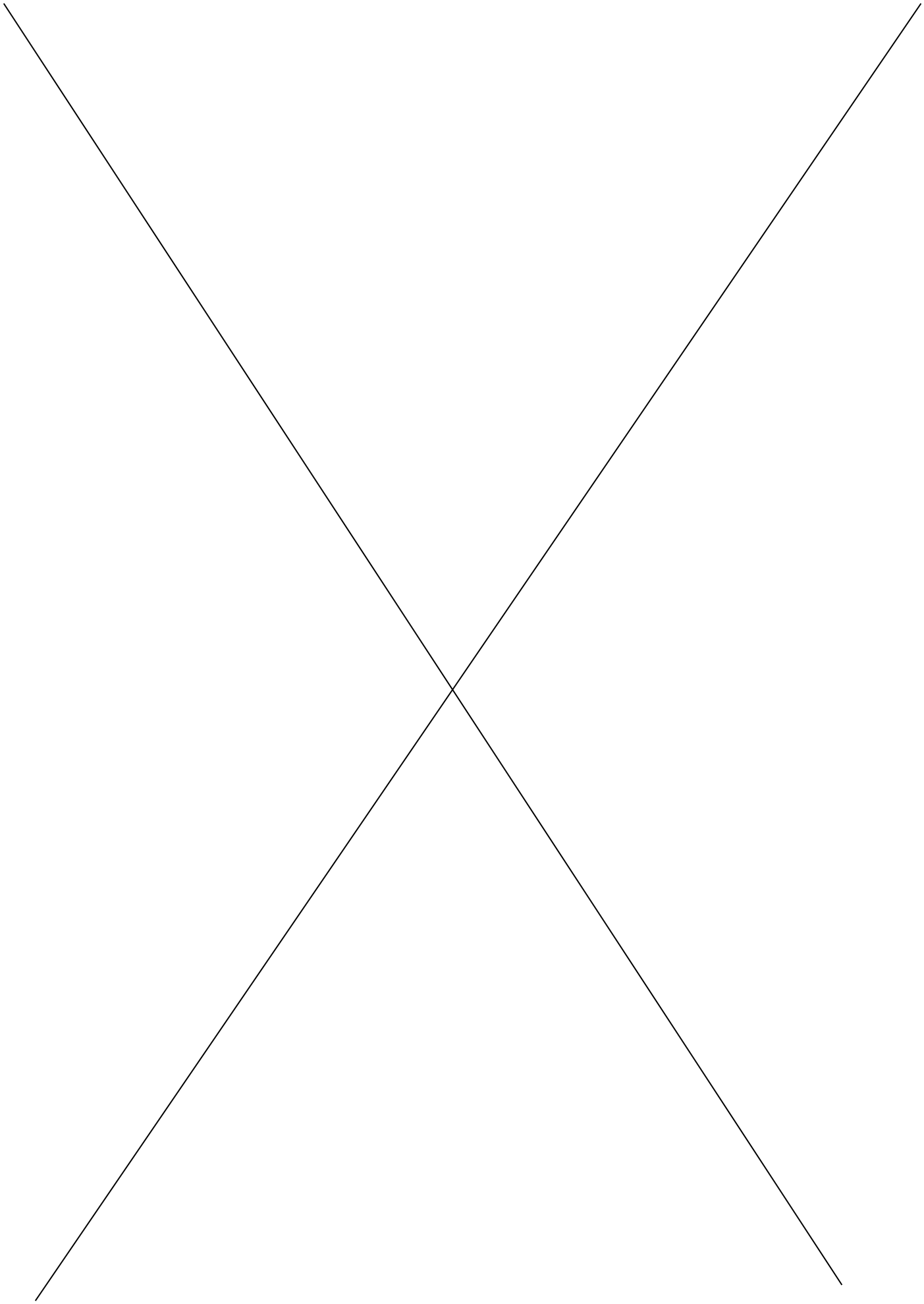
Si le patient développe une CIVD, quels seraient les résultats d'un bilan de coagulation standard et les examens à réaliser pour confirmer la CIVD (indiquez les examens à réaliser et leurs résultats en cas de diagnostic de CIVD) ?

QUESTION 7

Après 2 jours d'incubation, aucune pousse bactérienne n'est observée sur les milieux de culture. Expliquez ce qui a pu se passer et ce qui peut être proposé pour identifier la bactérie.

QUESTION 8

Quelle sera la prise en charge antibiotique (noms de la/les molécule(s) et de leur(s) classe(s)) du patient ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 3 (de 1 à 5)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice

Note

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 5.

Correcteur : A. Fourier

ENONCE

On veut déterminer la constante de Michaelis Km et la vitesse maximale Vmax d'une préparation purifiée A de glucose 6-phosphatase (EC 3.1.3.9).

Dans ce but, 4 cinétiques sont effectuées sur un mélange B réalisé à partir de 50 µL de la solution d'enzyme A et de 450 µL d'un tampon contenant des concentrations croissantes de glucose-6-phosphate. Les concentrations en substrat et les vitesses initiales mesurées dans chaque mélange B sont reportées dans le tableau ci-dessous.

S (µmol/mL)	V0 (µmol/min/mL)
1,25	1,52
2,5	2,32
5	3,28
10	4,00

QUESTION 1

Donnez l'équation théorique de la droite obtenue par la représentation de Lineweaver-Burk (méthode des doubles inverses).

QUESTION 2

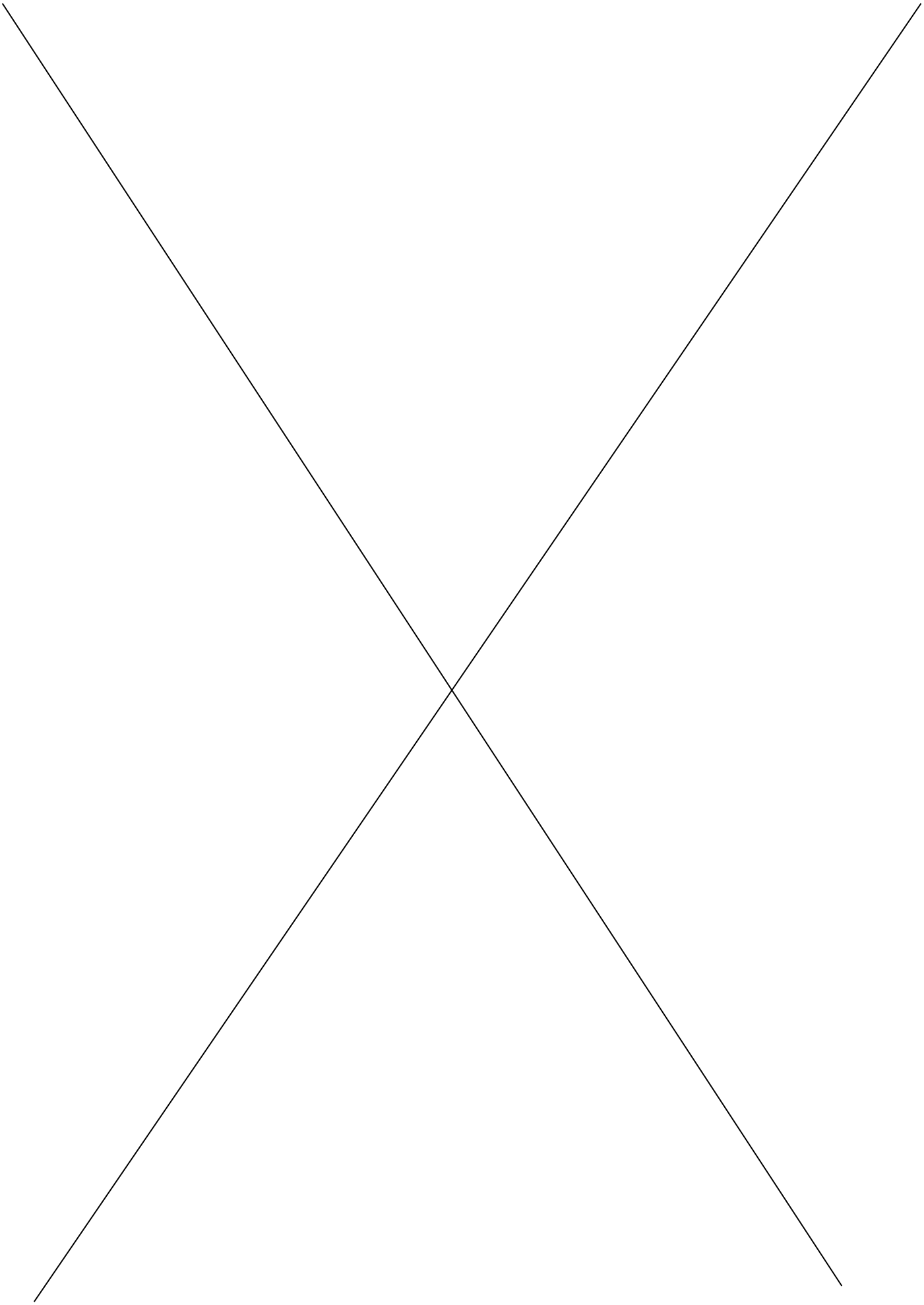
Quelle est l'équation de Lineweaver-Burk obtenue avec cette série d'expériences ? Déterminez à partir de cette équation les paramètres Km et Vmax dans le mélange B.

QUESTION 3

Quelles seraient les valeurs de Km et Vmax mesurées directement dans une préparation purifiée A' obtenue à partir d'une dilution au demi de la solution A dans le tampon contenant le substrat ?

QUESTION 4

La concentration cellulaire en glucose-6-phosphate est d'environ 0,2 µmol/mL. Quel serait le pourcentage des sites actifs [ES] de l'enzyme occupés par le glucose-6-phosphate (on suppose que l'on est dans des conditions de vitesse initiale) ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

FASCICULE n° 4 (de 1 à 5)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 1 exercice

Note

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 5.

Correcteur : D. Kryza

ENONCE

Lors d'une synoviorthèse (traitement local par injection intra-articulaire d'un radionucléide à visée antalgique, consistant à détruire la membrane synoviale), on introduit dans l'épaule droite d'un sujet du rhénium 186 colloïdal à raison de 74 MBq. La constante radioactive du rhénium 186 est de 2,2 $x10^{-6}$ s^{-1}.

On donne : $N_A = 6{,}02.10^{23}$ mol^{-1}

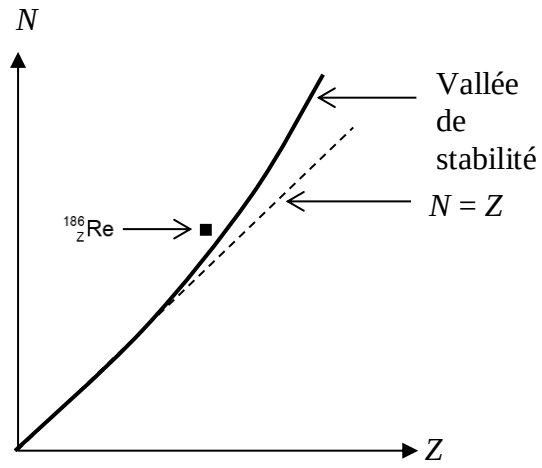


Figure 1. Diagramme (*N*, *Z*)

QUESTION 1

Déduire de la figure 1 le type de désintégration du rhénium 186. Quel est le nom de la particule émise ?

QUESTION 2

Ecrire l'équation de désintégration du rhénium 186 sachant que le noyau fils obtenu est l'osmium (Os, nombre de masse = A, Z = 76) et qu'il émet également un rayonnement gamma.

QUESTION 3

Donner la composition de l'atome d'Osmium formé (nombre de protons, d'électrons, nombre de masse et nombre de nucléons)

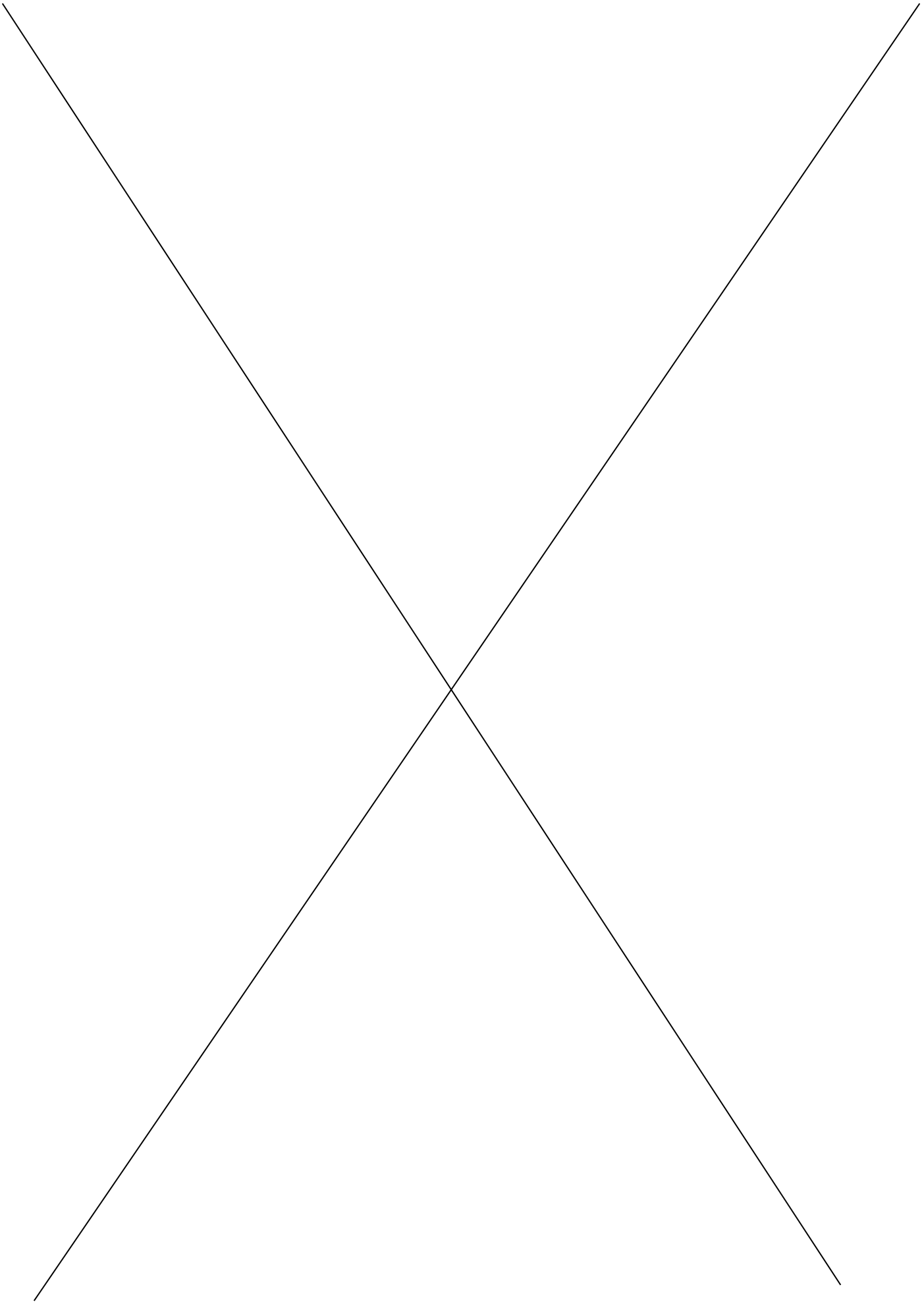
QUESTION 4

Calculer la masse de rhénium 186 injectée au patient.

Pendant une radiographie du corps humain avec des rayons X de 60 keV d'énergie maximale, 3.10^9 électrons possédant une énergie moyenne de 20 keV sont libérés par gramme de tissu superficiel.

QUESTION 5

Calculer, en Gy, la dose absorbée par les tissus superficiels.



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM
EPREUVE DE UELC INTERNAT 4

4ème année
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS A

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule comprend :

- 9 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules.

UELC Internat 4

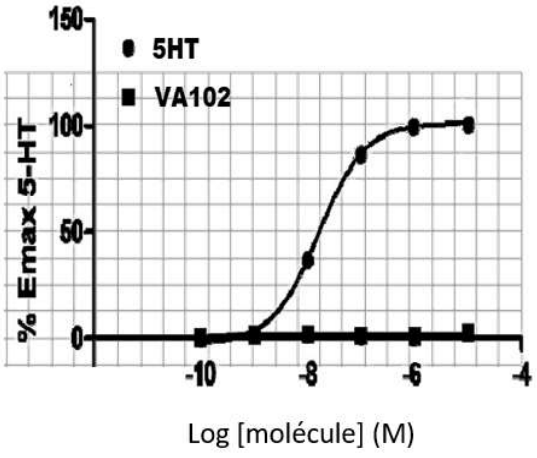
QCM 1 : quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

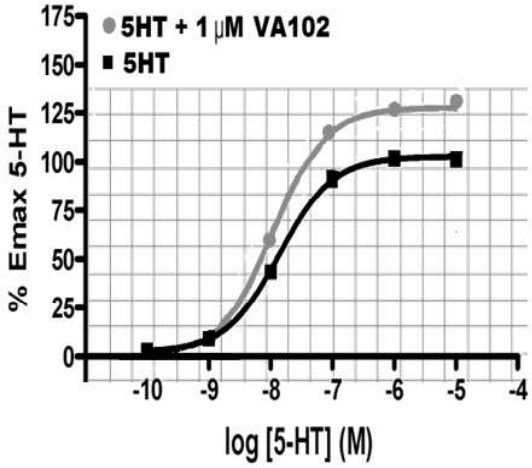
A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 : Parmi les propositions suivantes, quelles sont les situations où une CIVD peut apparaitre ?

A- Sepsis
B- Leucémie aigüe
C- Infarctus du myocarde
D- Lésions tissulaires massives
E- Eclampsie

QCM 3 : La stimulation des récepteurs 5HT2c conduit sur la lignée cellulaire CHO à une augmentation de la concentration cytoplasmique d'inositol triphosphate.
L'effet maximum a été déterminé avec des concentrations croissantes de sérotonine.
L'effet a ensuite été étudié sur les cellules CHO après application de concentrations croissantes de sérotonine (5HT) ou de la molécule VA102 (figure de gauche), ou de concentrations croissantes de 5HT seule ou en présence de 1µmol/L de VA102 (figure de droite).
Les résultats sont présentés sur les figures ci-dessous.





Parmi les propositions ci-dessous, quelle réponse est exacte ?

A- La molécule VA102 est un antagoniste non compétitif
B- La molécule VA102 a de l'activité intrinsèque
C- La molécule VA102 est un agoniste partiel
D- La molécule VA102 est un modulateur allostérique positif
E- La sérotonine est un agoniste partiel

QCM 4 : Mr L., 65 ans, est diabétique de type 2 depuis 25 ans. Le suivi biologique de son diabète, réalisé il y a 3 ans, avait permis de mettre en évidence une créatininémie élevée et un DFG à 50 mL/min/1,73 m². Ensuite, il n'a pas suivi sa fonction rénale et n'a pas pris en charge correctement son diabète.
Devant une altération de son état général, il finit par consulter son médecin qui lui prescrit les analyses nécessaires pour faire le point sur sa fonction rénale. Il est à noter une légère hyperventilation.

Ionogramme plasmatique		**Valeurs usuelles**
Sodium	135 mmol/L	135 - 145
Potassium :	6,2 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	95 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	15 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	66 g/L	65 – 80
Calcium	2 mmol/L	2.2 – 2.6
Phosphore	2.2 mmol/L	0.8 – 1.4
Urée	15 mmol/L	2.5 – 7.5
Créatinine	225 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	25 mL/min/1.73 m^2	>90
Glycémie	8 mmol/L	3.9-5.5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,22	7,35 – 7,45
pCO2 :	30 mmHg	35 – 45
pO2 :	96 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	1 g/24h	< 0,15

A propos de ce cas, quelles sont les réponses exactes ?

A- Mr L. semble avoir une insuffisance rénale aigue fonctionnelle.
B- Mr L. présente une acidose métabolique à trou anionique augmenté.
C- Le DFG estimé est calculé à l'aide d'une formule qui prend en compte la créatinine et l'urée.
D- Mr L. présente une vraie hypocalcémie.
E- La protéinurie de Mr L. est reliée à la néphropathie diabétique

QCM 5 : Concernant l'agranulocytose médicamenteuse, indiquer les réponses exactes :

A- Le myélogramme est l'examen indispensable pour le diagnostic de l'agranulocytose médicamenteuse
B- Dans la majorité des cas, l'agranulocytose est identifiée de manière fortuite lors d'un hémogramme de contrôle
C- Une antibiothérapie probabiliste large spectre doit-être rapidement mise en place
D- Une déclaration à la pharmacovigilance doit être réalisée
E- Une enquête étiologique doit être réalisée pour identifier le médicament responsable

QCM 6 : Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ?

A- La clairance totale se définit par la quantité de plasma totalement épurée d'une substance par unité de temps.
B- La clairance glomérulaire correspond au produit du débit de filtration glomérulaire par la fraction de médicament éliminée sous forme inchangée dans les urines.
C- Pour un médicament pour lequel la clairance glomérulaire est supérieure à la clairance rénale, le mécanisme d'excrétion rénale correspond à une filtration glomérulaire et une réabsorption tubulaire.
D- Pour un médicament pour lequel la clairance glomérulaire est supérieure à la clairance rénale, le mécanisme d'excrétion rénale correspond à une filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire.
E- Le volume de distribution le plus petit que l'on peut obtenir chez un adulte est de 3L/kg.

QCM 7 : A propos du Rhophylac (Immunoglobuline anti-D humaine), indiquer les réponses exactes :

A- L'immunoprophylaxie à base de Rhophylac est indiquée chez les femmes enceinte Rhésus négative allo-immunisée contre l'antigène D.
B- Le Rhophylac est un médicament dérivé du sang
C- Le schéma d'administration classique du Rhophylac consiste en 2 injections en intra-musculaire au cours de la grossesse
D- La demi-vie du Rhophylac est de 60 jours
E- Le Rhophylac peut-être responsable de l'apparition d'une anémie hémolytique d'origine immunologique chez la mère

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes, lesquelles sont exactes ?

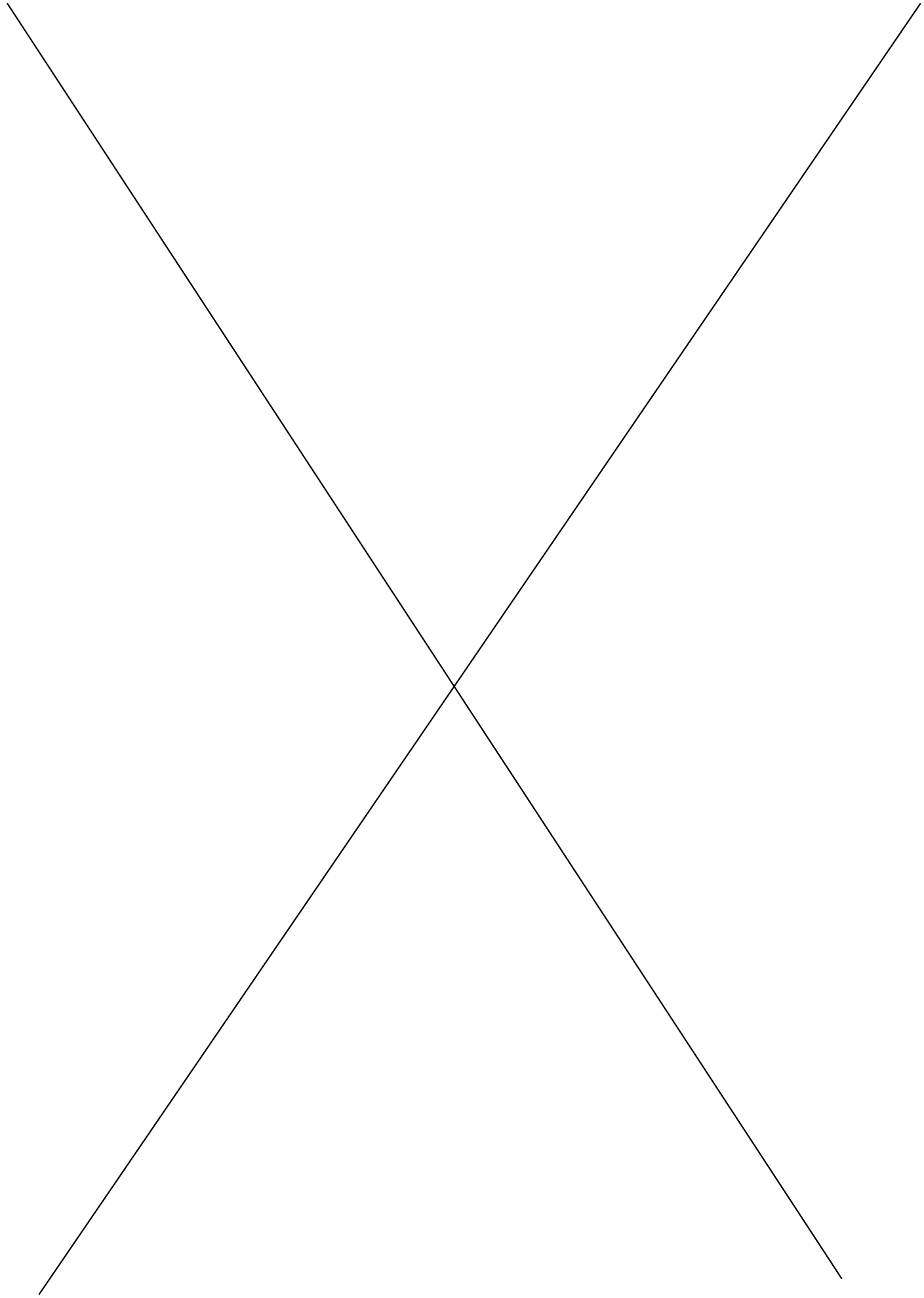
A- Deux médicaments A et B ont un volume de distribution identique. La clairance totale de A est deux fois plus importante que celle de B. La demi-vie d'élimination du médicament A est donc deux fois plus longue que celle du médicament B.
B- Lors d'une perfusion, le temps pour obtenir 75% de la concentration à l'équilibre dépend de la vitesse de perfusion.
C- Lors d'une perfusion d'un médicament dont la demi-vie est de 4h, le temps pour obtenir 50% de la concentration à l'équilibre est de 2h.
D- Lors d'une perfusion, la concentration à l'équilibre ne dépend pas du volume de distribution.
E- Lors d'administrations réitérées par voie intraveineuse bolus avec un intervalle d'administration égal à la demi-vie, le rapport d'accumulation R est égal à 2.

QCM 9 : Mr P., 72 ans, consulte aux urgences pour une brusque altération de l'état général. Il présente une gastro-entérite depuis une semaine associant quelques rares vomissements et une diarrhée intense (jusqu'à 8 selles par jour). Il est de retour d'un voyage en Afrique subsaharienne. Il présente un signe du pli cutané net accompagné d'une tachycardie, ainsi qu'une hyperventilation. Il faut noter que Mr P. a fait un dosage de créatinine plasmatique il y a 7 jours et qu'il était à 70 µmol/L.

		Valeurs usuelles
Ionogramme plasmatique		
Sodium	141 mmol/L	135 - 145
Potassium :	2,7 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	112 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	18 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	84 g/L	65 – 80
Calcium	2,7 mmol/L	2.2 – 2.6
Phosphore	0.9 mmol/L	0.8 – 1.4
Urée	18 mmol/L	2.5 – 7.5
Créatinine	120 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	52 mL/min/1.73 m^2	>90
Glycémie	4,5 mmol/L	3.9-5.5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,24	7,35 – 7,45
pCO2 :	28 mmHg	35 – 45
pO2 :	95 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	0,1 g/24h	< 0,15
Sodium :	9 mmol/L	
Potassium :	32 mmol/L	

A propos de ce cas, quelles sont les réponses exactes ?

A- Mr P. semble avoir une insuffisance rénale aigue organique.
B- Mr P. présente une acidose métabolique à trou anionique augmenté.
C- Mr P présente une déshydratation extracellulaire.
D- Mr P. présente une hypokaliémie pouvant être expliquée à la fois par des pertes digestives et aussi des pertes rénales.
E- Mr P. présente une fausse hypercalcémie.



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM
EPREUVE DE UELC INTERNAT 4

4ème année
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session initiale

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS B

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule comprend :

- 9 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 6

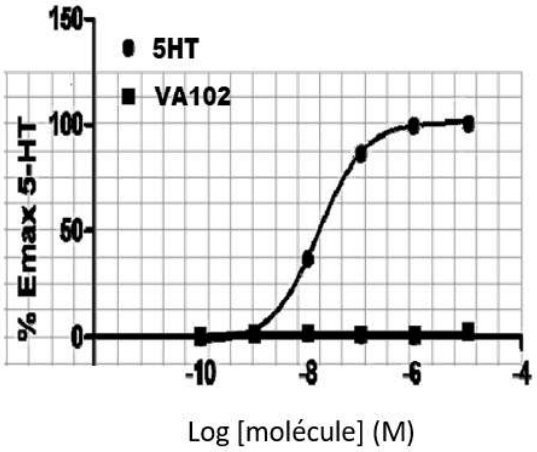
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 6 fascicules.

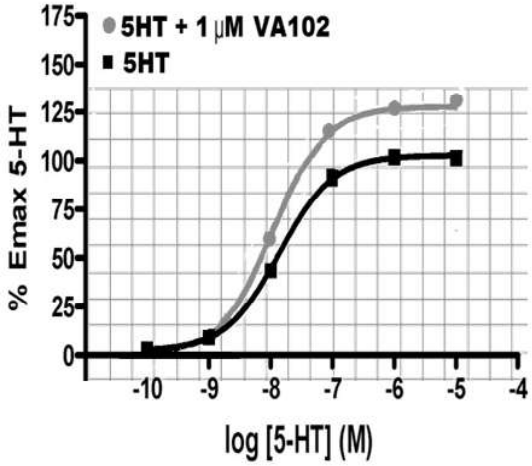
UELC Internat 4

QCM 1 : quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 : La stimulation des récepteurs 5HT2c conduit sur la lignée cellulaire CHO à une augmentation de la concentration cytoplasmique d'inositol triphosphate.
L'effet maximum a été déterminé avec des concentrations croissantes de sérotonine.
L'effet a ensuite été étudié sur les cellules CHO après application de concentrations croissantes de sérotonine (5HT) ou de la molécule VA102 (figure de gauche), ou de concentrations croissantes de 5HT seule ou en présence de 1µmol/L de VA102 (figure de droite).
Les résultats sont présentés sur les figures ci-dessous.





Parmi les propositions ci-dessous, quelle réponse est exacte ?

A- La molécule VA102 est un antagoniste non compétitif
B- La molécule VA102 a de l'activité intrinsèque
C- La molécule VA102 est un agoniste partiel
D- La molécule VA102 est un modulateur allostérique positif
E- La sérotonine est un agoniste partiel

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes, quelles sont les situations où une CIVD peut apparaitre ?

A- Sepsis
B- Leucémie aigüe
C- Infarctus du myocarde
D- Lésions tissulaires massives
E- Eclampsie

QCM 4 : Mr P., 72 ans, consulte aux urgences pour une brusque altération de l'état général. Il présente une gastro-entérite depuis une semaine associant quelques rares vomissements et une diarrhée intense (jusqu'à 8 selles par jour). Il est de retour d'un voyage en Afrique subsaharienne. Il présente un signe du pli cutané net accompagné d'une tachycardie, ainsi qu'une hyperventilation. Il faut noter que Mr P. a fait un dosage de créatinine plasmatique il y a 7 jours et qu'il était à 70 µmol/L.

		Valeurs usuelles
Ionogramme plasmatique		
Sodium	141 mmol/L	135 - 145
Potassium :	2,7 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	112 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	18 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	84 g/L	65 – 80
Calcium	2,7 mmol/L	2.2 – 2.6
Phosphore	0.9 mmol/L	0.8 – 1.4
Urée	18 mmol/L	2.5 – 7.5
Créatinine	120 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	52 mL/min/1.73 m^2	>90
Glycémie	4,5 mmol/L	3.9-5.5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,24	7,35 – 7,45
pCO2 :	28 mmHg	35 – 45
pO2 :	95 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	0,1 g/24h	< 0,15
Sodium :	9 mmol/L	
Potassium :	32 mmol/L	

A propos de ce cas, quelles sont les réponses exactes ?

A- Mr P. semble avoir une insuffisance rénale aigue organique.
B- Mr P. présente une acidose métabolique à trou anionique augmenté.
C- Mr P présente une déshydratation extracellulaire.
D- Mr P. présente une hypokaliémie pouvant être expliquée à la fois par des pertes digestives et aussi des pertes rénales.
E- Mr P. présente une fausse hypercalcémie.

QCM 5 : A propos du Rhophylac (Immunoglobuline anti-D humaine), indiquer les réponses exactes :

A- L'immunoprophylaxie à base de Rhophylac est indiquée chez les femmes enceinte Rhésus négative allo-immunisée contre l'antigène D.
B- Le Rhophylac est un médicament dérivé du sang
C- Le schéma d'administration classique du Rhophylac consiste en 2 injections en intra-musculaire au cours de la grossesse
D- La demi-vie du Rhophylac est de 60 jours
E- Le Rhophylac peut-être responsable de l'apparition d'une anémie hémolytique d'origine immunologique chez la mère

QCM 6 : Parmi les propositions suivantes, lesquelles sont exactes ?

A- Deux médicaments A et B ont un volume de distribution identique. La clairance totale de A est deux fois plus importante que celle de B. La demi-vie d'élimination du médicament A est donc deux fois plus longue que celle du médicament B.
B- Lors d'une perfusion, le temps pour obtenir 75% de la concentration à l'équilibre dépend de la vitesse de perfusion.
C- Lors d'une perfusion d'un médicament dont la demi-vie est de 4h, le temps pour obtenir 50% de la concentration à l'équilibre est de 2h.
D- Lors d'une perfusion, la concentration à l'équilibre ne dépend pas du volume de distribution.
E- Lors d'administrations réitérées par voie intraveineuse bolus avec un intervalle d'administration égal à la demi-vie, le rapport d'accumulation R est égal à 2.

QCM 7 : Concernant l'agranulocytose médicamenteuse, indiquer les réponses exactes :

A- Le myélogramme est l'examen indispensable pour le diagnostic de l'agranulocytose médicamenteuse
B- Dans la majorité des cas, l'agranulocytose est identifiée de manière fortuite lors d'un hémogramme de contrôle
C- Une antibiothérapie probabiliste large spectre doit-être rapidement mise en place
D- Une déclaration à la pharmacovigilance doit être réalisée
E- Une enquête étiologique doit être réalisée pour identifier le médicament responsable

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ?

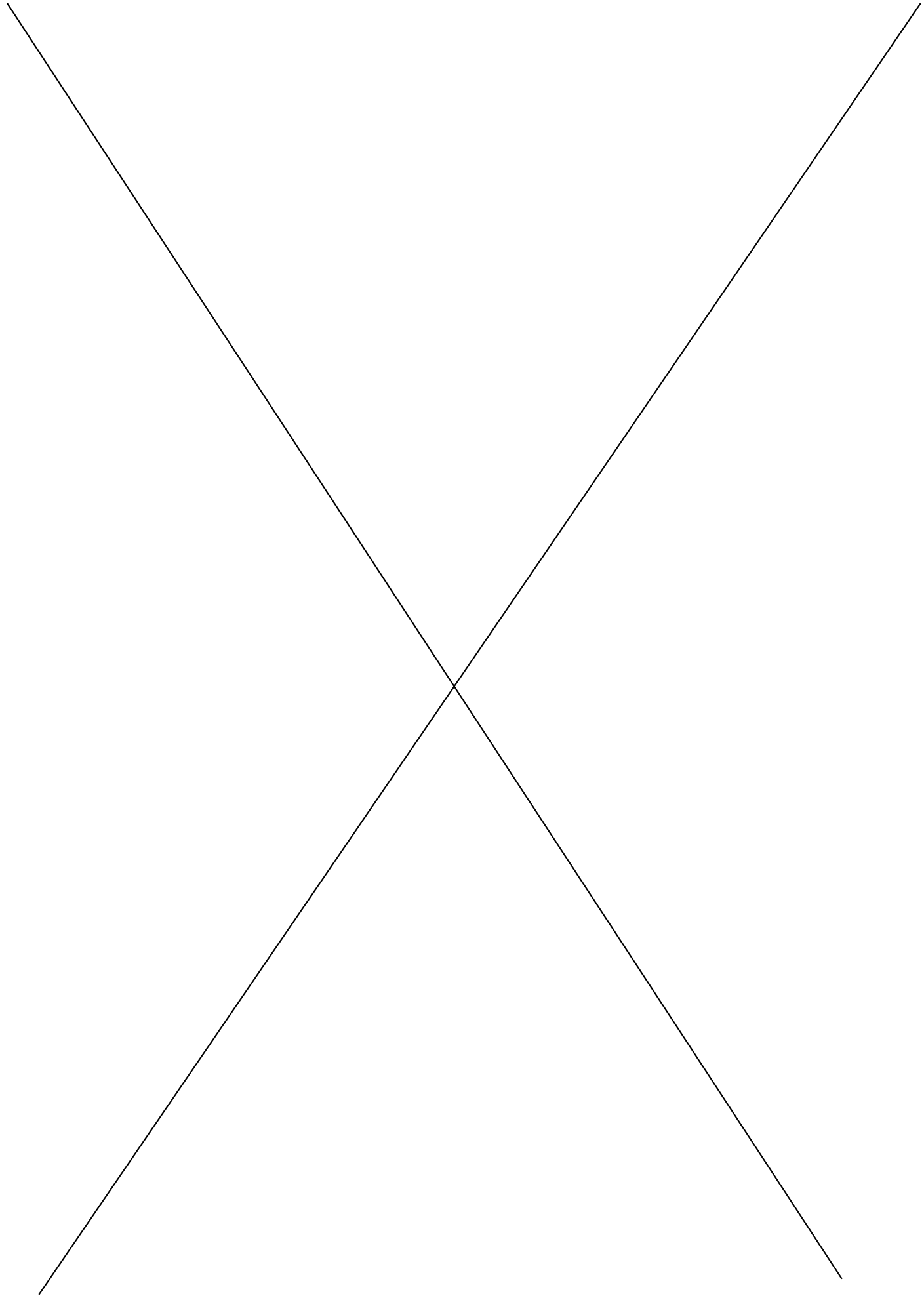
A- La clairance totale se définit par la quantité de plasma totalement épurée d'une substance par unité de temps.
B- La clairance glomérulaire correspond au produit du débit de filtration glomérulaire par la fraction de médicament éliminée sous forme inchangée dans les urines.
C- Pour un médicament pour lequel la clairance glomérulaire est supérieure à la clairance rénale, le mécanisme d'excrétion rénale correspond à une filtration glomérulaire et une réabsorption tubulaire.
D- Pour un médicament pour lequel la clairance glomérulaire est supérieure à la clairance rénale, le mécanisme d'excrétion rénale correspond à une filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire.
E- Le volume de distribution le plus petit que l'on peut obtenir chez un adulte est de 3L/kg.

QCM 9 : Mr L., 65 ans, est diabétique de type 2 depuis 25 ans. Le suivi biologique de son diabète, réalisé il y a 3 ans, avait permis de mettre en évidence une créatininémie élevée et un DFG à 50 mL/min/1,73 m². Ensuite, il n'a pas suivi sa fonction rénale et n'a pas pris en charge correctement son diabète.
Devant une altération de son état général, il finit par consulter son médecin qui lui prescrit les analyses nécessaires pour faire le point sur sa fonction rénale. Il est à noter une légère hyperventilation.

Ionogramme plasmatique		**Valeurs usuelles**
Sodium	135 mmol/L	135 - 145
Potassium :	6,2 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	95 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	15 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	66 g/L	65 – 80
Calcium	2 mmol/L	2.2 – 2.6
Phosphore	2.2 mmol/L	0.8 – 1.4
Urée	15 mmol/L	2.5 – 7.5
Créatinine	225 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	25 mL/min/1.73 m^2	>90
Glycémie	8 mmol/L	3.9-5.5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,22	7,35 – 7,45
pCO2 :	30 mmHg	35 – 45
pO2 :	96 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	1 g/24h	< 0,15

A propos de ce cas, quelles sont les réponses exactes ?

A- Mr L. semble avoir une insuffisance rénale aigue fonctionnelle.
B- Mr L. présente une acidose métabolique à trou anionique augmenté.
C- Le DFG estimé est calculé à l'aide d'une formule qui prend en compte la créatinine et l'urée.
D- Mr L. présente une vraie hypocalcémie.
E- La protéinurie de Mr L. est reliée à la néphropathie diabétique



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC STI CC*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE CONTROLE TERMINAL
UELC Stratégies Thérapeutiques en Infectiologie

DFGSP3
Année 2023/2024

Semestre printemps
CONTROLE TERMINAL

FASCICULE n° 1 (de 1 à 1)

DUREE DE L'EPREUVE : 60 minutes, comprenant 1 fascicule

Ce fascicule n°1 comprend :

- 3 cas cliniques avec QROC

Calculatrice : autorisée
Tous documents papiers autorisés
Tous les documents et appareils électroniques sont interdits (téléphone, ordinateur, tablettes…)

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 *pages numérotées de 1 à 8*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule N°1

UELC STI
Pr Sylvain Goutelle

Exercice 1 : cas clinique 1

Monsieur B., retraité âgé de 67 ans, 1,65m, 77 kg, consulte son médecin au mois de janvier pour une toux sèche d'apparition progressive, avec fièvre à 39°C et une grande fatigue, depuis 4 jours. Il rapporte que deux de ses amis présentent les mêmes symptômes depuis 3 jours également. Ils ont tous participé à un concours de belote la semaine précédente.

Le patient est en bonne santé par ailleurs. Il a uniquement comme antécédents de l'hypertension artérielle traitée par hydrochlorothiazide + valsartan, une hypercholestérolémie traitée par simvastatine et des antécédents de goutte traitée par allopurinol et parfois colchicine en cas de crise. Il prend aussi du calcium et de la vitamine D en comprimé suite à une fracture il y a 4 ans.

A l'auscultation pulmonaire, il n'y a rien d'anormal. Le médecin lui prescrit du paracétamol, 1g trois fois par jour, sans antibiothérapie associé. Il lui donne rendez-vous 4 jours plus tard pour voir l'évolution.

1/ Quelle(s) infection(s) et pathogène(s) peut-on suspecter en priorité devant ce tableau ? Justifier. Quelle(s) information(s) manque-t-il dans l'histoire du patient pour confirmer votre hypothèse ?

2/ L'absence d'antibiothérapie vous parait-elle justifiée ? Pourquoi ?

Quatre jours plus tard, le patient reconsulte son médecin. Son état n'a pas évolué avec des quintes de toux sèches, sans crachats. Il est toujours asthénique et fiévreux à 38.5°C, sans frissons. Il n'a pas de douleurs thoraciques. A l'auscultation pulmonaire est perturbée avec des râles crépitants bilatéraux, sans foyer identifié. Le médecin suspecte une pneumonie et prescrit le médicament suivant :

- *Clarithromycine, 500 mg matin et soir, pendant 7 jours*

3/ Quels éléments de l'énoncé sont évocateurs d'une pneumonie ? Quels sont les principaux pathogènes responsables ?

4/ Discuter l'intérêt potentiel de faire un prélèvement biologique (dire lequel) pour confirmer le diagnostic dans le contexte du patient.

5/ Faut-il hospitaliser le patient (justifier votre réponse) ?

6/ Commenter le choix de l'antibiotique fait par le médecin par rapport aux recommandations thérapeutiques officielles. Quels arguments pourraient justifier ce choix chez ce patient ?

7/ La durée de traitement est-elle adaptée ? Justifier votre réponse.

8/ Y-a-t-il des interactions médicamenteuses potentielles entre la clarithromycine et le traitement habituel du patient ? Justifier. Le cas échéant, indiquer le mécanisme, les risques et la conduite à tenir.

9/ Dans la rubrique « effets indésirables », le RCP de la clarithromycine mentionne : « syndrome DRESS». Expliquer ce que signifie l'acronyme et les signes cliniques de ce syndrome. Quelle est la conduite à tenir en cas de survenue ?

Exercice 2 : cas clinique 2

Votre ami Kylian, 22 ans, veut profiter des vacances universitaires pour partir en vacances pendant 1 mois en Afrique en voyage itinérant. Il prévoit de partir d'ici 6 mois et de visiter le Burkina Faso, le Bénin et le Ghana.

Kylian n'a pas d'antécédent particulier et ne prend pas de traitement. Il est sportif et pratique notamment la plongée sous-marine pendant ses voyages. Il est à jour de ses vaccinations contre diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, Haemophilus influenzae, rougeole, oreillon, rubéole, tuberculose. Il vous demande des conseils sur les précautions à prendre en vue de son voyage.

1/ Quelles vaccinations sont à envisager pour Kylian compte-tenu de sa destination ?

2/ Quelles sont les précautions à prendre sur place concernant la rage ? Que faut-il faire sur place en cas d'exposition suspectée ou avérée ?

3/ Pour la prophylaxie du paludisme, Kylian ne souhaite pas prendre d'atovaquone-proguanil car il en a déjà pris lors d'un voyage il y a deux ans et l'a mal toléré.
Quelles sont les autres options de prophylaxie ? Quel médicament est à privilégier pour Kylian et pour quelle(s) raison(s) ?

4/ Concernant le médicament le plus adapté évoqué à la Q3, quels sont ses principaux effets indésirables et quels sont les conseils à donner pour en éviter certains ?

5/ Quelles sont les mesures les plus efficaces pour éviter les piqûres de moustiques vecteurs du paludisme sur place ?

6/ Expliquer ce qu'est le DEET, les modalités d'emploi et les précautions à prendre avec les produits qui en contiennent en général (pas uniquement dans le cas de Kylian)

7/ Quel(s) antibiotique(s) (sur prescription médicale) Kylian peut-il emporter avec lui et prendre en cas de diarrhée aigüe bactérienne présumée ? Vous indiquerez la classe pharmacologique et les principaux effets indésirables.

8/ Quels sont les deux types de syndromes diarrhéiques aigus d'origine bactérienne ? Pour chaque syndrome, indiquer la physiopathologie, les signes cliniques caractéristiques et citer les principaux pathogènes responsables.

9/ Citer au moins 5 médicaments et produits de santé que vous conseilleriez à Kylian d'emmener dans sa trousse à pharmacie pour le séjour sur place.

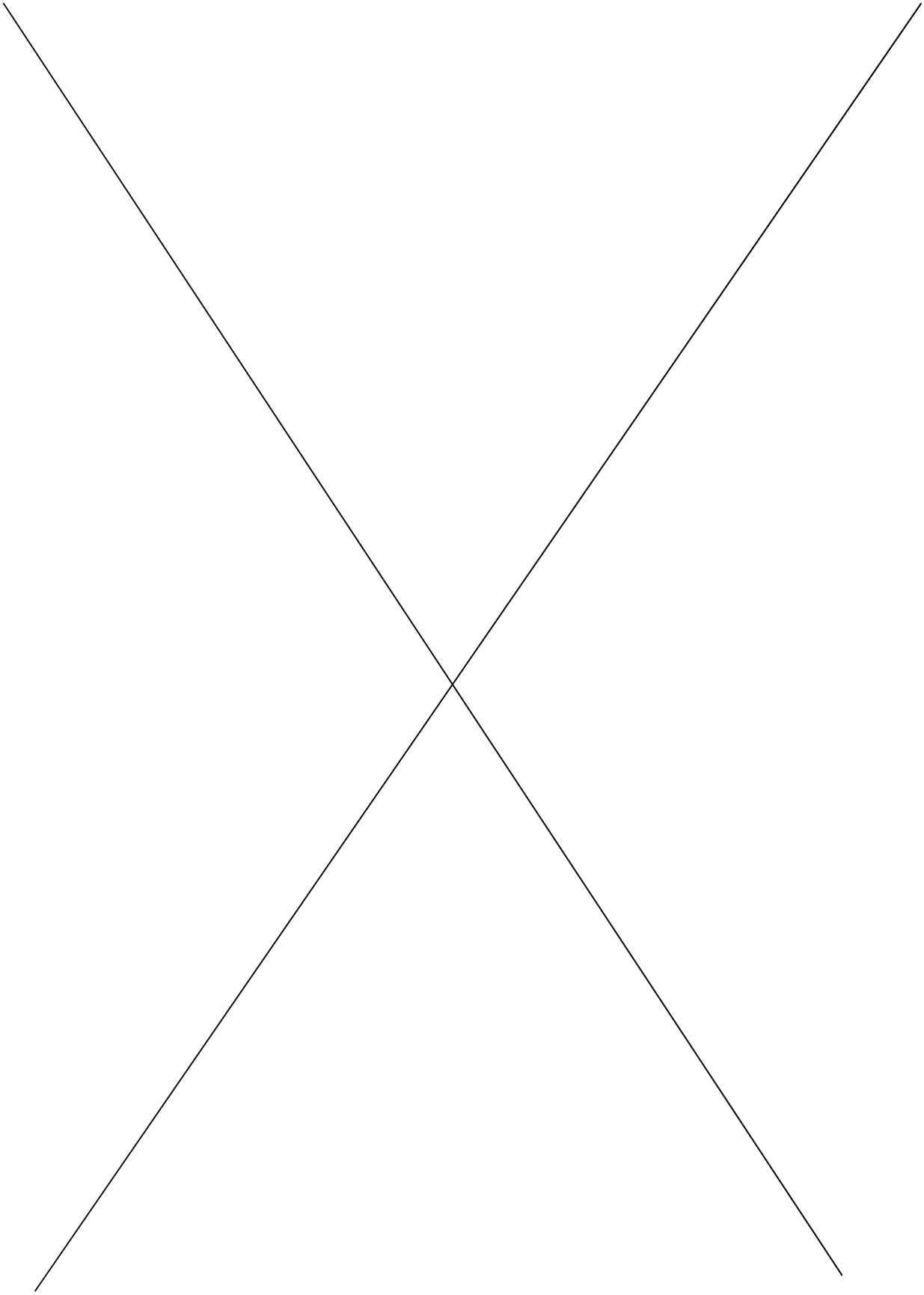
Exercice 3 : cas clinique 3

Une maman se présente à l'officine pour vous demander conseil sur le choix d'un produit anti-poux. Elle a découvert des poux sur la tête de son fils Jules, 6 ans. Il y a plusieurs autres cas dans la classe de Jules à l'école. Le petit frère de Jules, Noah, n'en a pas selon la maman.

1/ Quel produit proposeriez-vous en première intention ? Pour quelle raison ? Quel est son mécanisme d'action ?

2/ Quelles sont les modalités d'emploi de ce produit pour Jules ?

3/ Quels autres conseils donneriez-vous à cette maman pour garantir l'efficacité du traitement ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC STI CC*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE CONTROLE TERMINAL
UELC Stratégies Thérapeutiques en Infectiologie

DFGSP3
Année 2023/2024

Semestre printemps
CONTROLE TERMINAL

FASCICULE n° 1 (de 1 à 1)

DUREE DE L'EPREUVE : 60 minutes, comprenant 1 fascicule

Ce fascicule n°1 comprend :

- 3 cas cliniques avec QROC

Calculatrice : autorisée
Tous documents papiers autorisés
Tous les documents et appareils électroniques sont interdits (téléphone, ordinateur, tablettes…)

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 *pages numérotées de 1 à 8*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule N°1

UELC STI
Pr Sylvain Goutelle

Exercice 1 : cas clinique 1

Monsieur B., retraité âgé de 67 ans, 1,65m, 77 kg, consulte son médecin au mois de janvier pour une toux sèche d'apparition progressive, avec fièvre à 39°C et une grande fatigue, depuis 4 jours. Il rapporte que deux de ses amis présentent les mêmes symptômes depuis 3 jours également. Ils ont tous participé à un concours de belote la semaine précédente.

Le patient est en bonne santé par ailleurs. Il a uniquement comme antécédents de l'hypertension artérielle traitée par hydrochlorothiazide + valsartan, une hypercholestérolémie traitée par simvastatine et des antécédents de goutte traitée par allopurinol et parfois colchicine en cas de crise. Il prend aussi du calcium et de la vitamine D en comprimé suite à une fracture il y a 4 ans.

A l'auscultation pulmonaire, il n'y a rien d'anormal. Le médecin lui prescrit du paracétamol, 1g trois fois par jour, sans antibiothérapie associé. Il lui donne rendez-vous 4 jours plus tard pour voir l'évolution.

1/ Quelle(s) infection(s) et pathogène(s) peut-on suspecter en priorité devant ce tableau ? Justifier. Quelle(s) information(s) manque-t-il dans l'histoire du patient pour confirmer votre hypothèse ?

2/ L'absence d'antibiothérapie vous parait-elle justifiée ? Pourquoi ?

Quatre jours plus tard, le patient reconsulte son médecin. Son état n'a pas évolué avec des quintes de toux sèches, sans crachats. Il est toujours asthénique et fiévreux à 38.5°C, sans frissons. Il n'a pas de douleurs thoraciques. A l'auscultation pulmonaire est perturbée avec des râles crépitants bilatéraux, sans foyer identifié. Le médecin suspecte une pneumonie et prescrit le médicament suivant :

- *Clarithromycine, 500 mg matin et soir, pendant 7 jours*

3/ Quels éléments de l'énoncé sont évocateurs d'une pneumonie ? Quels sont les principaux pathogènes responsables ?

4/ Discuter l'intérêt potentiel de faire un prélèvement biologique (dire lequel) pour confirmer le diagnostic dans le contexte du patient.

5/ Faut-il hospitaliser le patient (justifier votre réponse) ?

6/ Commenter le choix de l'antibiotique fait par le médecin par rapport aux recommandations thérapeutiques officielles. Quels arguments pourraient justifier ce choix chez ce patient ?

7/ La durée de traitement est-elle adaptée ? Justifier votre réponse.

8/ Y-a-t-il des interactions médicamenteuses potentielles entre la clarithromycine et le traitement habituel du patient ? Justifier. Le cas échéant, indiquer le mécanisme, les risques et la conduite à tenir.

9/ Dans la rubrique « effets indésirables », le RCP de la clarithromycine mentionne : « syndrome DRESS». Expliquer ce que signifie l'acronyme et les signes cliniques de ce syndrome. Quelle est la conduite à tenir en cas de survenue ?

Exercice 2 : cas clinique 2

Votre ami Kylian, 22 ans, veut profiter des vacances universitaires pour partir en vacances pendant 1 mois en Afrique en voyage itinérant. Il prévoit de partir d'ici 6 mois et de visiter le Burkina Faso, le Bénin et le Ghana.

Kylian n'a pas d'antécédent particulier et ne prend pas de traitement. Il est sportif et pratique notamment la plongée sous-marine pendant ses voyages. Il est à jour de ses vaccinations contre diphtérie, tétanos, poliomyélite, coqueluche, Haemophilus influenzae, rougeole, oreillon, rubéole, tuberculose. Il vous demande des conseils sur les précautions à prendre en vue de son voyage.

1/ Quelles vaccinations sont à envisager pour Kylian compte-tenu de sa destination ?

2/ Quelles sont les précautions à prendre sur place concernant la rage ? Que faut-il faire sur place en cas d'exposition suspectée ou avérée ?

3/ Pour la prophylaxie du paludisme, Kylian ne souhaite pas prendre d'atovaquone-proguanil car il en a déjà pris lors d'un voyage il y a deux ans et l'a mal toléré.
Quelles sont les autres options de prophylaxie ? Quel médicament est à privilégier pour Kylian et pour quelle(s) raison(s) ?

4/ Concernant le médicament le plus adapté évoqué à la Q3, quels sont ses principaux effets indésirables et quels sont les conseils à donner pour en éviter certains ?

5/ Quelles sont les mesures les plus efficaces pour éviter les piqûres de moustiques vecteurs du paludisme sur place ?

6/ Expliquer ce qu'est le DEET, les modalités d'emploi et les précautions à prendre avec les produits qui en contiennent en général (pas uniquement dans le cas de Kylian)

7/ Quel(s) antibiotique(s) (sur prescription médicale) Kylian peut-il emporter avec lui et prendre en cas de diarrhée aigüe bactérienne présumée ? Vous indiquerez la classe pharmacologique et les principaux effets indésirables.

8/ Quels sont les deux types de syndromes diarrhéiques aigus d'origine bactérienne ? Pour chaque syndrome, indiquer la physiopathologie, les signes cliniques caractéristiques et citer les principaux pathogènes responsables.

9/ Citer au moins 5 médicaments et produits de santé que vous conseilleriez à Kylian d'emmener dans sa trousse à pharmacie pour le séjour sur place.

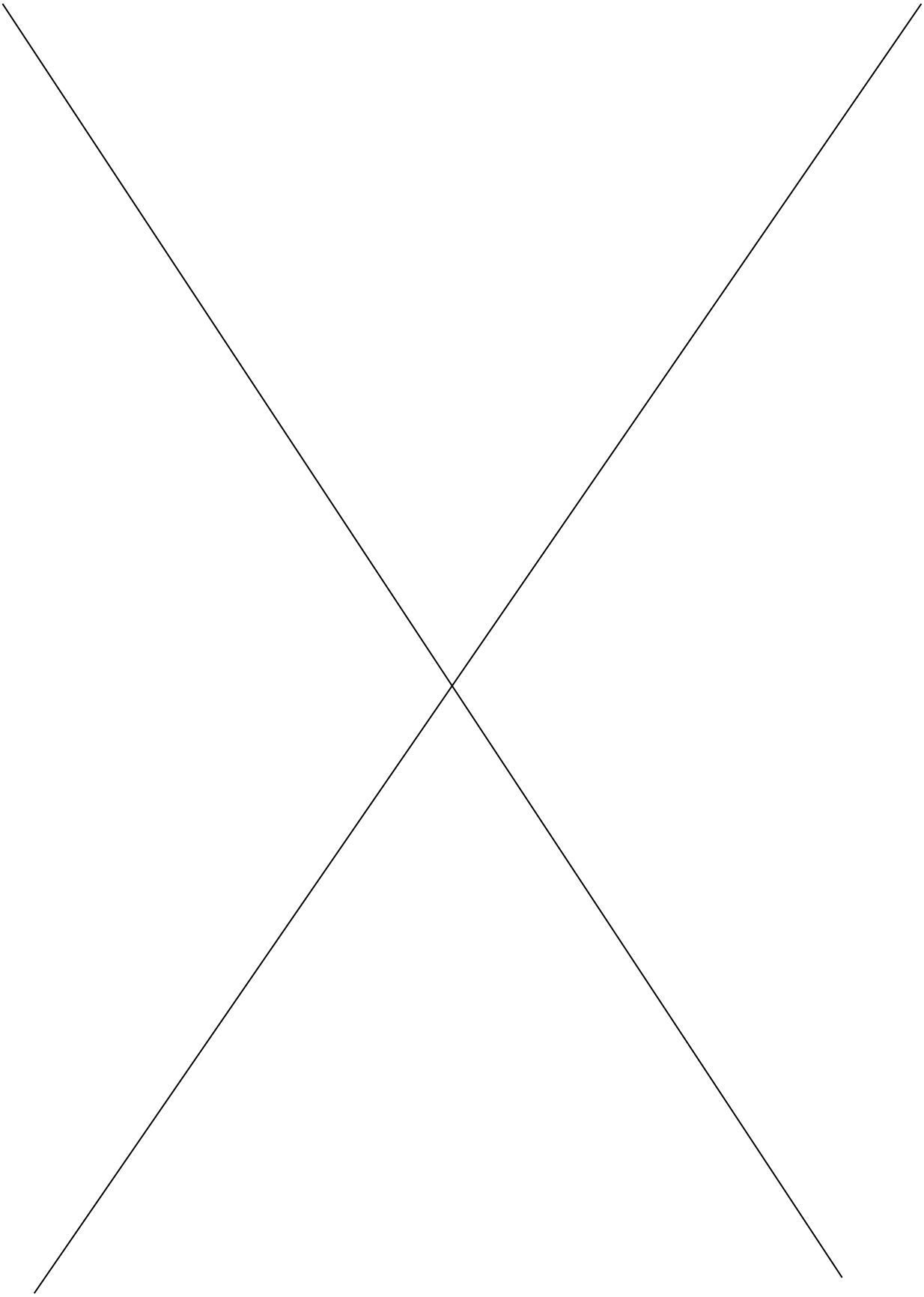
Exercice 3 : cas clinique 3

Une maman se présente à l'officine pour vous demander conseil sur le choix d'un produit anti-poux. Elle a découvert des poux sur la tête de son fils Jules, 6 ans. Il y a plusieurs autres cas dans la classe de Jules à l'école. Le petit frère de Jules, Noah, n'en a pas selon la maman.

1/ Quel produit proposeriez-vous en première intention ? Pour quelle raison ? Quel est son mécanisme d'action ?

2/ Quelles sont les modalités d'emploi de ce produit pour Jules ?

3/ Quels autres conseils donneriez-vous à cette maman pour garantir l'efficacité du traitement ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : **Synthèse, réactivité et caractérisation de composés aromatiques**

N° de PLACE:

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE L'UELC
« Synthèse, réactivité et caractérisation de composés aromatiques »

DFGSP2, DFGSP3 et DFASP1
Année 2023 / 2024

Semestre printemps
Session initiale

1 FASCICULE

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 1 fascicule + annexes IR et RMN

Ce fascicule comprend **5** exercices sous forme de QROC:

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait _____ pages numérotées de 1 à 10

UELC « Synthèse, réactivité et caractérisation de composés aromatiques »
Responsable de l'UE : S. Radix

Enseignants de l'UE : A. Garrido, C. Marminon, P. Nebois, S. Radix, L. Rocheblave

NOTATION : *Exercice 1 + Exercice 2 = 12 points*

NB : Calcul du nombre d'insaturations pour $C_aH_bN_cO_d$ ***NI = (2a+2-b+c) / 2***

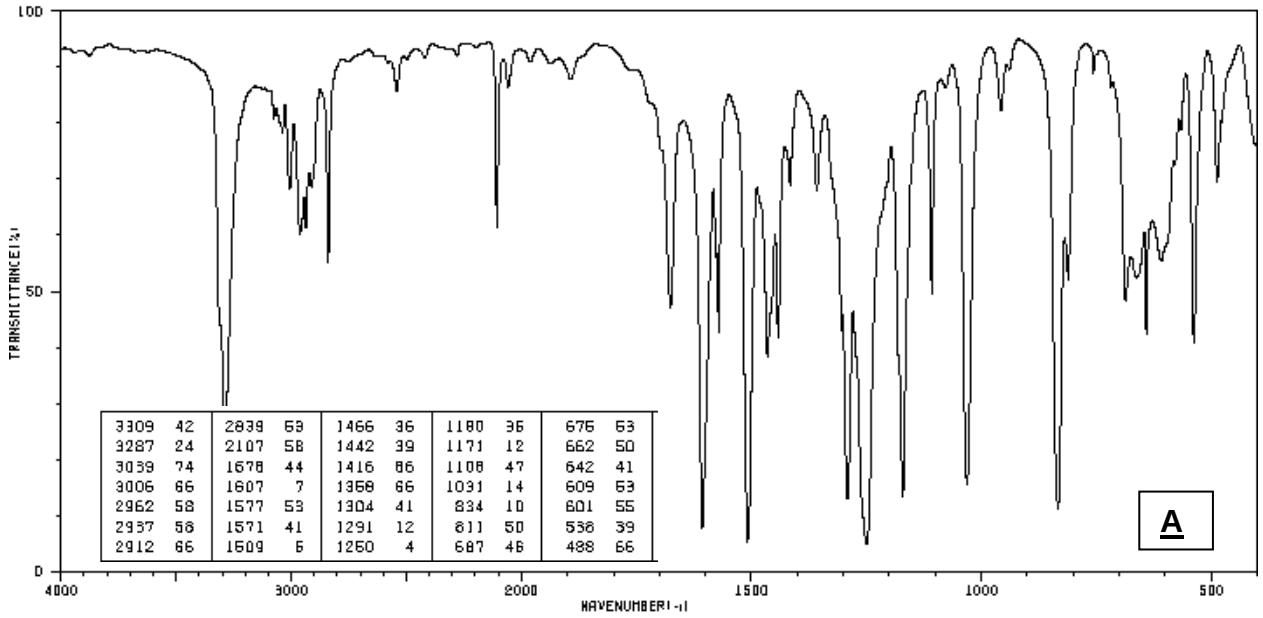
Exercice n°1

Soit l'hydrolyse acide en présence de sels de mercure du composé **A** :

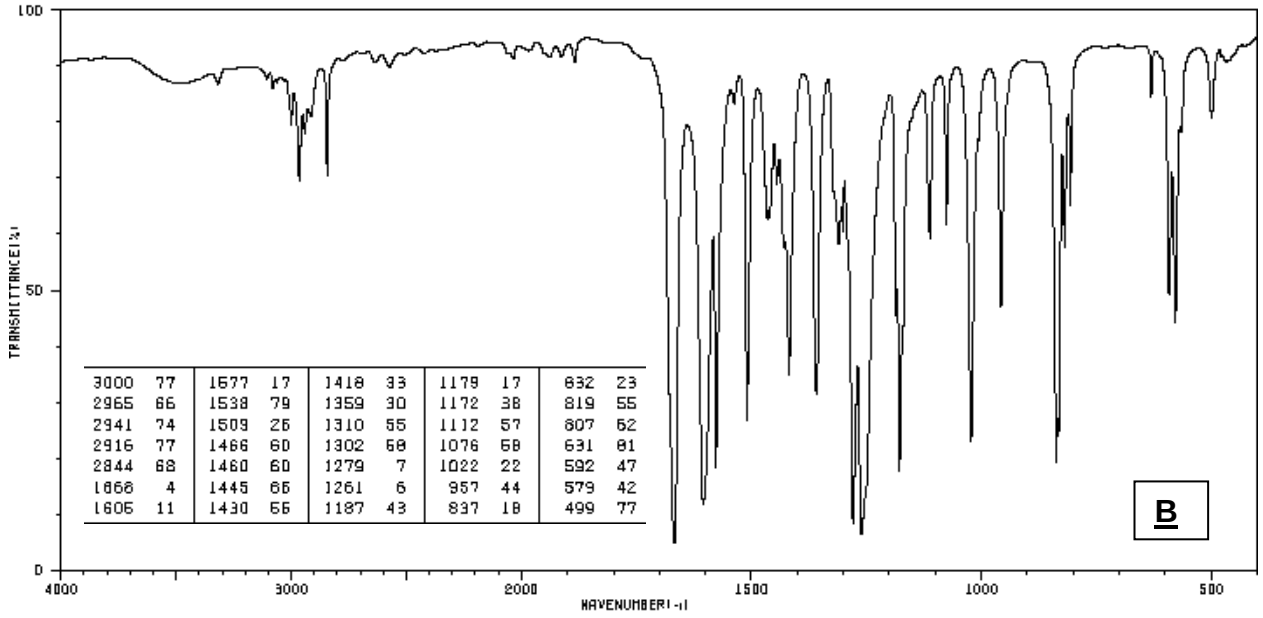
$$\underset{(C_9H_8O)}{\mathbf{A}} \xrightarrow[\text{sels de Hg}]{H_2SO_4,\ H_2O} \mathbf{B}\ (\text{Maj}) \quad + \quad \mathbf{C}\ (\text{min})$$

Sachant que **B** et **C** ont la même formule brute $C_9H_{10}O_2$, donner les structures des composés **A** et **B** en vous aidant des spectres IR et RMN ^{13}C Broad Band ci-dessous.

a) Annoter les spectres IR pour justifier vos réponses finales.

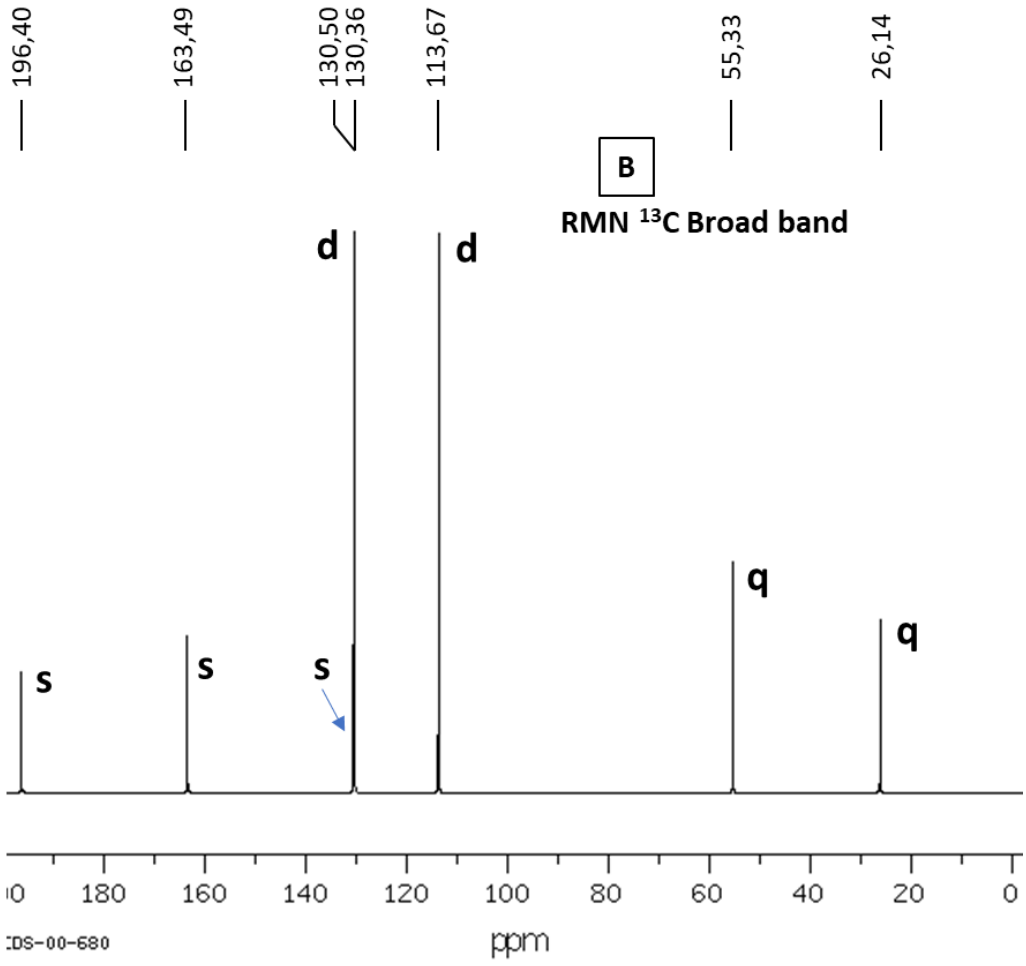


3309	42	2839	69	1466	36	1180	36	676	63
3287	24	2107	58	1442	39	1171	12	662	50
3039	74	1678	44	1416	86	1108	47	642	41
3006	66	1607	7	1368	66	1031	14	609	63
2962	58	1577	53	1304	41	834	10	601	55
2937	58	1571	41	1291	12	811	50	538	39
2912	66	1509	6	1250	4	687	46	488	66



3000	77	1577	17	1418	33	1179	17	832	23
2965	66	1538	79	1359	30	1172	38	819	55
2941	74	1509	26	1310	55	1112	57	807	62
2916	77	1466	60	1302	68	1076	68	631	81
2844	68	1460	60	1279	7	1022	22	592	47
1868	4	1445	66	1261	6	957	44	579	42
1606	11	1430	56	1187	43	837	18	499	77

Le spectre RMN ^{13}C broad band ci-dessous a été enregistré pour le composé **B** :



b) Indiquer, **<u>directement sur le spectre RMN ^{13}C broad band ci-dessus</u>** enregistré pour le composé **B**, la multiplicité (CH_3, CH_2, CH, Cquat) des carbones pour chacun des signaux ainsi que le nombre de carbones correspondant à chaque signal.

c) Quelle autre expérience RMN ^{13}C est couramment utilisée pour mettre en évidence la multiplicité des carbones dans un composé ? Expliquer brièvement comment interpréter le spectre obtenu.

d) A quelle fonction chimique peut correspondre le pic à 196,40 ppm ?

e) A quel groupement chimique peut correspondre le pic à 55,33 ppm ?

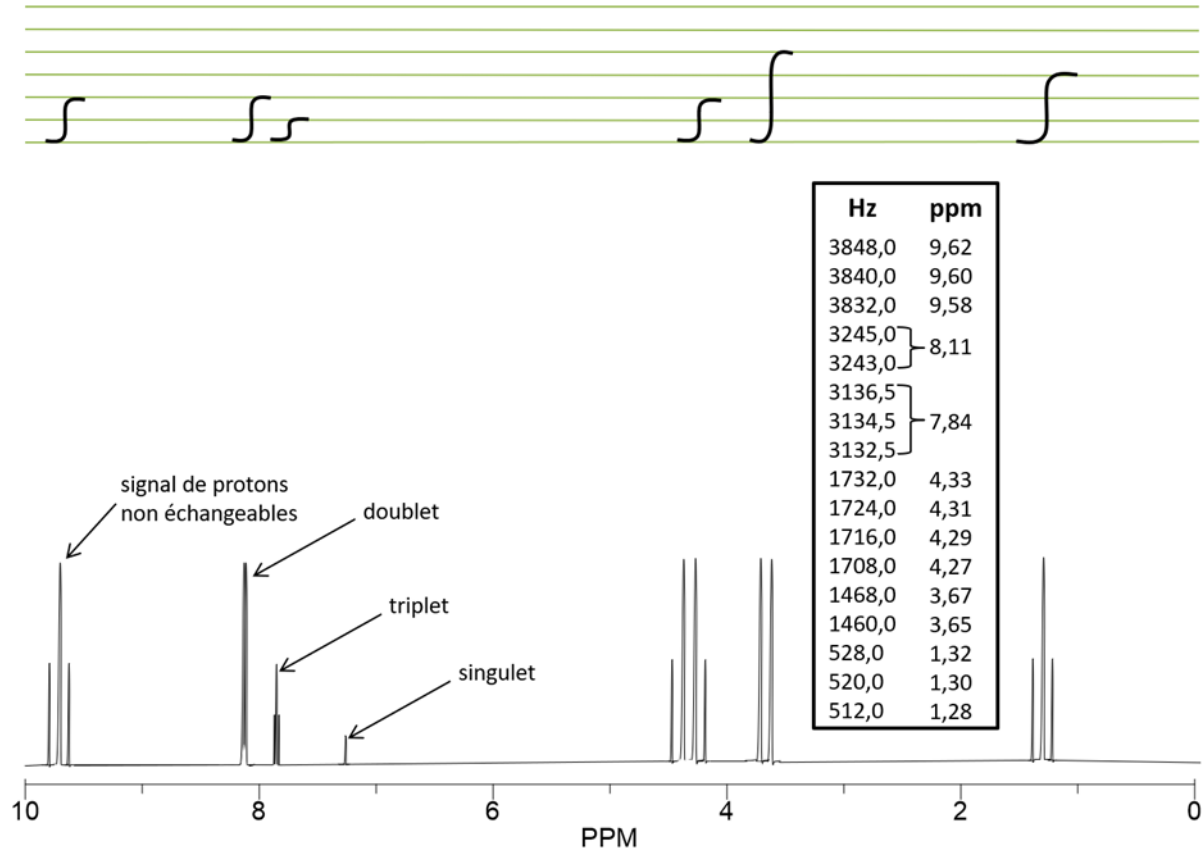
f) Proposer une structure pour le composé **A** en accord avec l'IR et une structure pour le composé **B** en accord avec la RMN ^{13}C et l'IR :

Composé A	**Composé B**

g) On sait par ailleurs que le spectre RMN ^{13}C broad band enregistré pour le composé **C**, minoritairement obtenu lors de la réaction, montre un pic à 199,60 ppm qui est également visible sur le spectre DEPT 135 correspondant à ce composé. Comment peut-on interpréter ce signal ?

Exercice n°2

Soit les données suivantes concernant un composé organique, de formule brute $C_{13}H_{14}O_4$, dont le spectre de RMN du proton ci-après a été enregistré après une dissolution dans du $CDCl_3$ d'une pureté de 98%.



Hz	ppm
3848,0	9,62
3840,0	9,60
3832,0	9,58
3245,0 – 3243,0	8,11
3136,5 – 3134,5 – 3132,5	7,84
1732,0	4,33
1724,0	4,31
1716,0	4,29
1708,0	4,27
1468,0	3,67
1460,0	3,65
528,0	1,32
520,0	1,30
512,0	1,28

a) A quoi correspond le seul signal singulet présent dans ce spectre ?

b) En analysant les données du spectre de RMN, identifier les signaux correspondants aux différents protons ou groupes de protons chimiquement différents constituant ce composé.

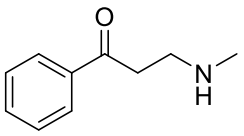
Identifiant du proton ou groupe de protons	**δ (ppm)**	**nombre de proton(s)**	**multiplicité**	**J (Hz)** *(le cas échéant)*
A				
B				
C				
D				
E				
F				

c) Proposez ci-dessous une structure pour ce composé, en y mentionnant l'identifiant du tableau ci-dessus pour chaque proton ou groupe de protons :

NOTATION : *Exercice 3 + Exercice 4 = 6 points*

Exercice n°3

Soit la structure du composé **1** :

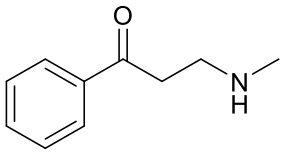


1

a) Indiquer les positions α et β directement sur la structure du composé **1** ci-dessus.

b) Ecrire la structure des réactifs permettant de synthétiser le composé **1** par réaction de Mannich (rétrosynthèse). Attribuer, pour chaque réactif, les lettres correspondantes sachant que **A** est un composé non énolisable, **B** possède une bande d'absorption IR caractéristique à 1715 cm^{-1} et **C** a des propriétés basiques.

A + **B** + **C** ⟶



1

A	**B**	**C**

c) Complétez le protocole de synthèse du composé **1** en utilisant les mots-clés appropriés parmi la liste ci-dessous :

B	**C**	Chromatographie sur couche mince	Filtrat
Précipité	Recristallisation	Extraction liquide/liquide	Filtration sous vide

Dans un réacteur Radley, introduire le composé **A** (solution 37 % aq., 430.3 mmol, 1.0 eq), et le composé **……** (51.7 g, 430.3 mmol, 1.0 eq) dans 8 mL de MeOH. Laisser agiter pendant 20 min dans un bain de glace. Ensuite, ajouter le composé **……** (13.4 g, 430.3 mmol, 1.0 eq) et chauffer le milieu réactionnel à 60 °C pendant 1h30. Après refroidissement, filtrer sous vide et récupérer le **……** et le purifier par **……** dans 20 mL d'acétate d'éthyle. Filtrer puis sécher le produit sous vide à l'évaporateur rotatif.

Exercice n°4

Donner un exemple de principe actif totalement synthétique et un exemple de molécule d'origine naturelle.

Principe actif synthétique	**Molécule d'origine naturelle**

Exercice n°5 (2 points)

Le diester **A** (*E*, *E*)-1,4-diacétoxybuta-1,3-diène est chauffé dans le toluène à 90°C en présence d'une quantité équimolaire d'acide prop-2-ènoïque **B** pour conduire à la formation d'un mélange de 4 produits **C**, **D**, **E** et **F** qui ont tous la même formule brute $C_{11}H_{14}O_6$. Les mélanges **C**/**D** et **E**/**F** sont deux mélanges racémiques. Par deux recristallisations successives, le mélange **C**/**D** est aisément obtenu pur et correspond aux produits majoritairement obtenus. Une analyse des constantes de couplage du mélange **C**/**D** en RMN du proton permet d'attribuer une configuration cis des groupements $OCOCH_3$ et COOH voisins.

a) Donner les structures des composés **A** à **E**.

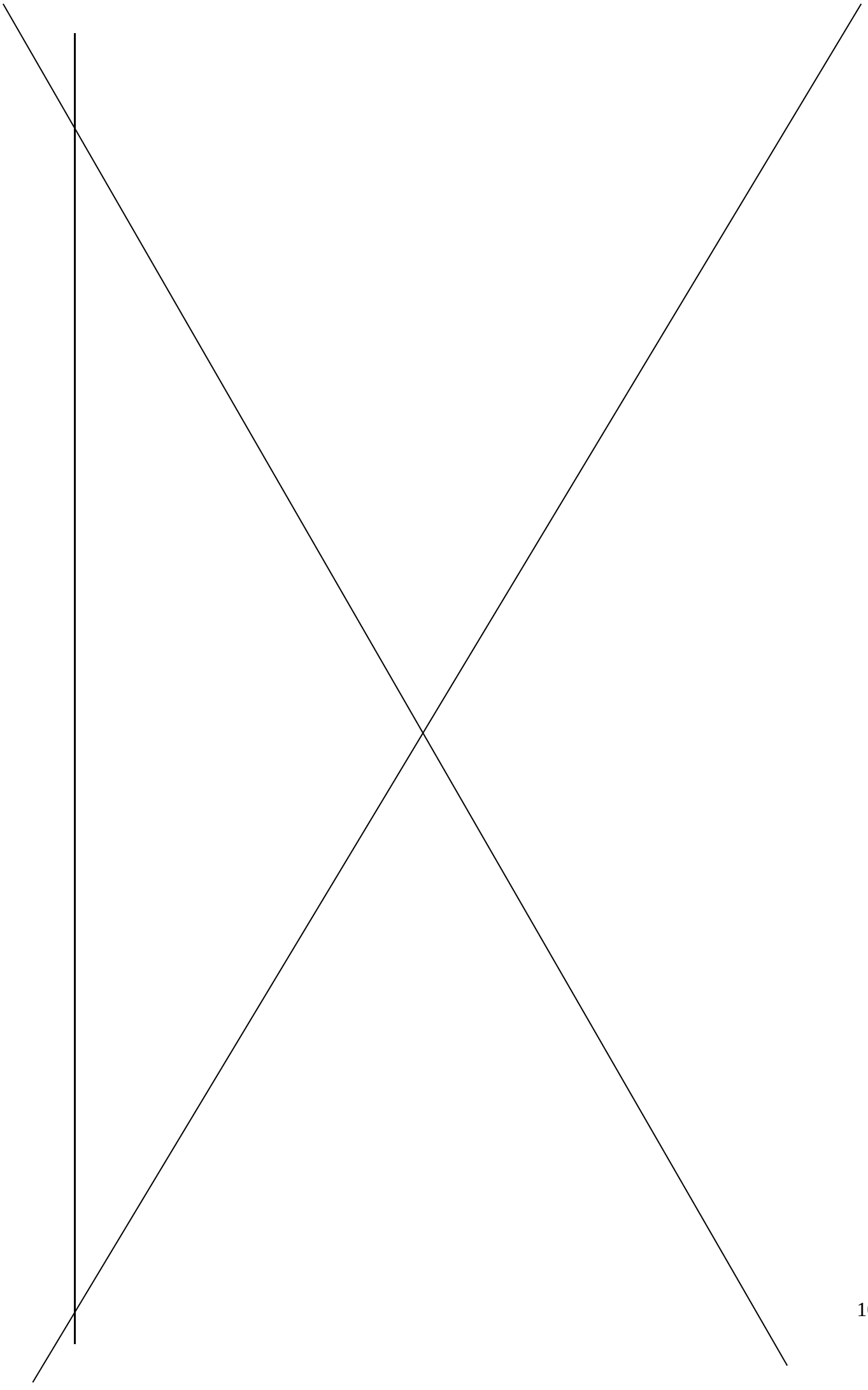
A	**B**
C et **D**	
E et **F**	

b) Donner le nom de la réaction ci-dessus.

Nom de la réaction :……..

c) Expliquer pourquoi les composés **C** et **D** sont majoritaires. Quel est le nom de l'approche du diénophile vis-à-vis du diène ?

d) Indiquer pourquoi il est possible de séparer le mélange **C**/**D** par recristallisation du mélange **E**/**F** alors que l'on ne peut pas séparer **C** de **D** et **E** de **F**.



UELC « Synthèse, réactivité et caractérisation de composés aromatiques »
Semestre de printemps 2023-2024

ANNEXES IR	***p 2-3***
ANNEXES RMN ^{1}H	***p 4***
ANNEXES RMN ^{13}C	***p 5-7***

C. Marminon, P. Nebois, S. Radix

linear alkanes

stretch

Vibration	wavenb
CH_3 (asym)	2962±10
(sym)	2872±10
CH_2 (asym)	2926±10
(sym)	2855±10

bend

Vibration	wavenb
CH_3	1460±10
CH_3 *(umbrella)*	**1375**±10
CH_2	1455±10
CH_2	**720**±10

Alkenes (C=C)

Functional group	Position CH
saturated	<3000
insaturated	>3000
H_2C=	3090-3075

Stretch CH	3000-3075
C=C stretch	1680-1630
C-H bend	815-990 (caract) Vinyl 990±5, 905±5; Vinylidine 890±5; cis: 690±50; trans: 965±5, trisubs: 815±25

Alkynes (C≡C) and nitriles (C≡N)

	Mono subst.	Disubst.
stretch C≡C	2140-2100	2260-2190
Stretch CH	3350-3250	-
Bend CH	700-600	-

Vibration	wavenb
CN	2260-2240 (sat.), 2240-2220 (arom.)

Amines ($C-NR_2$)

Vibr.	Sat.	Arom.
NH_2	3380-3350	3500-3420
NH_2	3310-3280	3420-3340
NH_2	1650-1580	1650-1580
CN	1250-1020	1350-1250
NH_2	850-750	850-750

amine I

Vibr.	Sat.	Arom.
NH	3320-3280	3400
CN	1180-1130	1350-1250
NH	750-700	750-700

amine II

Vibr.	Sat.	Arom.
CN	1250-1020	1350-1250

amine III

nitro ($C-NO_2$)

Vibration	wavenb
NO_2 asym	1550-1500
NO_2 sym	1390-1330

Alcohols (C-OH)

Vibration	wavenb
O-H (stretch)	3350±50
(bend)	1350±50, 650±50
C-C-O (stretch)	1075-1000 I 1150-1075 II 1210-1100 III 1260-1200 PhOH

ether (C-O-C)

ether	Asym. C-O-C	Sym. C-O-C
sat., lin.	1140-1070 (1 b)	890-820
sat., ram.	1210-1070 (2 b or +)	890-820
alkyl, aryl	1300-1200/1050-1010	-
aryl	1300-1200	-

Vibration	OCH_3	OCH_2
CH (asym stretch)	2970-2920	2955-2920
(sym stretch)	**2830**±10	2878-2835
umbrella	1470-1440	

aromatics

substitution	Vibration	Nbe onde
mono	C-H	770-730 (s, l)
	ring	710-690 (s)
ortho	C-H	*1000-960 (w)**
		770-735 (s)
Meta	C-H	*900-860 (m)**
		810-750 (s, l)
	ring	730-680 (m)
para	C-H	860-800 (s)

substitution	Nbe onde
1,2,3,4	860-800 (s)
1,2,3	1000-960 (w) / 820-750 (s, l) / 730-680 (m)
1,2,4	1000-960 (w) / 900-860 (m) / 860-800 (s)
1,3,5	865-810 (s) / 735-660 (s)
1,2,3,5 1,2,4,5 1,2,3,4,5	960-860 (m)

Carbonyles (C=O)

Aldehyde (H-CO-C)

Vibration	wavenb
C=O sat.	1730 ±10
C=O arom.	1710-1685
C-H	1390 ±10
C-H	2850-2700

Ketone (C-CO-C)

Vibration	wavenb
C=O sat.	1715 ±10
C=O arom.	1700-1640
C-C-C sat.	1230-1100
C-C-C insat.	1300-1230

carboxylic acid (C-CO-OH)

Vibration	wavenb
C=O sat.	1730 -1700
C=O arom.	1710-1680
C-H	1320-1210
O-H	3500-2500 (b)
O-H	1440-1395
O-H	960-900

Ester (C-CO-O-C)

Sat.

Vibration	wavenb
C=O	1750-1735
C-C-O	1210-1160
C-C-O	1100-1030

Arom.

Vibration	wavenb
C=O	1730-1715
C-C-O	1310-1250
C-C-O	1130-1000

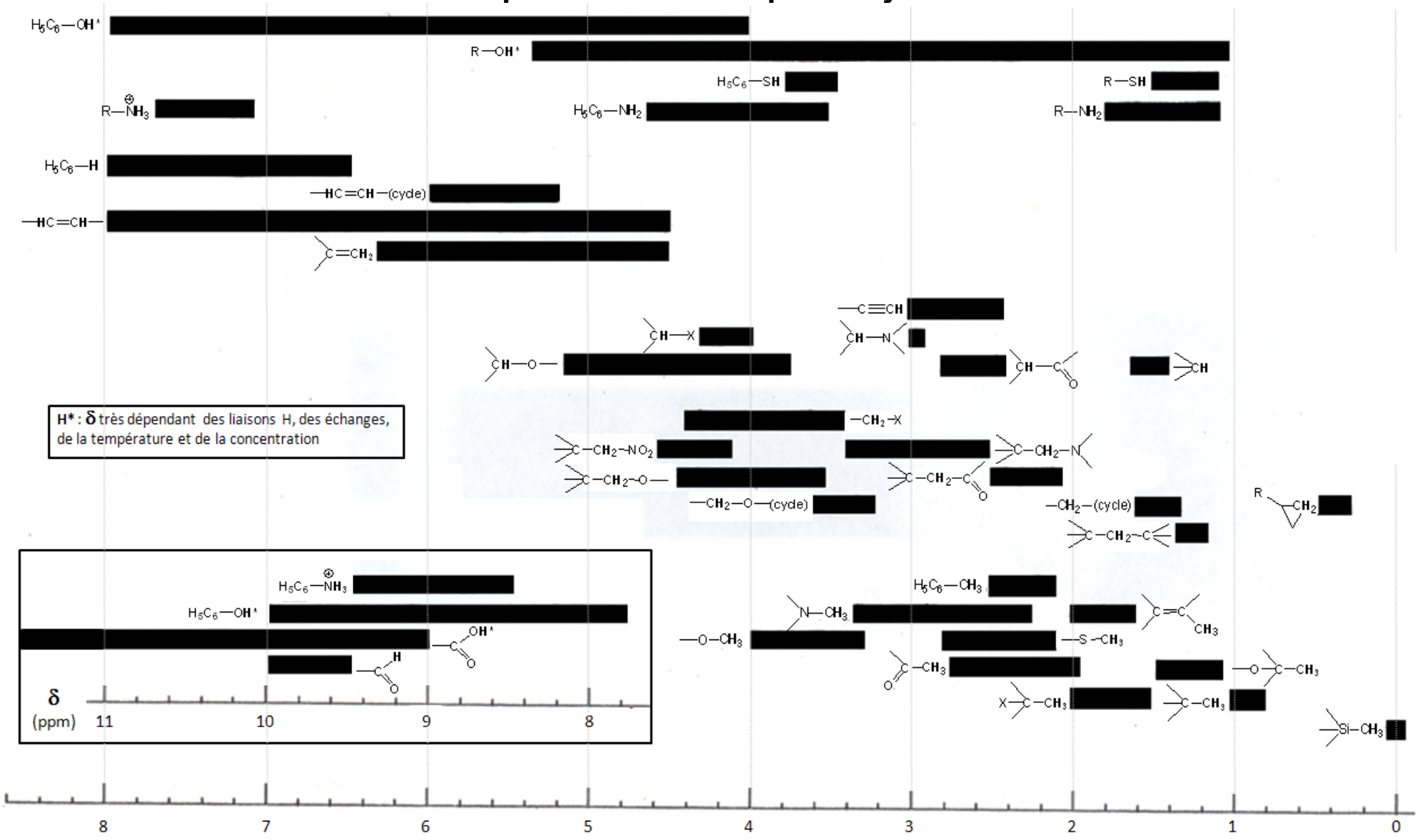
Amide (C-CO-NR_2)

Vibration	wavenb
C=O sat.	1680 -1630
C-N	1500-1230
N-H (**I**)	3370-3170 2 bands
	1650-1620
	750-600 (large)
N-H (**II**)	3370-3170 1 band
	1570-1515 (strong)
	750-680 (broad)

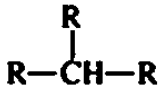
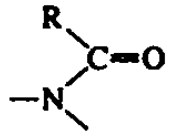
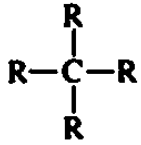
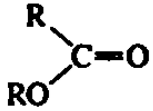
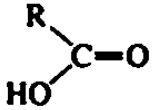
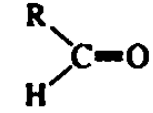
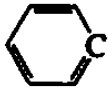
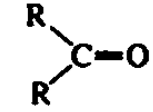
Imide (CO-N-CO)

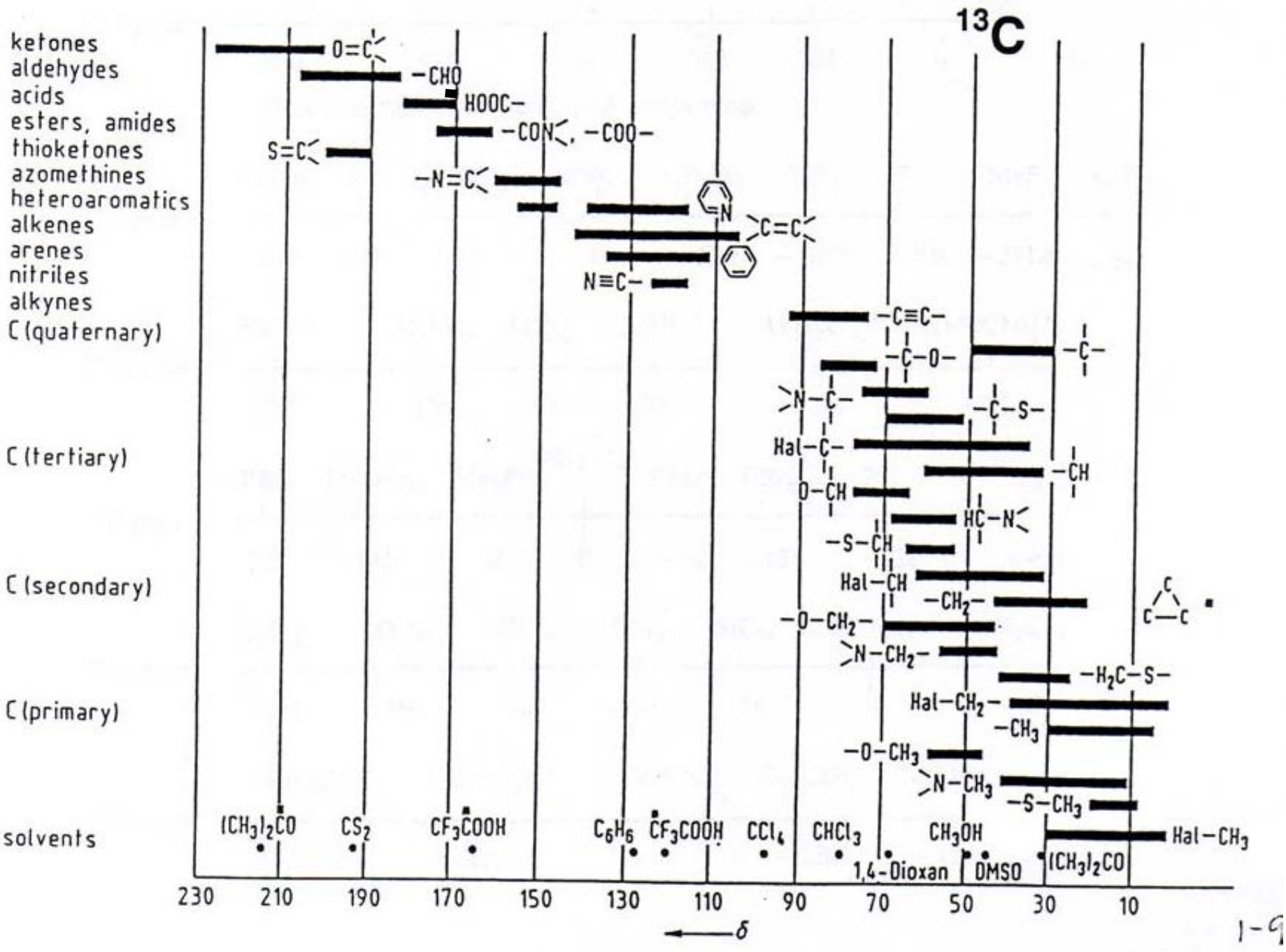
Vibration	wavenb Straight chain	wavenb Cyclic
N-H	3200 ± 50	3200 ± 50
C=O	1740-1670	1790-1735
		1750-1680
N-H	1505	-
C-N	1235-1165	-

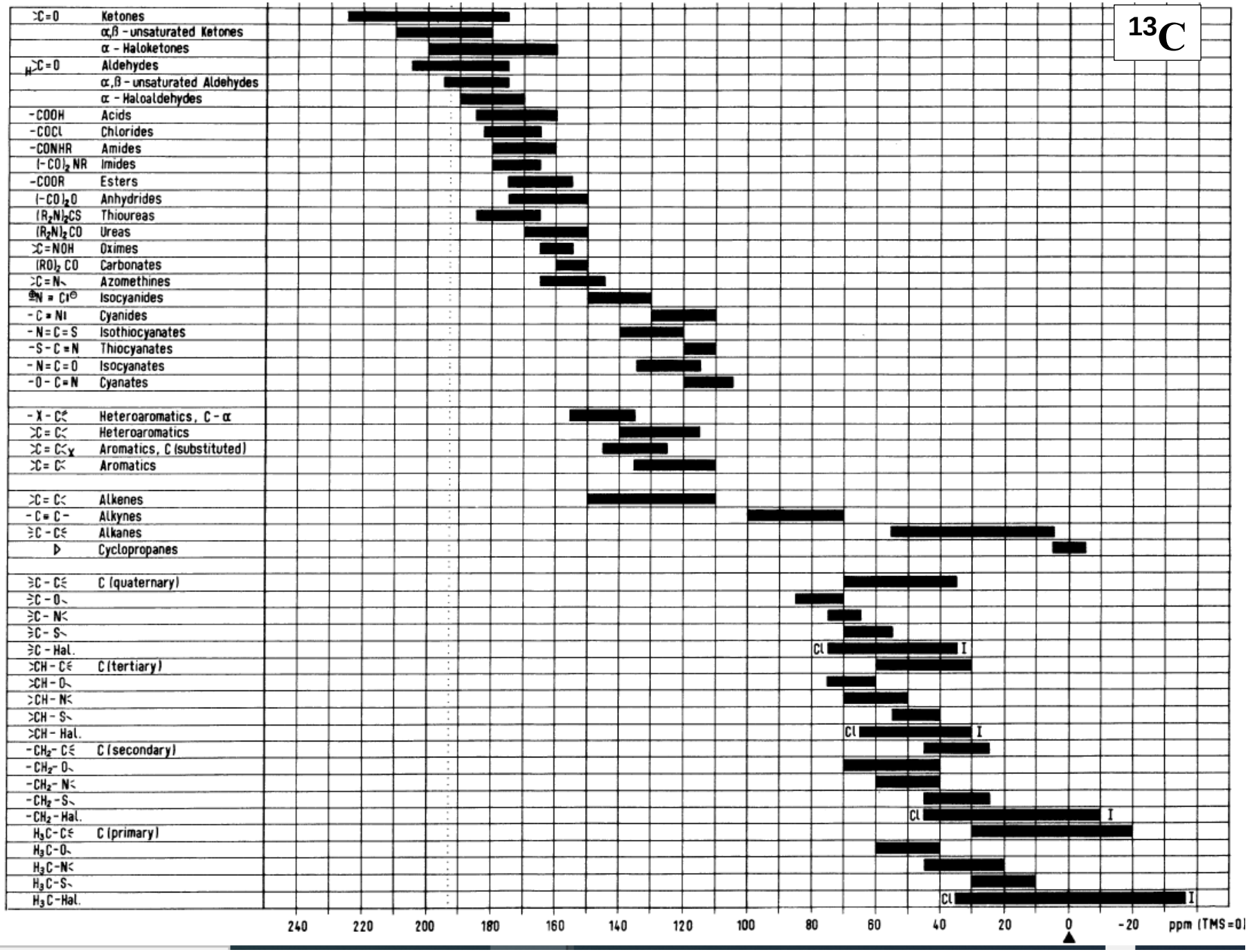
Tables des déplacements chimiques moyens en RMN ^1H



Tables des déplacements chimiques moyens en RMN ^{13}C

Type of carbon	Approximate chemical shift (ppm)	Type of carbon	Approximate chemical shift (ppm)
$(CH_3)_4Si$	0	C—I	0–40
R—CH_3	8–35	C—Br	25–65
R—CH_2—R	15–50	C—Cl C—N C—O	35–80 40–60 50–80
	20–60		165–175
	30–40		165–175
≡C	65–85		165-185
C≡N	115-125		
=C	100–150		190–200
=C-X (X=O ou N)	≈150-155		
	110–170		205–220


13C
ketones
aldehydes
acids
esters, amides
thioketones
azomethines
heteroaromatics
alkenes
arenes
nitriles
alkynes
C (quaternary)
C (tertiary)
C (secondary)
C (primary)
solvents
O=C
-CHO
HOOC-
-CON, -COO-
S=C
-N=C
N
C=C
N≡C-
-C≡C-
-C-O-
-C-
N-C-
-C-S-
Hal-C-
-CH
O-CH
HC-N
-S-CH
Hal-CH
-CH2-
-O-CH2-
N-CH2-
-H2C-S-
Hal-CH2-
-CH3
-O-CH3
N-CH3
-S-CH3
Hal-CH3
(CH3)2CO
CS2
CF3COOH
C6H6
CF3COOH
CCl4
CHCl3
CH3OH
1,4-Dioxan
DMSO
(CH3)2CO
230
210
190
170
150
130
110
90
70
50
30
10
δ


13C
>C=O Ketones
α,β - unsaturated Ketones
α - Haloketones
H>C=O Aldehydes
α,β - unsaturated Aldehydes
α - Haloaldehydes
-COOH Acids
-COCl Chlorides
-CONHR Amides
(-CO)2NR Imides
-COOR Esters
(-CO)2O Anhydrides
(R2N)2CS Thioureas
(R2N)2CO Ureas
>C=NOH Oximes
(RO)2CO Carbonates
>C=N< Azomethines
⊕N≡Cl⊖ Isocyanides
-C≡N Cyanides
-N=C=S Isothiocyanates
-S-C≡N Thiocyanates
-N=C=O Isocyanates
-O-C≡N Cyanates
-X-C< Heteroaromatics, C-α
>C=C< Heteroaromatics
>C=C<X Aromatics, C (substituted)
>C=C< Aromatics
>C=C< Alkenes
-C≡C- Alkynes
>C-C< Alkanes
▷ Cyclopropanes
>C-C< C (quaternary)
>C-O<
>C-N<
>C-S<
>C-Hal.
>CH-C< C (tertiary)
>CH-O<
>CH-N<
>CH-S<
>CH-Hal.
-CH2-C< C (secondary)
-CH2-O<
-CH2-N<
-CH2-S<
-CH2-Hal.
H3C-C< C (primary)
H3C-O<
H3C-N<
H3C-S<
H3C-Hal.
Cl I
240 220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 -20 ppm (TMS=0)

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE l'*UELC*
Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1

Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 2 QROC

Note

Calculatrice : autorisée
Documents : non autorisés

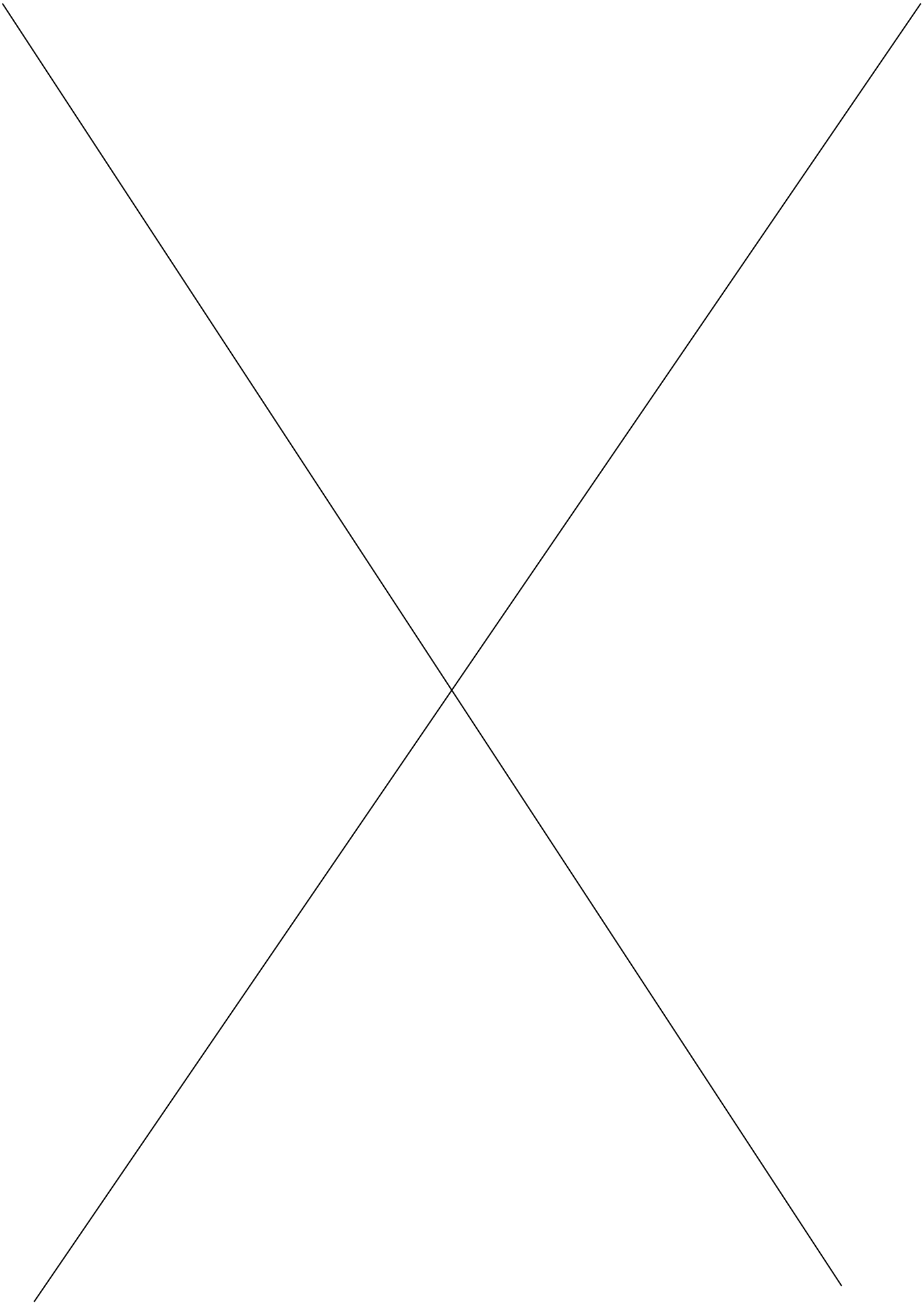
J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Responsable : Emmanuelle MILLION
Correcteur : Didier BLAHA

Question n°1 : Suite à plusieurs accidents avec des médicaments comme le Thalidomide, des outils qualité pour la fabrication des médicaments se sont mis en place. Quel outil principal pourriez-vous citer ? (1 point)

Question n°2 : Quel sont les différences entre le système de management de la qualité, l'assurance qualité et le contrôle qualité ? (2 points)



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE l'*UELC*
Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1

Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 2 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 4 QROC

Note

Calculatrice : autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Responsable : Emmanuelle MILLION
Correcteurs : Laurent ETTOUATI et Thierry LOMBERGET

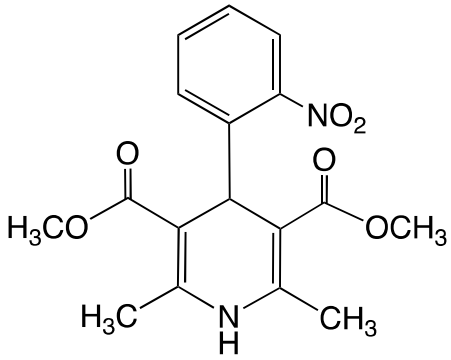
Question 1. **Ph. Eur. Dosage de la nifédipine :** « Dissolvez 0,1300 g de nifédipine dans un mélange de 25 mL de 2-méthyl-2-propanol R et de 25 mL de solution d'acide perchlorique R. Titrez par le sulfate de cérium 0,1 M en présence de 0,1 mL de ferroïne R jusqu'à ce que la couleur rose disparaisse. Titrez lentement vers la fin du titrage. Effectuez un titrage à blanc. ».
Définition. « Teneur : 98,0 pour cent à 102,0 pour cent (substance desséchée). ».
M_r nifédipine : 346,3 $g \cdot mol^{-1}$.

a. Quel est le type de dosage mis en œuvre ? Expliquez la réaction chimique.

b. Qu'est-ce qu'un titrage à blanc ?

c. Un dosage d'un lot de nifédipine effectué sur une prise d'essai de **0,128 g** donne un volume de sulfate de cérium 0,1 M à l'équivalence $V_{éq}$ égal à **7,4 mL**. La perte à la dessiccation est de **0,3 %**.

Calculez la teneur. Que concluez-vous ? *Remarque : la stœchiométrie de la réaction est de deux moles de sulfate de cérium pour une mole de nifédipine*.

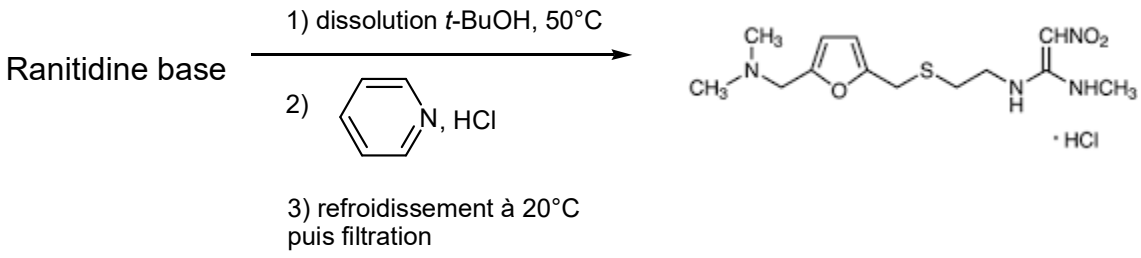


nifédipine

Question 2. Identifiez les différentes zones du spectre dans le moyen infrarouge avec un exemple pour chacune de ces zones.

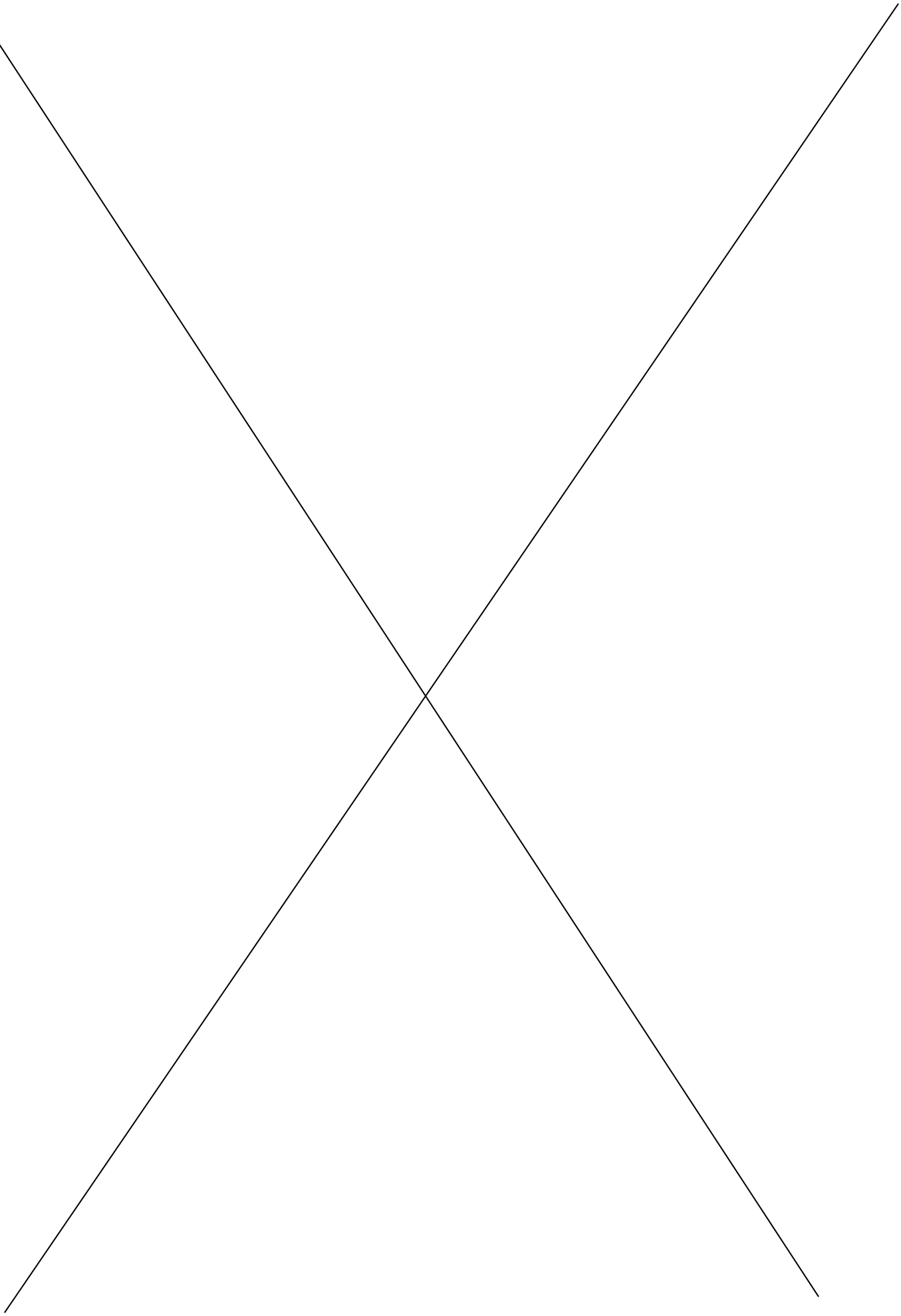
Question 3. Indiquez les différentes provenances (6 possibles) pour les <u>impuretés</u> de la préparation d'un Principe Actif d'origine chimique.

Question 4. La dernière étape de la synthèse du chlorhydrate de ranitidine consiste en la préparation du chlorhydrate de Principe Actif, selon le procédé suivant :



Quel(s) solvant(s) résiduel(s) allez-vous rechercher :

Citez deux techniques utilisées pour contrôler la présence de solvants organiques, pour lesquelles vous préciserez si ce sont des méthodes qualitatives et/ou quantitatives :



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE l'*UELC*
Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1

Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 3 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- QROL

Note

Calculatrice : autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

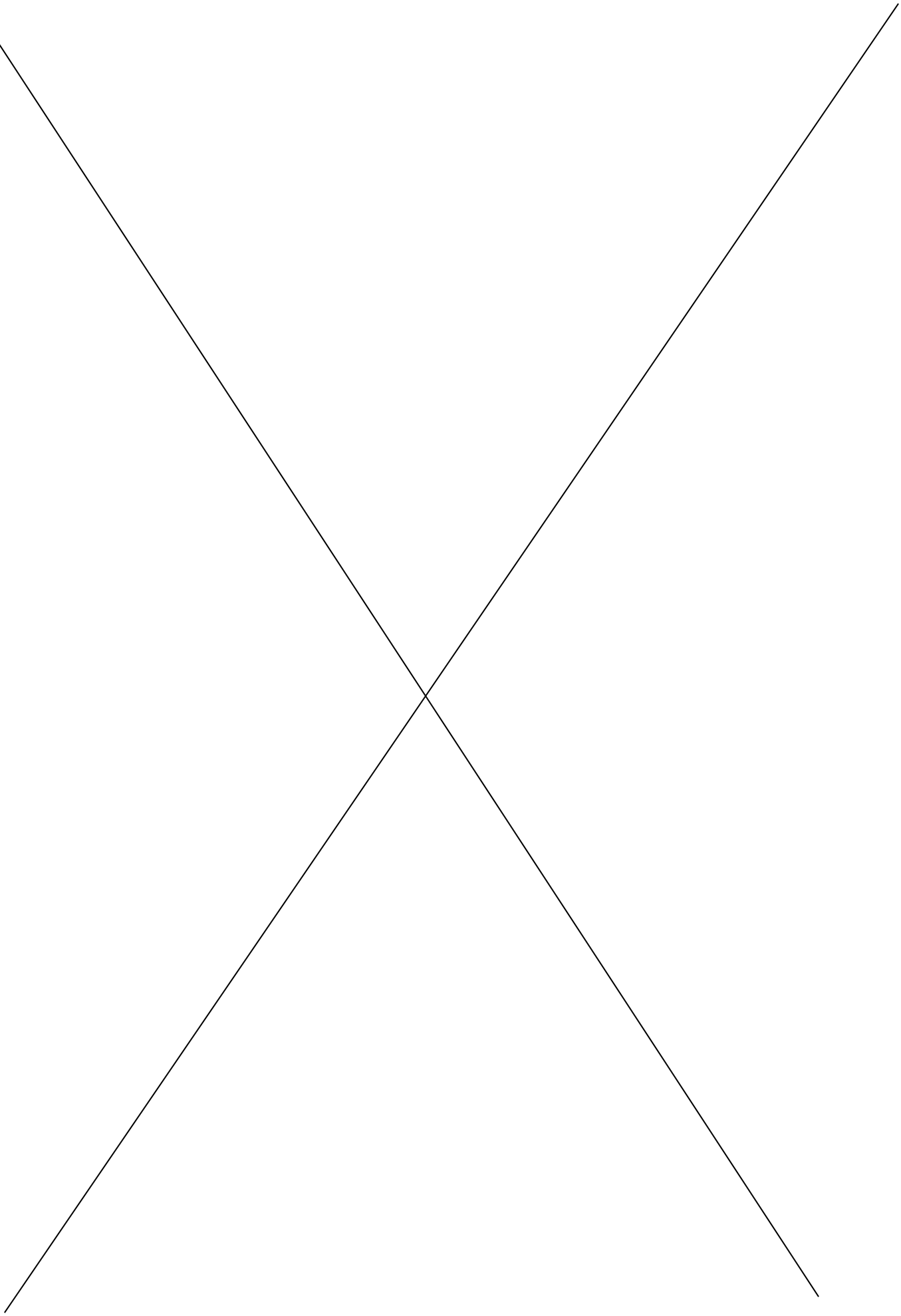
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Responsable : Marie-Emmanuelle MILLION
Correcteur : Marie-Françoise KLUCKER

Question (1 point) : Quelles sont les 4 origines associées aux impuretés d'un médicament au stade produit fini ?

Question 2 (3 points)

- **En quoi consiste, concrètement, la « caractérisation du risque lié aux impuretés d'un produit fini » ?**
- **Quels sont les acteurs impliqués dans cette étape ?**



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1***

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE l'*UELC*
Règlementation, qualité et sécurité des produits de santé en démarche RSE – Niveau 1

Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 4 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h30, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 4 QROC

Note

Calculatrice : autorisée
Documents : non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules numérotés de 1 à 4

Responsable : Emmanuelle MILLION
Correcteur : Emmanuelle MILLION

Question 1 (2 points – M.E. Million) :

Présentez la procédure de fixation du taux de remboursement et du prix en France pour les médicaments en pharmacie de ville. Précisez notamment ce que signifient SMR et ASMR et leur rôle dans la procédure.

Question 2 (1 point – M.E. Million) :

Que doit démontrer d'une manière génrale un industriel dans le module 3 du dossier de demande d'AMM ?

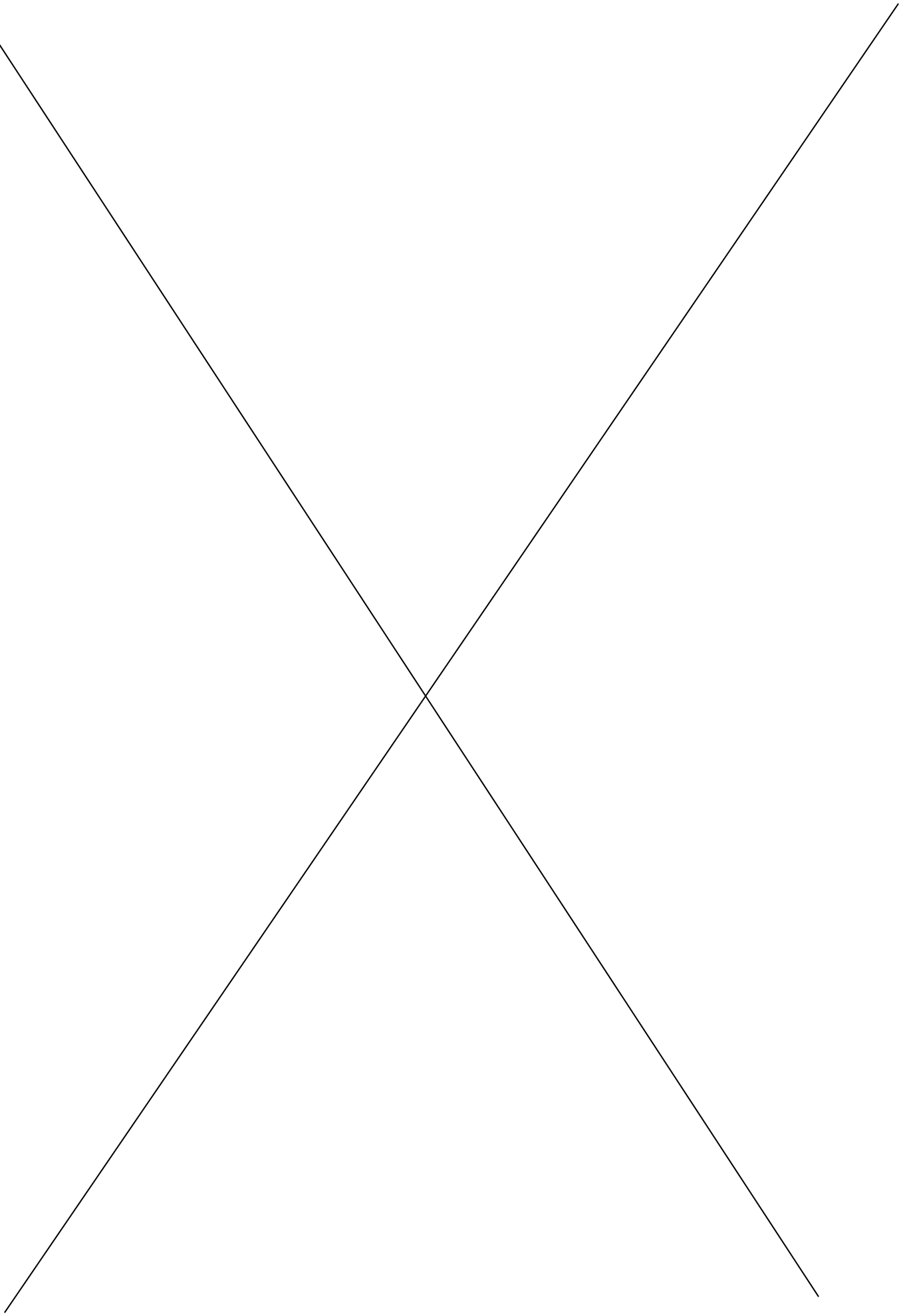
Question 3 (2 points – M.E. Million) :

La Pharmacopée Européenne :

- Quel est son statut juridique ?
- Que contient-elle ?
- Quelles sont les différences majeures entre la Pharmacopée Européenne et la Pharmacopée US ?

Question 4 (2 points – M.E. Million) :

Qu'appelle-t-on référentiels règlementaires et référentiels normatifs ? Citez des exemples. Quelle est la différence principale entre ces deux types de textes ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

EPREUVE DE UELC Passerelle

Année 2023/2024

Semestre de printemps
1ère Session

UN SEUL FASCICULE

DUREE DE L'EPREUVE : **1h30**

Ce fascicule comprend :
- 9 QROC de la partie Thérapeutique (coef 0,6)
- 1 question de la partie Législation pharmaceutique (coef 0,2)
- 1 question de la partie Aromathérapie / Phytothérapie (coef 0,1)
- 1 question de la partie Nutrition (coef 0,1)

Note

Calculatrice : **non autorisée**
Aucun document autorisé

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **15 pages** numérotées de 1 à 15*

Nom du responsable enseignant de l'UELC : Céline Prunet-Spano

Correcteurs de la partie Thérapeutique : Pauline Loubert Bajas et Vincent Lescure
Correctrice de la partie Législation pharmaceutique : Valérie Siranyan
Correctrice de la partie Nutrition : Emilie Blond
Correcteur de la partie Phytothérapie / Aromathérapie : Serge Michalet

Partie Thérapeutique:

Cas 1:

Monsieur B., 68 ans, nouveau patient de la pharmacie, vient chercher son traitement habituel. Au moment de vous présenter l'ordonnance, il se plaint d'une toux grasse matinale particulièrement gênante. Il se demande s'il ne devrait pas reprendre l'antibiotique prescrit dans un contexte d'essoufflement important le mois dernier.

La fonction rénale de Monsieur B est normale.

DP d'avril 2024 : Amoxicilline 1g, INNOVAIR® 100/6 µg/dose, ELIQUIS® 2,5 mg, Pravastatine 20 mg

Docteur Rockefeller, médecin généraliste le 16 mai 2024

ELIQUIS® 2,5 mg (apixaban) : 1 cp matin et soir

INNOVAIR® 100/6 µg/dose sol p inhal en fl press (béclométasone/formotérol) : 1 inhalation matin et soir

Pravastatine 20 mg : 1 cp le soir

Carbocistéine 5% ss buv (CLARIX®) : 15 mL matin et midi pendant 7 jours

OAR 3 mois

Question 1 : **Quelles sont les classes pharmacologiques de chaque molécule** ?

Question 2 : **Quels sont les objectifs thérapeutiques de l'ordonnance ? Justifier votre réponse.**

Question 3 : **Quels sont les effets indésirables principaux du béclométasone/formotérol et de la pravastatine.**
Lesquels communiquez-vous au patient ?

Question 4 : Quels sont les signes cliniques possibles d'un saignement occulte causé par un traitement anticoagulant ?

Note

Question 5 : **Quels sont les conseils principaux à donner au patient concernant sa ou ses pathologies ?**

Question 6 : Comment répondez-vous à la demande du patient au sujet de son antibiotique ?

<u>Cas 2</u>: Questions diverses

Question 1 : Quelles sont les particularités liées à la délivrance en officine de clozapine

Question 2 : Quelles molécules (classe thérapeutique et dci) sont utilisables dans les douleurs neuropathiques ?

Question 3 : Préciser les modalités à respecter par un patient devant réaliser une automesure tensionnelle et les valeurs cibles, selon les âges du patient (recommandations ESH 2023).

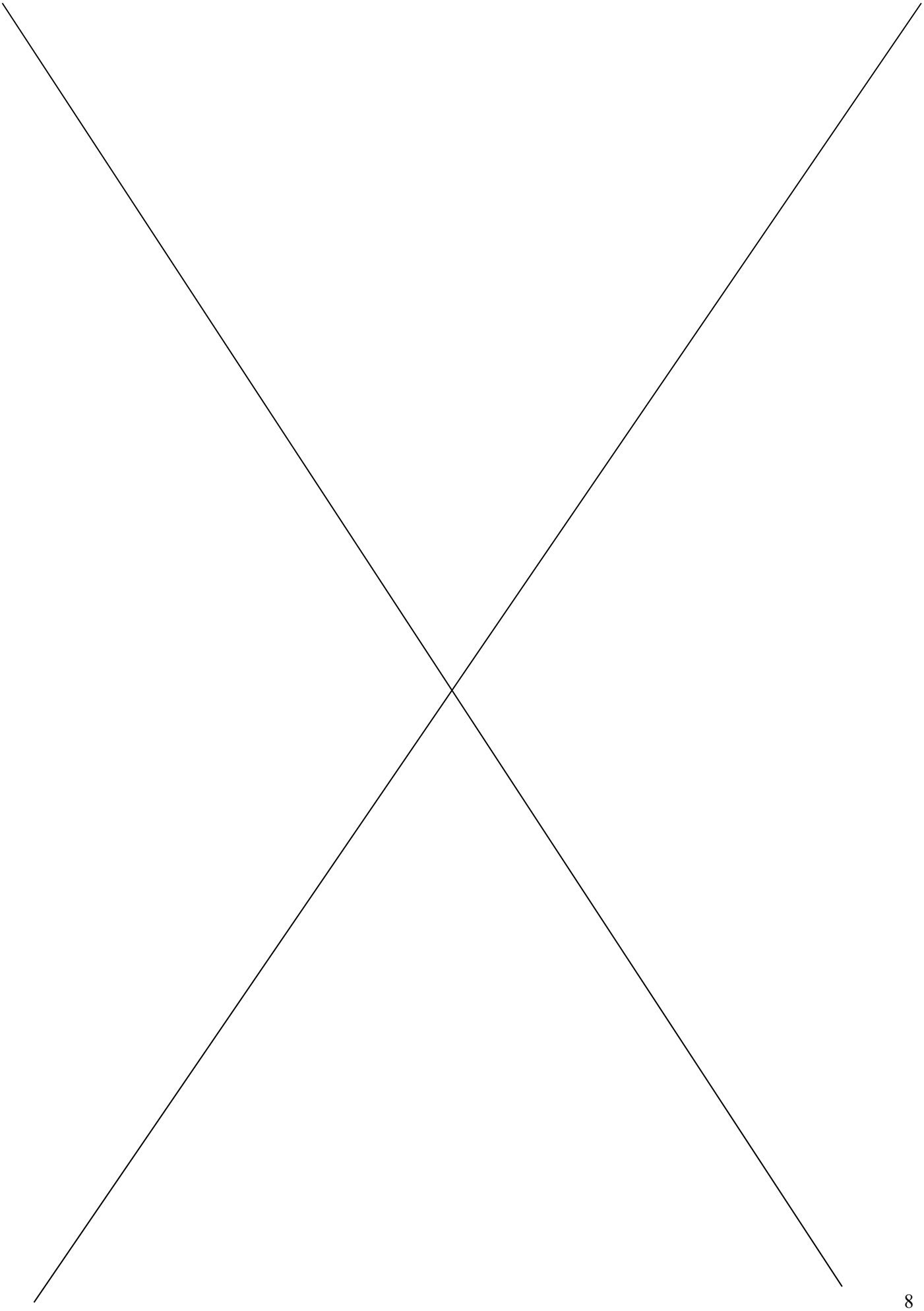
NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Législation Pharmaceutique :

Quels sont les avantages et les inconvénients de l'exercice pharmaceutique au sein d'une société d'exercice libéral ?



NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Phytothérapie :

Pour chacune des plantes veinotoniques suivantes, donner le nom latin, la partie de plante utilisée, les principes actifs majoritaires, ainsi que les principales propriétés pharmacologiques démontrées *in vitro* ou *in vivo* :

Nom français	Nom latin	Partie utilisée	Principes actifs majoritaires	Propriétés pharmacologiques principales
Hamamélis				
Mélilot				

Marron d'Inde				
Vigne rouge				
Petit Houx				

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

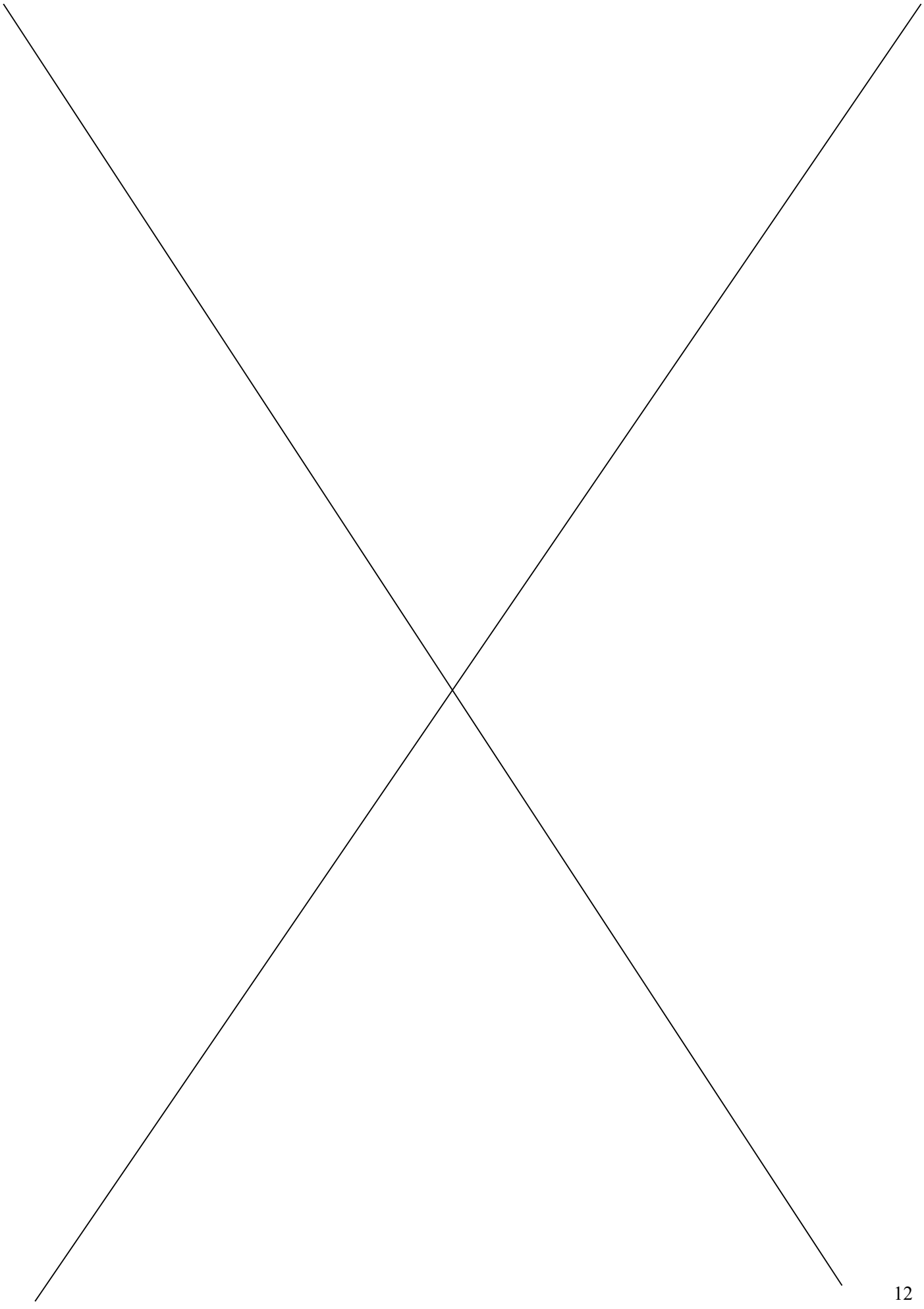
Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Aromathérapie :

Citez 3 contre–indications concernant l'emploi des huiles essentielles (HE).

Précisez quel(s) type(s) d'HE sont concernées et les raisons.



NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

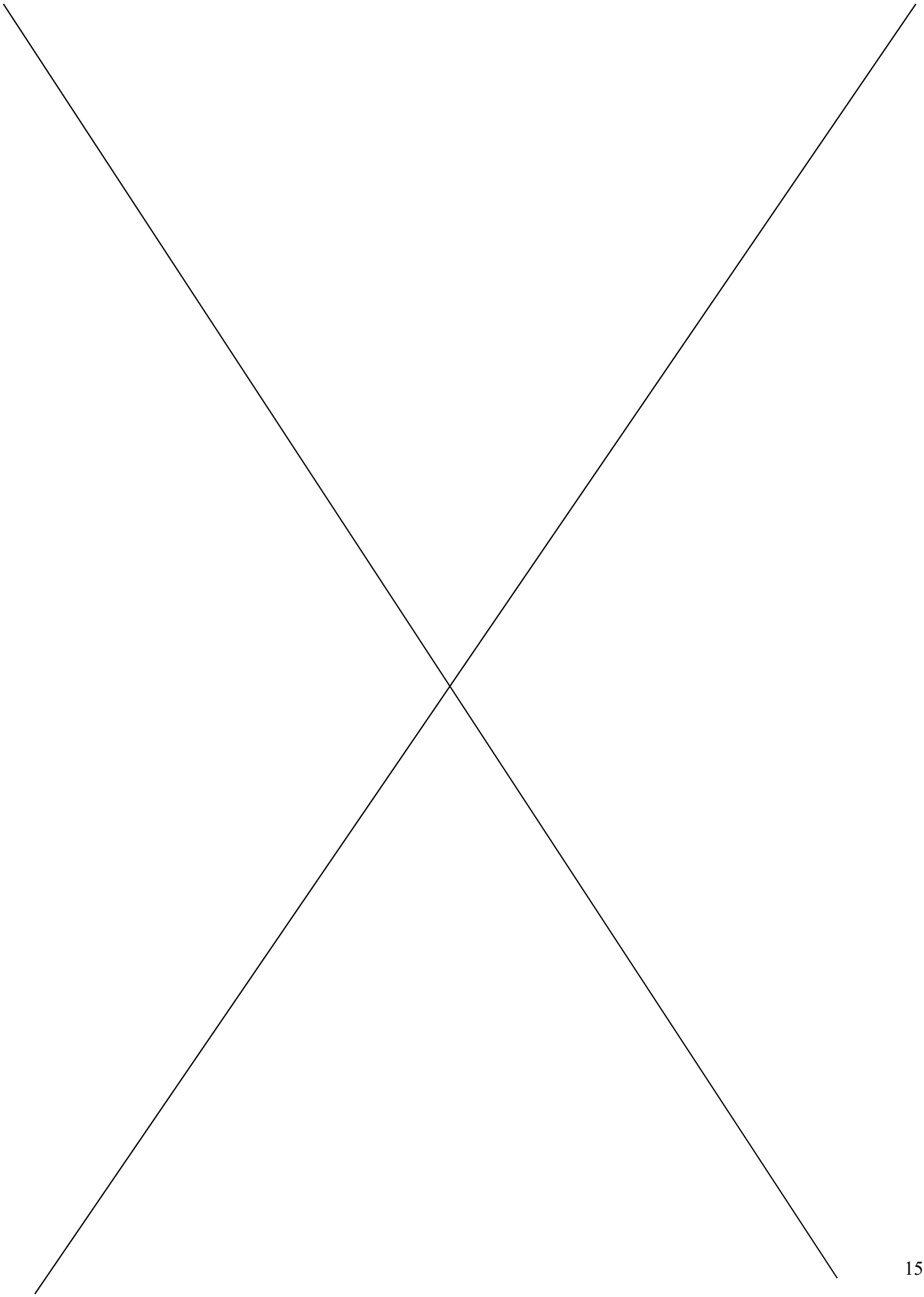
Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Nutrition :

La vitamine A peut exister sous deux formes dans les compléments alimentaires : quelles sont ces formes, leurs sources, leurs rôles, leurs apports nutritionnels conseillés et les limites de sécurité à respecter.

A quels éléments veiller lors la délivrance de l'une ou l'autre de ces formes ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Pathologies Tropicales*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Pathologies Tropicales*

Année 2023 / 2024

Session initiale

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 2 questions rédactionnelles divisée respectivement en 4 et 3 sous questions

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicules numérotés tous les deux de 1 à 4

UELC Pathologies Tropicales
Nom(s) du(des) responsables : Anne Doléans-Jordheim

Mycologie

Question n°1 : L'histoplasmose américaine

Q 1-1 : quel est le nom complet de l'agent pathogène responsable de cette pathologie ?

Q 1-2 : Quelles sont les principales caractéristiques mycologiques de l'agent responsable de cette pathologie ?

Q 1-3 : Comment cette maladie se transmet-elle ?

Q 1-4 : Quels seraient les conseils à donner aux personnes à risque pour éviter cette maladie ?

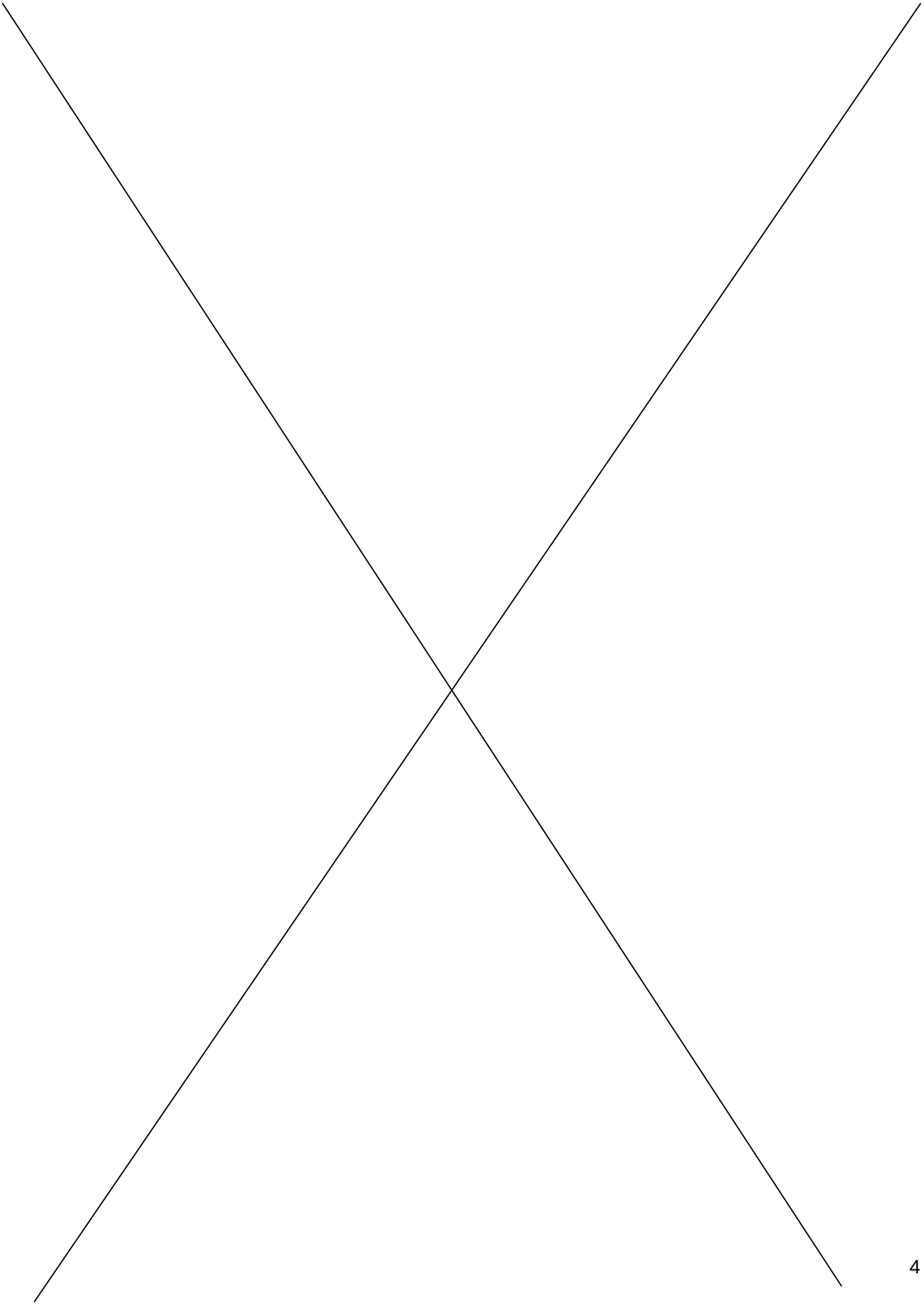
Mycologie

Question n°2 : La paracoccidioïdomycose due à *Paracoccidioïdes brasiliensis*

Q 2-1 : quels sont les caractéristiques de cette pathologie ? (Formes cliniques)

Q 2-2 : Quelles sont les principales caractéristiques mycologiques de *Paracoccidioides brasiliensis*?

Q 2-3 : Quel est le principal réservoir naturel connu de ce champignon ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Pathologies Tropicales*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Pathologies Tropicales*

Année 2023 / 2024

Session initiale

FASCICULE n° 2

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 3 questions rédactionnelles. La question 1 est divisée en 3 sous-questions.

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fasciculeS numérotés tous les deux de 1 à 4

UELC Pathologies Tropicales
Nom(s) du(des) responsables : Anne Doléans-Jordheim

Bactériologie

Question n°1 : Le trachome

Q 1-1 : quel est l'agent pathogène responsable de cette pathologie (écrire son nom d'espèce en entier) ?

Q1-2 : Décrivez le cycle réplicatif de cette bactérie.

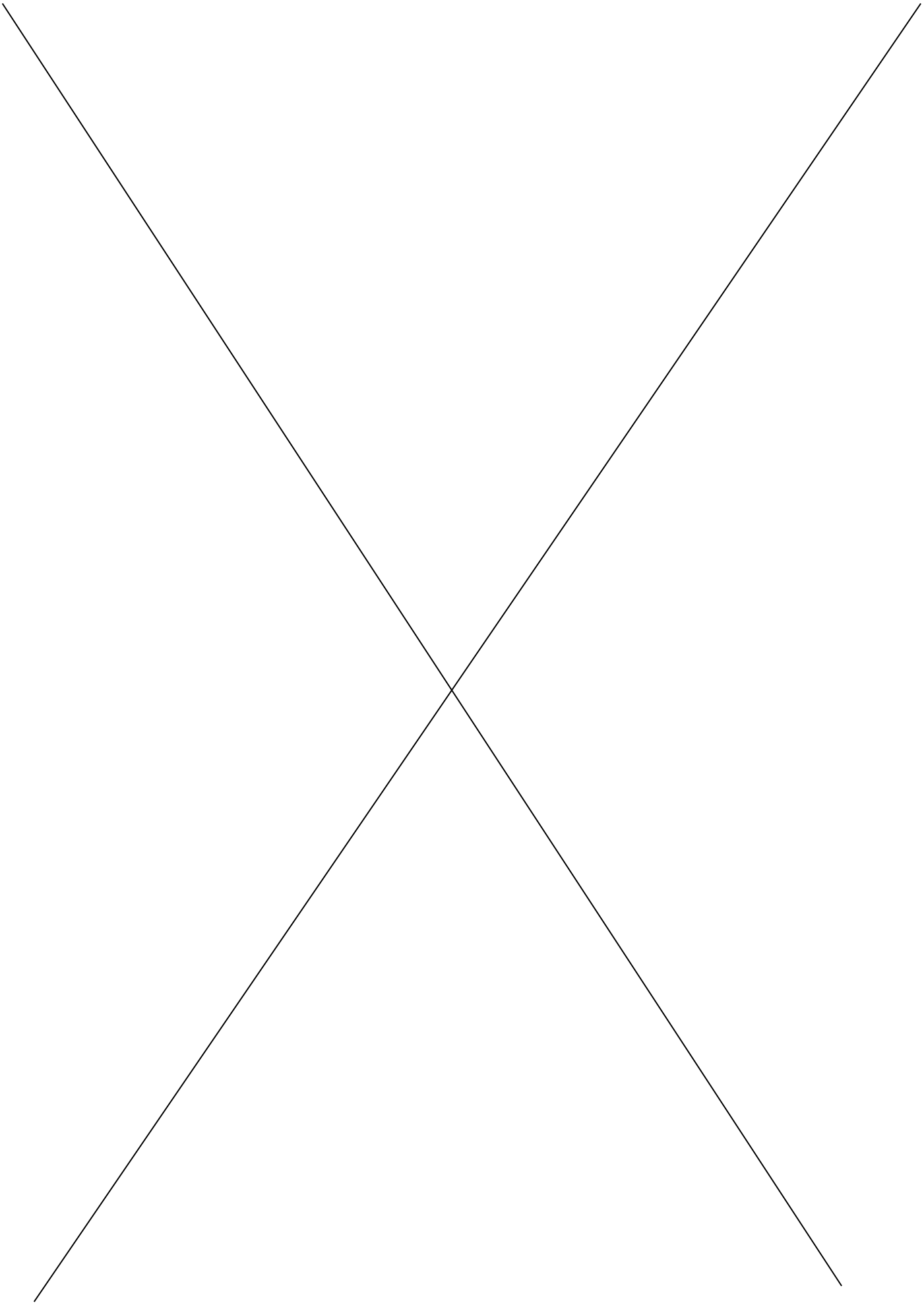
Q1-3 : Quel est le protocole établi par l'OMS visant à traiter/éradiquer cette pathologie ? Décrivez-le.

Question n°2 : *Yersinia pestis*

A l'aide d'un schéma, décrivez la physiopathologie de l'infection engendrée par cette bactérie en précisant les différentes formes cliniques.

Question n°3 : Lèpre

Quels sont les symptômes d'une lèpre lépromateuse ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Épreuve de : ***UELC*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC préparation aux écoles de commerce*

3eme Année -DFGSP3
Année 2023/ 2024
Semestre printemps
Session initiale

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 2H , comprenant 1 fascicule

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule (QCM, dossier, QROC)

Note

Calculatrice : non autorisée
Documents non autorisés
Stabilos autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 13 pages numérotées de 1 à 13

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule

UELC préparation aux écoles de commerce

Nom du responsable-enseignant de l 'UELC Anne DENUZIERE

Partie 1 – La santé et l'IA

A partir des textes proposés (texte 1, 2, 3 et 4) et de vos connaissances :

1/Résumez chaque texte en (1/2 page par texte)

2/Expliquez en détail les nombreuses possibilité et innovations que l'Intelligence Artificielle peut apporter au secteur de la sante

3/Exposez les limites de l'IA, les défis associés et expliquez pourquoi le rôle de l'humain et du pharmacien demeurent essentiels.

Partie 2 – Vos Qualités pour Projet Professionnel

Décrivez et expliquez deux de vos qualités que vous estimez essentielles pour votre projet professionnel et illustrez-les à l'aide d'exemple tirés de votre expérience personnelle.

LE QUOTIDIEN DU MEDECIN
Le Quotidien du Médecin
Intelligence arti cielle, jeudi 28 mars 2024

TEXTE 1

La sécurisation des données ne passera par l'IA, mais par le pharmacien

Lors d'une table ronde organisée par « Le Quotidien du pharmacien », le 10 mars, dans le cadre du salon PharmagoraPlus, plusieurs acteurs de la profession ont échangé sur les dé s en matière de protection des données à l'ère de l'Intelligence Arti cielle (IA). Tous s'accordent sur la nécessité de développer des outils appropriés, mais aussi et surtout de démocratiser les bonnes pratiques quant à l'utilisation des données des patients.

Adopter les bons comportementsUne formation initiale dépasséeQuelle sécurité pour les outils numériques ?François Tassain

Voilà des années que l'e-santé est annoncée, anticipée, crainte et espérée. Si beaucoup y voient un incroyable potentiel pour les professionnels de santé, où applications et logiciels numériques boostés par l'Intelligence Artificielle servent d'assistants, voire de collègues, d'autres redoutent que les données de santé finissent entre de mauvaises mains. Mais pour les pharmaciens l'e-santé se conjugue déjà au présent. Avec la téléconsultation, le dossier pharmaceutique, « Mon espace santé », et demain l'arrivée de l'e-ordonnance, l'officine est déjà passée du papier au numérique.

Pour la profession, cette transition marque un tournant significatif, en même temps qu'elle soulève une question propre au métier de pharmacien : Comment garantir la protection de ces données ?

Adopter les bons comportements

Pour Claude Marodon, président de la délégation Réunion-Mayotte au Conseil national de l'Ordre des pharmaciens (CNOP), la protection des données n'est pas une question nouvelle : « Même avant l'avènement de ces technologies, le secret professionnel constitue déjà un pilier essentiel de notre exercice. Dans cette perspective, il est impératif que notre profession adopte les attitudes nécessaires pour éviter d'éventuelles fuites de données. » Car les premiers responsables de ces fuites potentielles sont des équipes officinales trop insouciantes. « Un certain nombre de pharmaciens envoient ces données par des messageries personnelles ou des applications qui ne sont pas sécurisées », constate Claude Marodon. Il recommande aux pharmaciens de se référer au guide des bonnes pratiques RGPD, élaboré par l'Ordre et la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL), et spécifiquement créé pour cadrer les comportements des professionnels de santé.

Certains créateurs de logiciels, comme Thibault Ozenne, directeur et fondateur de Phealing (spécialiste dans la sécurisation de la délivrance d'ordonnances via l'IA), sont en première ligne : « Nous menons des actions de sensibilisation des gestes de base auprès du personnel officinal, ainsi il faut absolument éviter de faire figurer le nom du patient en version lisible dans un e-mail, d'envoyer des ordonnances via WhatsApp, de même il faut changer régulièrement les mots de passe. »

Car si les nouvelles technologies et les outils associés sont numériques, la première ligne de défense contre la fuite de données reste le comportement humain. Sans évolution de ce dernier, et faute d'application des réglementations et attitudes à adopter, le numérique et les technologies IA seront une poule aux œufs d'or pour les fraudeurs, hackers et autres cybercriminels. « Il y a de plus en plus d'échanges de données entre les spécialistes et les professionnels de santé, ainsi qu'avec les patients, rappelle Arnault Billy, vice-président de la Fédération des éditeurs d'informatique médicale et paramédicale ambulatoire (FEIMA). Ces flux peuvent être interceptés, ce qui rend nécessaire leur sécurisation. Celle-ci ne passera que par la formation et la sensibilisation du personnel officinal. »

Une formation initiale dépassée

Sur ce sujet, Erdem Aydin, vice-président en charge du numérique en santé de l'Association nationale des étudiants en pharmacie de France (ANEPF), appelle à une remise en question de la formation en faculté : « Il y a des manquements aujourd'hui, car tous les systèmes du numérique en santé se développent plus vite que la formation initiale. De nombreuses compétences nécessaires à la pratique de la pharmacie en sont absentes ! » D'autant que cette carence de formation risque d'être particulièrement pénalisante dans le futur. « Le numérique, c'est aussi de l'innovation, mais comment peut-on espérer voir la France innover si personne ne sait comment faire ? », avance-t-il, alertant sur un potentiel déclassement du pays.

L'IA doit, et va rester un outil. Elle ne peut à aucun moment remplacer les interactions humaines entre les pharmaciens et patients.

Arnault Billy, vice-président de la Fédération des éditeurs d'informatique médicale et paramédicale ambulatoire (FEIMA)

Quelle sécurité pour les outils numériques ?

Un autre point d'inquiétude porte sur le degré de sécurité des outils numériques. Pour Claude Marodon, bien que le problème soit pris au sérieux par leurs éditeurs et que des progrès notables ont été accomplis, « les LGO sont encore trop ouverts ». Or, les cyber-attaques ne touchent pas que les autres. « Beaucoup visent les hôpitaux et les laboratoires d'analyses médicales, mais les officines sont également dans la ligne de mire ! », alerte Arnault Billy, qui explique que toutes les pharmacies, peu importe leur taille ou leur région d'origine, sont potentiellement concernées.

Au final, l'IA ne risque-t-elle pas de se substituer aux professionnels de santé, plus prompts à l'erreur ? « Jamais, assure Arnault Billy, l'IA doit, et va rester un outil. Elle ne peut à aucun moment remplacer les interactions humaines entre les pharmaciens et patients. Si la sécurisation des ordonnances est un domaine où l'IA jouera un rôle très important, elle reste là pour faire gagner du temps au pharmacien afin qu'il puisse consacrer plus de temps à ses patients et moins à des tâches administratives ».

En attendant que les LGO soient sécurisés, que les outils numériques soient tous arrivés et que les pharmaciens soient correctement formés, faut-il craindre une fuite massive de données ? Sur ce point, c'est Xavier Vitry, directeur de projet la délégation ministérielle du numérique en santé (DNS) qui a fourni la réponse : « Les données de l'assurance-maladie sont hébergées dans des datacenters en France et en région parisienne. Nous investissons beaucoup dans leur sécurité et, sans vouloir être présomptueux, les risques sont très faibles. » L'avenir le dira.

François Tassain

Médicaments conçus par IA, une réalité déjà au service des patients !

PHILIPPE MOINGEON
• Membre de l'Académie de pharmacie. Professeur associé d'intelligence artificielle et sciences du médicament, université Paris-Saclay

AVIS D'EXPERT L'intelligence artificielle (IA) transforme profondément notre approche de la conception de nouveaux médicaments, avec aujourd'hui des réalisations concrètes et des perspectives vertigineuses. Au cours des cinq dernières années, les progrès de l'IA en ont fait un outil incontournable dans les laboratoires académiques et industriels dédiés à la recherche médicamenteuse. Cette révolution ne se cantonne pas à des cercles spécialisés, mais affecte chacun de nous, modifiant significativement notre manière d'aborder les maladies.

Fruit de plus de soixante-dix ans de recherche, l'IA tire aujourd'hui avantage de la puissance de calcul des ordinateurs contemporains et de l'accès à d'énormes quantités de données. Elle représente une convergence de technologies visant à créer des machines inspirées du cerveau humain, capables de percevoir, analyser, agir, apprendre, et même de communiquer de manière expressive. Et elle trouve de multiples applications dans le domaine médical, révolutionnant notre compréhension des maladies, les méthodes de diagnostic et la création de nouveaux médicaments.

La pandémie de Covid-19 a mis en lumière le rôle crucial de l'IA dans la lutte contre les maladies. Elle a permis l'analyse rapide de données massives sur le virus, détectant l'émergence de nouveaux variants, modélisant les interactions virus-cellules humaines et coordonnant les mesures barrières à l'échelle mondiale. En collaboration avec les biotechnologies, l'IA a accéléré la mise au point de vaccins efficaces, démontrant sa capacité à transformer la recherche médicale.

L'IA est désormais utilisée pour créer des modèles de la plupart des maladies complexes. Elle intervient dans la sélection de cibles thérapeutiques impliquées dans la causalité des maladies. Elle permet aussi d'identifier des candidats médicaments, suggérant des modifications pour améliorer leur efficacité et innocuité. Selon certaines estimations, l'IA pourrait réduire jusqu'à 50 % du temps et du coût associés à la phase de découverte de médicaments. Environ 200 candidats médicaments conçus par l'intelligence artificielle sont actuellement évalués dans les laboratoires, dont l'antibiotique Halicine, agissant sur un large spectre de bactéries. Certains médicaments commencent à être testés chez l'homme, notamment dans les cancers et les maladies immuno-inflammatoires. Le plus avancé à ce jour est le médicament INS018-055 développé par Insilico Medicine contre la fibrose pulmonaire idiopathique, entré en étude clinique de phase 2 en juin 2023 pour tester son efficacité et son innocuité.

Médecine de précision

Une contribution majeure de l'IA est son rôle dans la conception de médicaments adaptés aux spécificités des patients, offrant ainsi une approche davantage sur mesure, appelée médecine de précision. Grâce à l'IA, de nouveaux médicaments pourront dans les années à venir être conçus à partir de milliards de molécules virtuelles, choisies par ordinateur pour leurs propriétés pharmacologiques en fonction des caractéristiques du patient. Avant même la synthèse chimique, ces candidats médicaments seront testés sur un double virtuel du patient, afin de prédire leur efficacité et leurs effets secondaires.

Cette médecine computationnelle de précision, combinant modélisation prédictive et activités traditionnelles de recherche et développement pharmaceutique, offrira des traitements personnalisés, plus efficaces et plus sûrs. En anticipant des risques de santé non encore déclarés, elle aidera à concevoir des médicaments pour prévenir les maladies à venir ou les traiter très précocement. Les médicaments du futur combinés à des dispositifs médicaux intelligents promettent d'ici à 2050 de transformer les corps, stimuler l'intelligence et même de ralentir le processus de vieillissement, offrant la perspective d'une augmentation significative de l'espérance de vie en bonne santé.

La synergie établie entre l'IA, les biotechnologies et les sciences du médicament a ouvert la voie à des médicaments conçus sur un rationnel scientifique plus fort, mieux adaptés aux spécificités individuelles des patients. Cependant, cette révolution n'est pas sans défis. Les implications sociétales sont vastes et nécessitent une refonte radicale des systèmes de santé pour intégrer cette future vague de médicaments innovants. La formation des professionnels de santé à l'IA sera nécessaire pour qu'ils puissent s'appuyer sur les machines intelligentes dans leur exercice. La protection des données de santé du patient sera cruciale, tout comme le développement d'une éthique de l'IA axée sur l'humain pour accompagner ces avancées technologiques en santé. ■

TEXTE 2

La synergie établie entre l'IA et les sciences du médicament a ouvert la voie à des médicaments mieux adaptés aux spécificités des patients.

Le Monde
VENDREDI 29 MARS 2024

SANTÉ

L'IA, un espoir pour créer de nouveaux médicaments

TEXTE 3

Des dizaines de start-up misent sur l'intelligence artificielle pour accélérer et démultiplier la recherche médicale, soutenues à coups de milliards par de grands laboratoires. Mais aucune n'a encore mis de traitement sur le marché

Jakob Uszkoreit est une petite célébrité dans le monde de l'intelligence artificielle (IA). Son nom de famille est connu car son père, Hans, est un linguiste et chercheur en IA allemand, mais, surtout, il est l'un des huit employés de Google auteurs d'un article scientifique de 2017 devenu légendaire pour avoir jeté les bases des grands modèles de compréhension du langage qui, depuis le lancement de ChatGPT fin 2022, bluffent le monde par leur capacité à créer des textes semblant écrits par des humains. Le 20 mars, les huit découvreurs de cette architecture, baptisée « Transformers », étaient invités sur scène à la grand-messe annuelle du leader mondial des puces d'IA, Nvidia. Le même jour, le magazine tech de référence *Wired* consacrait un article hommage à ces *« inventeurs de l'IA moderne »*. Pourtant, Jakob Uszkoreit a choisi de quitter Google. Et il ne participe pas à l'explosion en cours de l'IA générative de texte. Il a créé une start-up dans la santé.

« C'était pendant la pandémie [de Covid-19], *en 2020, et trois événements m'ont convaincu de me lancer dans cette voie,* raconte le chercheur, en visioconférence depuis Berlin, où il réside, quand il n'est pas dans la Silicon Valley, à Palo Alto (Californie), au siège de sa start-up Inceptive. *J'ai eu mon premier enfant, puis les premiers vaccins contre le Covid-19 ont été trouvés grâce à la technique de l'ARN messager, et enfin la filiale de Google, DeepMind, a montré que l'IA permettait de modéliser en 3D la structure des 200 millions de protéines connues… Il est devenu clair à mes yeux que ces techniques d'IA pouvaient servir en biologie et que les appliquer à l'ARN messager pourrait transformer la médecine. »*

La trajectoire du chercheur est singulière mais pas isolée : Jean-Philippe Vert – qui connaît M. Uszkoreit – a aussi quitté Google, fin 2022, notamment pour créer Bioptimus, un projet qu'il décrit comme un *« ChatGPT de la biologie »*, destiné à aider à la découverte de médicaments. Google DeepMind a suivi un raisonnement similaire : le géant du numérique a créé Isomorphic Labs, une nouvelle filiale destinée à trouver des applications pratiques de sa modélisation des protéines pour *« réimaginer le processus de recherche de nouveaux médicaments grâce à l'IA »*.

Foisonnement de start-up

L'espoir de créer de nouveaux traitements en utilisant la puissance des algorithmes d'intelligence artificielle suscite un foisonnement de start-up : le cabinet Boston Consulting Group (BCG) en recensait plus de 200 en 2023. Parmi elles, des françaises, comme Owkin, Aqemia, Iktos, One Biosciences ou Cure51. Mais aussi des sociétés créées dans les années 2010, comme Exscientia, Verge Genomics, BenevolentAI, Insilico Medicine, Atomwise, Recursion ou Relay Therapeutics.

« Vous ne trouverez aujourd'hui plus aucun laboratoire disant qu'il ne croit pas à l'intelligence artificielle. Tout le monde travaille dessus », résume Pascal Brier, directeur de l'innovation chez Capgemini, qui collabore sur le sujet avec plusieurs grands groupes pharmaceutiques. Ces derniers, soucieux de ne pas laisser passer une vague d'innovation, multiplient les partenariats avec ces start-up, parfois surnommées « techbio ». Entre 2018 et 2023, ont, selon le cabinet BCG, été noués une cinquantaine d'accords, d'une valeur potentielle de 38 milliards de dollars (35 milliards d'euros), sous réserve que les recherches aboutissent. En septembre 2023, le britannique AstraZeneca s'est ainsi allié à Verge Genomics. Début janvier, Isomorphic Labs a signé avec le suisse Novartis et l'américain Lilly, tandis que Bristol-Myers Squibb misait sur Exscientia ou VantAI. Le français Sanofi a, lui, passé des accords avec Inceptive, Insilico Medicine, Exscientia, Owkin, Aqemia…

ENTRE 2018 ET 2023, SELON LE BOSTON CONSULTING GROUP, ONT ÉTÉ NOUÉS UNE CINQUANTAINE D'ACCORDS, D'UNE VALEUR POTENTIELLE DE 38 MILLIARDS DE DOLLARS

Les laboratoires s'activent de plus en plus en interne. *« Nous avons désormais des experts en IA et en apprentissage automatique intégrés dans nos départements de chimie médicinale »*, raconte Iya Khalil, responsable des données, de l'IA et des sciences du génome chez l'américain MSD. Tous espèrent répliquer le succès de l'IA dans un autre pan de la médecine : l'imagerie médicale, où les algorithmes entraînés sur des milliers d'exemples permettent aux radiologues de dépister des tumeurs, des lésions ou des fractures parfois infimes.

Les attentes sont d'autant plus grandes que la découverte de médicaments est longue et coûteuse. Lors de cette phase, située avant les essais cliniques, les scientifiques s'affairent à identifier les mécanismes des maladies sur lesquels agir, puis à concevoir et tester dans leurs tubes à essai les candidats-médicaments. Jusqu'à la mise sur le marché, après les essais cliniques, entre douze et quinze ans s'écoulent, selon le BCG, et 2,5 milliards de dollars sont dépensés en moyenne, si l'on prend en compte les nombreux échecs (un tiers seulement des candidats-médicaments sont envoyés en tests cliniques).

Design des molécules

Concrètement, l'IA est utilisée dans l'industrie pharmaceutique à plusieurs étapes, dans l'espoir de réduire les délais et les dépenses. *« Elle permet au départ d'agréger et de rendre intelligible tout ce qui est publié dans la littérature scientifique, afin d'aider à trouver de nouvelles pistes »*, assure Emmanuel Frenehard, vice-président exécutif chez Sanofi.

Plus profondément, une phase concentre beaucoup d'initiatives : celle du design du

L'INDEPENDANT.com
L'Indépendant (site web) - L'Indépendant
dimanche 21 janvier 2024 -

TEXTE 4

IA et santé, une combination gagnante... ou pas, prévient l'OMS

(AFP) - L'intelligence artificielle (IA) générative pourrait révolutionner les soins de santé en facilitant par exemple la mise au point de médicaments ou en accélérant le dépistage de maladies, mais l'OMS estime qu'il faut faire plus attention aux risques.

Dans un document publié jeudi, l'Organisation mondiale de la santé analyse les dangers et les avantages de l'utilisation des grands modèles multimodaux (dits LMM) - un type de technologie d'IA générative à croissance rapide - en matière de santé.

Ces LMM peuvent utiliser plusieurs types de données, y compris du texte, des images et des vidéos, et générer des résultats qui ne sont pas limités au type de données introduites dans l'algorithme.

"On prévoit que les LMM seront largement utilisés et appliqués dans les soins de santé, la recherche scientifique, la santé publique et la mise au point de médicaments", indique l'OMS.

L'organisation définit cinq domaines qui pourrait utiliser cette technologie : le dépistage, par exemple pour répondre aux demandes écrites des patients; la recherche scientifique et le développement de médicaments; l'enseignement médical et infirmier; les tâches administratives; et l'usage par les patients, par exemple pour l'examen des symptômes.

Bien que cette technologie présente un grand potentiel, l'OMS souligne qu'il a aussi été montré que ces LMM peuvent produire des résultats faux, inexacts, biaisés, ou incomplets, ce qui pourrait évidemment avoir des conséquences fâcheuses.

"Alors que les LMM sont de plus en plus utilisés dans les soins de santé et la médecine, les erreurs, les mauvais usages et, en fin de compte, les préjudices causés aux individus sont inévitables", relève l'OMS.

- Géants de la tech -

Le document présente également de nouvelles orientations sur l'éthique et la gouvernance des LMM, l'OMS formulant plus de 40 recommandations à l'intention des gouvernements, des entreprises technologiques et des prestataires de soins de santé sur la manière de tirer parti de cette technologie en toute sécurité.

"Les technologies d'IA générative ont le potentiel d'améliorer les soins de santé mais seulement si ceux qui développent, réglementent et utilisent ces technologies identifient et prennent pleinement en compte les risques associés", souligne le scientifique en chef de l'OMS, Jeremy Farrar.

"Nous avons besoin d'informations et de politiques transparentes pour gérer la conception, le développement et l'utilisation des LMM afin d'obtenir de meilleurs résultats en matière de santé et pour surmonter les inégalités persistantes en matière de santé", ajoute-t-il.

L'OMS lance un appel à la mis en place de règles en matière de responsabilité pour "garantir que les usagers lésés par un LMM soient correctement indemnisés ou disposent d'autres formes de recours".

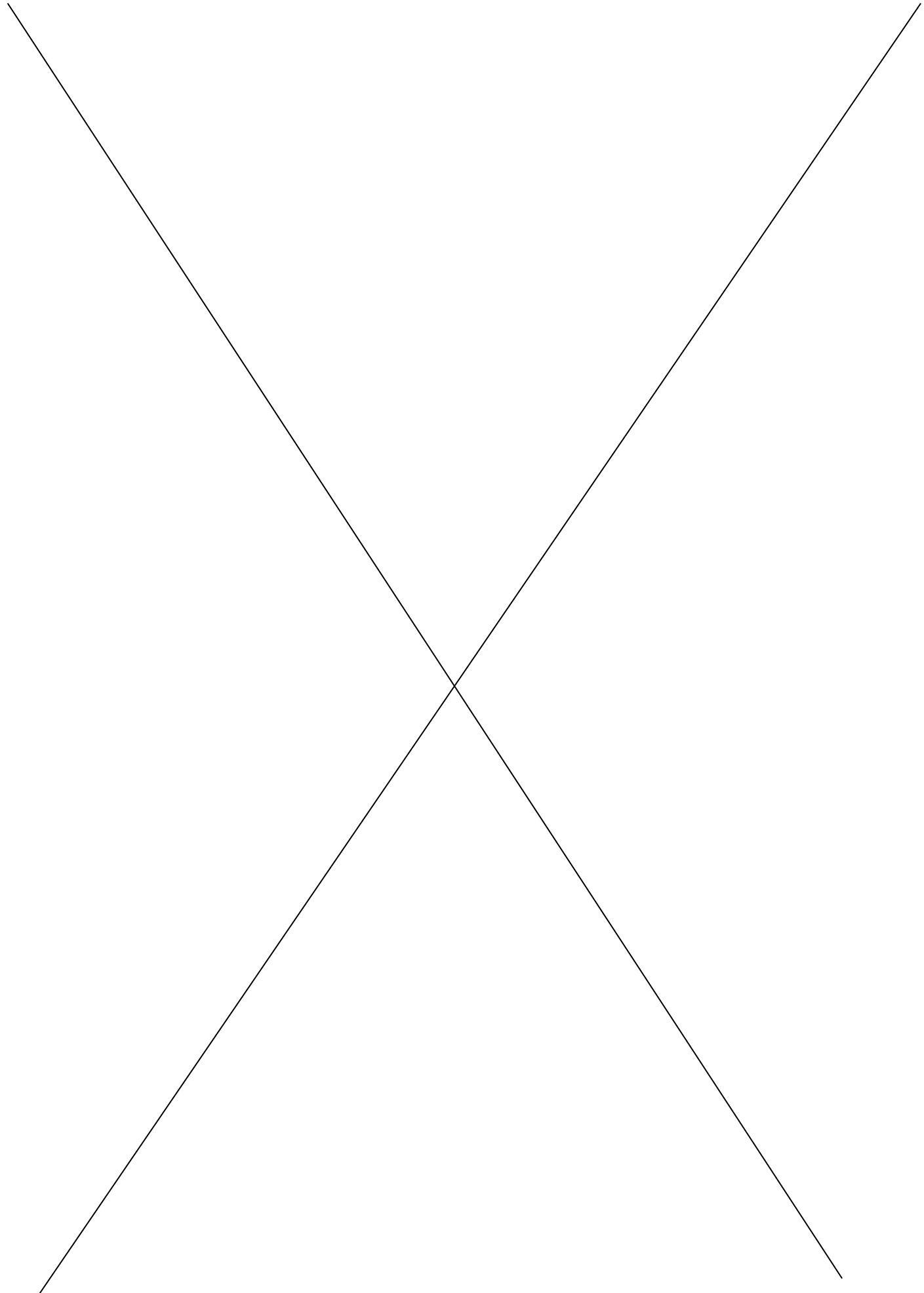
Elle souligne également que la conformité des LMM avec les réglementations existantes, notamment en matière de protection des données, suscitait aussi des inquiétudes.

Par ailleurs, le fait que les LMM soient souvent développés et déployés par les géants de la technologie suscite également des inquiétudes et risque d'asseoir la domination de ces entreprises, selon l'OMS.

L'organisation recommande donc que les LMM soient développés non seulement par les scientifiques et les ingénieurs, mais aussi par les professionnels de la santé et les patients.

L'OMS met également en garde contre la vulnérabilité des LMM aux risques en matière de cybersécurité, qui pourraient mettre en péril les informations relatives aux patients, voire la fiabilité des soins de santé.

Enfin, elle conclut que les gouvernements devraient charger des autorités de régulation d'approuver l'utilisation des LMM dans les soins de santé, et demande la mise en place d'audits afin d'évaluer l'impact de cette technologie.



Année universitaire 2023-2024

Université Lyon 1
Faculté de Pharmacie

UELC

Session Rattrapage

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC complémentaire de M1 (M1-1)*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session de rattrapage

FASCICULE n° 1 (de 1 à 1)

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 1 fascicule et un article

Ce fascicule n°1 comprend :

- Description du contenu du fascicule (QROC)

Note

Calculatrice: La calculatrice n'est pas autorisée
Les stabilos sont autorisés.

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 7 *pages numérotées de 1 à 7*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 1 fascicule numéroté(s) de 1 à 1

UELC complémentaire de M1 (M1-1)
Christelle MOUCHOUX

1/ Quelles sont les différentes formes d'actions pour améliorer le bon usage des antibiotiques ? Citez un exemple d'action pour chacune des formes.

2/ Quel est l'objectif principal de cette étude ?

3/ De quel type d'étude s'agit-il ? Décrivez les principaux éléments méthodologiques du schéma de l'étude.

4/ La méthodologie est-elle cohérente avec l'objectif principal de l'étude. Discuter du niveau de preuve de l'étude.

5/ Quels patients ont été visés par cette étude ?

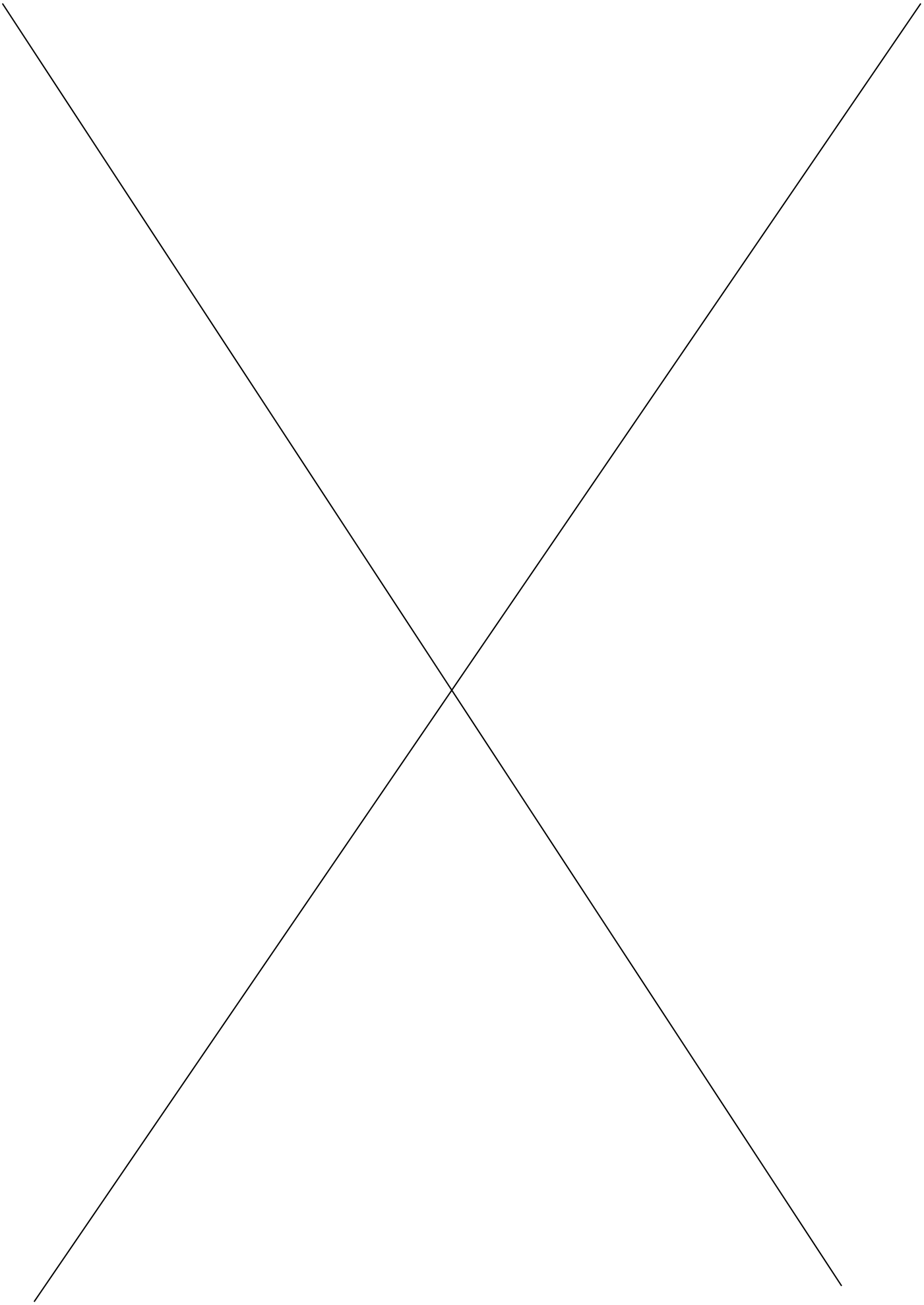
6/ Décrivez l'intervention évaluée.

7/ Pendant la période « avant », une action pour améliorer le bon usage des antibiotiques était-elle déjà mise en place ?

8/ Quel était le critère de jugement principal de l'étude? Comment était-il évalué ?

9/ Combien de patients ont été analysés dans l'étude ? Comparez les groupes

10/ L’intervention évaluée a-t-elle eu un impact sur le critère de jugement principal ?



La Revue de médecine interne 41 (2020) 8–13

Disponible en ligne sur ScienceDirect www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France EM|consulte www.em-consulte.com

Article original

Amélioration de l'adéquation des antibiothérapies aux recommandations et de leur réévaluation par une action pluridisciplinaire : étude prospective dans un service de médecine interne

Improvement of antibiotic therapy adequacy with local guidelines and their reassessment through a multidisciplinary action: Prospective study in an Internal Medicine department

C. Ourghanlian[a,*,b], T. Caruba[b], A. Facchin[b], S. Hashemian[b], M.P. Gerlinger[c], B. Sabatier[b], J. Pouchot[d], D. Lebeaux[c], A. Michon[d]

[a] *Service de pharmacie, CHU d'Henri-Mondor, 94010 Créteil, France*
[b] *Service de pharmacie, hôpital Européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France*
[c] *Unité mobile de microbiologie clinique, hôpital Européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France*
[d] *Service de médecine interne, hôpital Européen Georges-Pompidou, 75015 Paris, France*

INFO ARTICLE

Historique de l'article :
Disponible sur Internet le 29 novembre 2019

Mots clés :
Antibiotiques
Réévaluation
Médecine interne

RÉSUMÉ

Introduction. – La mise en place d'actions de bon usage des antibiotiques est importante dans la lutte contre la résistance bactérienne. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'impact d'un programme pluridisciplinaire sur la pertinence des prescriptions d'antibiotiques en termes d'indication justifiée, de choix de molécule, de posologie et de durée au cours de la réévaluation à 48–72 heures dans un service de médecine interne.
Méthode. – L'étude était monocentrique, prospective, de type avant/après. Tous les patients hospitalisés dans le service de médecine interne ayant reçu une antibiothérapie d'au moins 48 h ont été inclus. L'intervention comportait deux volets : la formation des internes à l'antibiothérapie et mise en place d'une équipe pluridisciplinaire de réévaluation à 48–72 h. Le critère de jugement principal était le taux de conformité des prescriptions aux recommandations locales, évalué en aveugle de la période. Ont également été évaluées, les consommations d'antibiotiques.
Résultats. – Cent-douze patients ont été inclus. Le taux de conformité des prescriptions d'antibiotiques aux référentiels locaux a augmenté de 57,1 % à 91,3 % ($p < 0{,}01$), notamment pour les durées de traitement. La traçabilité des réévaluations dans le dossier médical a augmenté de 65,3 % à 97,8 % ($p < 0{,}01$). Enfin, la part de consommation d'antibiotiques hautement pourvoyeurs de résistance a diminué lors de la période « après » (−10,2 %, $p < 0{,}01$).
Conclusion. – La mise en place d'une action multimodale (associant actions pédagogiques et incitatives) et pluridisciplinaire (médecin interniste, pharmacien clinicien et unité mobile de microbiologie clinique) s'est révélée efficace pour améliorer la qualité des prescriptions d'antibiotiques.
© 2019 Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI). Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Keywords:
Antibiotic
Reassessment
Internal medicine

ABSTRACT

Introduction. – The implementation of antimicrobial stewardship actions is important in the fight against antimicrobial resistance. The objective of our study was to evaluate the impact of a multidisciplinary program on the adequacy of antibiotic prescriptions with local guidelines in terms of indication, molecule, dosage and treatment duration during the 48–72 h reassessment in an internal medicine department.

* Auteur correspondant.
Adresse e-mail : clement.ourghanlian@aphp.fr (C. Ourghanlian).

https://doi.org/10.1016/j.revmed.2019.09.002
0248-8663/© 2019 Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI). Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Method. – This was a before/after monocentric, prospective study. All patients hospitalized in the internal medicine department who were treated with antibiotics for at least 48 h were included. The intervention had two components: training of residents about antibiotic treatment and development of a multidisciplinary 48–72 h reassessment team. Our primary endpoint was the adequacy of prescriptions with local guidelines, assessed by an independent blinded committee. We also measured antibiotic consumptions.
Results. – One hundred and twelve patients were included. Adequacy with local recommendations increased from 57.1% to 97.8% ($P < 0.01$), including for the duration of treatment. Traceability of reassessment in medical records increased from 65.3 % to 97.8 % ($P < 0.01$). Finally, the part of consumption of antibiotics with high risk of resistance selection decreased during the period "after" (−10.2 %, $P < 0.01$).
Conclusion. – The set-up of a multimodal (association of pedagogic and incentive actions) and multidisciplinary (internist, clinical pharmacist and antimicrobial stewards) action improved the adequacy of antibiotic prescriptions with local guidelines.
© 2019 Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

La résistance bactérienne aux antibiotiques est en constante progression à travers le monde [1], avec un impact important en terme de santé publique [2,3]. En France, en 2012, le nombre d'infections à bactéries multirésistantes était estimé à 158 000, pour 12 500 décès imputables [4]. Ces chiffres inquiétants nous incitent à revoir nos pratiques et à mettre en place des actions pour améliorer le bon usage des antibiotiques (*antimicrobial stewardship,* AMS) [5].

Cet AMS peut prendre différentes formes, avec des actions restrictives, incitatives ou pédagogiques. Les actions restrictives [6–9] sont les plus simples à mettre en place, puisqu'elle ne nécessitent pas de moyens humains importants, et peuvent prendre la forme d'une ordonnance à indications limitées (*formulary restriction*) ou de pré-autorisation de prescription par un référent (*preauthorization*). En revanche, elles permettent uniquement de réduire les consommations d'antibiotiques ciblés, avec un report vers les autres familles [8]. Les actions incitatives, quant à elles, concernent principalement le conseil direct auprès des prescripteurs, sous forme d'équipe mobile d'antibiothérapie ou par le référent antibiotique de l'hôpital (*prospective audit and feedback*) [10–12]. Elles ont l'avantage d'être plus polyvalentes, pour un coût humain toutefois élevé. Enfin, les actions pédagogiques sont celles qui permettent aux prescripteurs d'améliorer leurs compétences, notamment par le biais de formations [13] ou d'aides à la prescription [14,15]. Elles sont transversales et peu coûteuses au plan des ressources humaines, mais leur impact est plus limité, notamment dans le temps [16].

Si l'AMS a montré son efficacité et son importance, quel que soit le type d'actions instaurées, les hôpitaux sont confrontés à un manque de moyens humains pour les mettre en place. Pourtant, en France, trois plans antibiotiques successifs ont été proposés [17], des indicateurs bisannuels de qualité de la prise en charge anti-infectieuse ont été mis en place (indicateur composite de bon usage des antibiotiques, ICATB-2), de même qu'une incitation à la traçabilité des réévaluations à 48–72 h (contrat d'amélioration de l'efficience et de la qualité des soins, CAQES). Il nous faut donc, à petite échelle, imaginer des schémas d'AMS efficaces à moyens humains constants.

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact d'un programme pluridisciplinaire associant pédagogie et incitation, réalisé avec les moyens humains propres à un service de médecine interne, sur la pertinence des prescriptions d'antibiotiques en terme d'indication justifiée, de choix de la molécule, de la posologie et de la durée au cours de la réévaluation à 48–72 heures.

2. Patients et méthode

L'étude était monocentrique, prospective et de type avant/après, scindée en deux phases (« avant » et « après ») d'une durée de six mois chacune, ayant eu lieu lors de deux semestres d'internat consécutifs (Hiver 2016–2017 et Été 2017, Fig. 1). L'étude a été conduite dans un Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de 827 lits, sans service dédié à l'infectiologie mais disposant d'une équipe mobile de microbiologie clinique (UMMC) et d'une commission médicale des anti-infectieux (COMAI) ayant un rôle de coordination du programme de bon usage des antibiotiques. La COMAI émet et actualise régulièrement des recommandations de pratiques cliniques, facilement accessibles sur l'intranet de l'hôpital. Le service d'étude était un service de médecine interne de 57 lits, avec un recrutement polyvalent en aval des urgences médicales. Ce service accueille chaque semestre huit à neuf internes en médecine, qui représentent les principaux prescripteurs, et un interne en pharmacie dédié à l'analyse pharmaceutique des ordonnances du service, dont celles d'antibiotiques.

2.1. Modalités de l'intervention

L'intervention comportait plusieurs actions mises en place par une équipe pluridisciplinaire de réévaluation (EPR), composée d'un médecin interniste et d'un pharmacien spécifiquement formés en infectiologie. La première action concernait la formation des internes par l'EPR, assistée par l'UMMC, lors de huit sessions de formations hebdomadaires de 30 minutes concernant la prise en charge des principales pathologies infectieuses rencontrées dans le service. Ces formations avaient lieu lors des deux premiers mois de la phase « après » (Fig. 1). La seconde action, qui s'est déroulée lors de la totalité de la phase « après », était la mise en place d'un programme de réévaluation des antibiothérapies à 48–72 h par l'EPR, lors de trois visites hebdomadaires, au cours de laquelle l'ensemble des antibiothérapies en cours dans le service étaient listées, revues et discutées avec les prescripteurs. Lors des deux périodes d'étude, des avis spécialisés étaient disponibles auprès de l'UMMC.

2.2. Patients

Les données de tous les patients hospitalisés dans le service de médecine interne ayant reçu une antibiothérapie lors des deux périodes d'analyse d'un mois (dernier mois de chaque période « avant » et « après ») ont été inclues. N'ont pas été pris en compte, les patients décédés ou transférés dans un autre service lors des 48 premières heures d'hospitalisation, les patients pour lesquels l'antibiothérapie avait duré moins de 48 heures et les patients dont

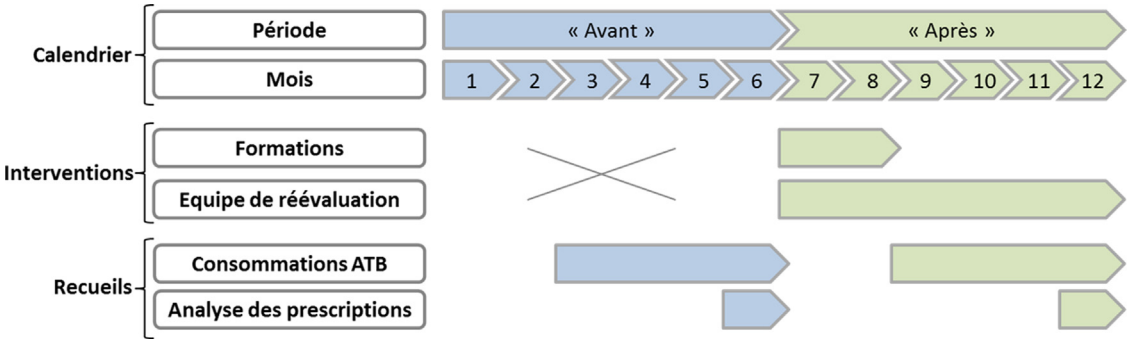


Fig. 1. Calendrier de l'étude : interventions et recueils.

les prescriptions d'antibiotiques relevaient d'une antibioprophylaxie.

2.3. Recueil des données

Les données des patients étaient recueillies dans le cadre du soin depuis le dossier patient informatisé : sexe, âge, poids, fonction rénale, niveau de gravité, prescription d'antibiotique(s) (indication, durée, molécules, voie d'administration, posologie) et traçabilité de la réévaluation à 48–72 h. Une altération de la fonction rénale était définie par un débit de filtration glomérulaire estimé par la formule CKD-EPI inférieur à 60 mL/min/1,73m^2. Les niveaux de gravité étaient classés en sepsis, sepsis sévère ou choc septique [18], classification en vigueur au moment de l'étude. Aucune donnée n'était spécifiquement recueillie pour l'étude.

La sensibilisation des internes au suivi des antibiothérapies a également été évaluée hebdomadairement par l'EPR en calculant le ratio nombre de patients connus par l'interne en charge comme ayant une antibiothérapie/nombre de patients réellement sous antibiothérapie. La conformité des prescriptions aux recommandations locales de pratiques cliniques a ensuite été évaluée rétrospectivement par une équipe pluridisciplinaire composée d'un pharmacien et de deux médecins infectiologues. Les personnes ayant réalisé l'analyse des dossiers n'étaient pas membres de l'EPR. Cette équipe d'analyse était constituée d'un pharmacien n'exerçant pas dans le service de Médecine Interne et de deux médecins infectiologues de l'UMMC ne prescrivant pas et n'ayant pas donné d'avis concernant les prescriptions sur la période d'étude. De plus, l'analyse était réalisée en aveugle de la période, après anonymisation complète des dossiers. La conformité a été évaluée à 48 h (indication à une antibiothérapie, posologie et choix de la molécule une fois passé la période probabiliste) et à la fin du traitement (durée du traitement). Les recommandations internes de la COMAI, fondées sur la littérature existante et validées par un comité d'expert, ont été utilisées comme référence. En plus de ces recommandations, la conformité du choix de la molécule intégrait les données de l'antibiogramme quand il était réalisé. Enfin les consommations d'antibiotiques, exprimées en doses définies journalières pour 1000 journées d'hospitalisation (DDJ/1000 JH) telles que définies par l'OMS [19], ont été relevées lors des quatre derniers mois de chaque période.

2.4. Évaluation et analyse statistique

Le critère de jugement principal était le taux de conformité des prescriptions aux recommandations locales de pratiques cliniques. Ce critère était évalué en aveugle de la période d'étude. La conformité était jugée sur quatre critères : indication justifiée à une antibiothérapie, choix de la molécule, choix de la posologie et durée de traitement (à plus ou moins 24 heures). Les prescriptions étaient conformes si elles suivaient les recommandations locales pour chacun des quatre critères. Les critères de jugement secondaires étaient l'indicateur de sensibilisation des internes, le taux de réévaluation à 48–72 heures tracées dans le dossier patient, le taux de réévaluation à 48–72 heures complètes, les durées de traitement, les durées de séjour et les consommations d'antibiotiques. Une réévaluation était jugée complète si elle comportait au moins trois informations sur quatre parmi : molécule, posologie, voie d'administration et durée totale de traitement prévue. Les analyses statistiques étaient réalisées sur le logiciel R. Les données quantitatives étaient comparées par le test de Mann-Whitney et les proportions par le test du Chi^2. La répartition des infections dans chaque groupe était comparée par le test exact de Fisher. Les résultats étaient analysés pour un risque de première espèce au seuil 0,05.

3. Résultats

3.1. Caractéristiques de patients

Cent 12 patients ont été inclus dans l'étude (Fig. 2). Dix-sept d'entre eux ont été exclus : quatre prophylaxies, un décès, neuf transferts et trois traitements de moins de 48 heures (traitement monodose par fosfomycine-trométamol). Au total, les données de 95 patients ont été analysées : 49 pendant la période « avant » (groupe contrôle) et 46 dans la période « après » (Tableau 1).

Il y avait autant d'hommes que de femmes dans chaque groupe. La moyenne d'âge des patients était égale à 62,7 ans dans le groupe « avant » et 64,7 ans dans le groupe « après ». Près d'un quart de ces patients présentaient une altération de la fonction rénale (22,4 et 21,7 %, respectivement). Les infections traitées ne différaient pas entre les deux bras et étaient principalement des infections urinaires (n = 15 ; 30,6 % et n = 17 ; 37,0 %) et pulmonaires (n = 18 ; 36,7 % et n = 15 ; 32,6 %). Quatre patients ayant un syndrome thoracique aigu drépanocytaire ont été inclus dans chaque bras. Enfin, la gravité des patients était de niveau équivalent entre les deux bras, seulement un patient par groupe présentait un sepsis sévère, et aucun un choc septique.

3.2. Intervention

Le contenu des sessions de formations comprenait : (1) la prise en charge des infections urinaires, pulmonaires, intra-abdominales, cutanées et articulaires ; (2) la durée des antibiothérapies ; (3) la lecture des antibiogrammes ; (4) sur la pharmacocinétique des antibiotiques. Ces formations avaient été réparties en huit sessions d'une durée moyenne de 30 minutes, correspondant à un investissement de quatre heures en début de semestre.

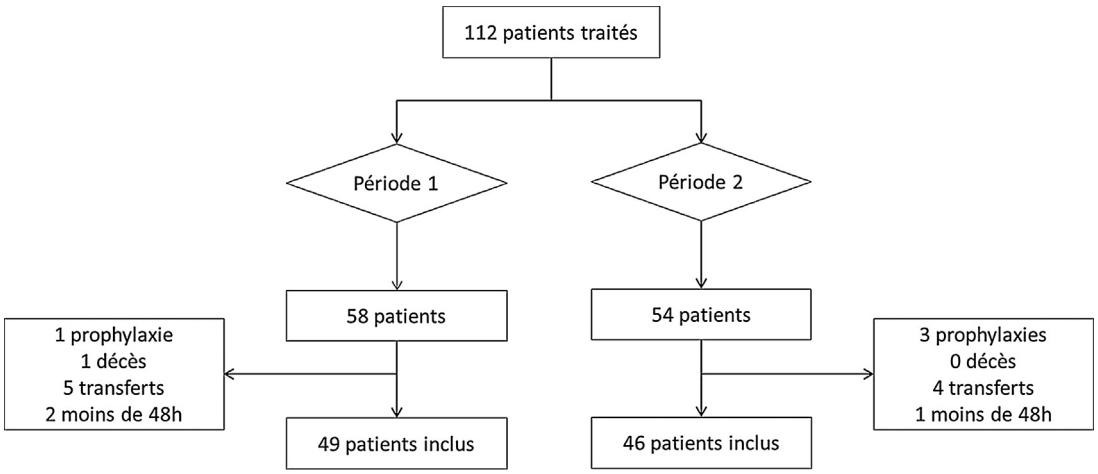


Fig. 2. Inclusion des patients.

Tableau 1
Données démographiques.

	Période de recueil		
	« Avant » *n* = 49	« Après » *n* = 46	*p*
Sex-ratio hommes/femmes	0,9	1,1	0,76
Âge, ans	62,7	64,7	0,66
Poids, kg	76,5	66,5	0,08
Clairance de la créatinine (CKD-EPI) < 60 mL/min	22,4 %	21,7 %	0,93
Sepsis sévère	2,0 %	2,2 %	> 0,99
Indication de l'antibiothérapie, *n* (%)			
Infection cutanée	4 (8,2)	4 (8,7)	
Infection neuroméningée	2 (4,1)	2 (4,3)	
Infection ostéo-articulaire	2 (4,1)	1 (2,2)	
Infection pulmonaire	18 (36,7)	15 (32,6)	0,99
Infection urinaire	15 (30,6)	17 (37,0)	
Syndrome thoracique aigu	4 (8,2)	4 (8,7)	
Autre	4 (8,2)	3 (6,5)	

Tableau 2
Évolution des patients et de leurs prescriptions selon la période.

	Période de recueil		
	« Avant » *n* = 49	« Après » *n* = 46	*p*
Conformité aux référentiels, *n* (%)	28 (57,1)	42 (91,3)	< 0,01
Causes de non conformité, *n* (%)			
Durée inadaptée	14 (28,6)	4 (8,7)	0,03
Molécule inadaptée	7 (14,3)	0	0,02
Posologie inadaptée	2 (4,1)	0	0,50
Antibiothérapie non justifiée	1 (2,0)	0	> 0,99
Durée médiane de séjour avec IQR, jours	8,0 [5,0–12,0]	9 [6,0–13,0]	0,35
Durée médiane de traitement avec IQR, jours	8,0 [7,0–14,0]	7,5 [7,0–13,5]	0,64
Décès intrahospitalier, *n* (%)	1 (2,0)	1 (2,2)	> 0,99
Transfert en soins intensifs, *n* (%)	3 (6,1)	2 (4,3)	> 0,99
Avis de l'UMMC, *n* (%)	6 (12,2)	5 (10,9)	> 0,99

Sans intervention de l'équipe pluridisciplinaire de réévaluation.

Les visites de réévaluation étaient réalisées chaque lundi, mercredi et vendredi. Vingt patients en moyenne étaient sous antibiothérapie à chaque visite, dont un tiers nécessitait une réévaluation tracée à 48–72 heures. La durée de ces visites était en moyenne de 90 minutes (de 30 minutes à 3 heures). Sur ces 90 minutes, 30 étaient en moyenne nécessaires au pharmacien clinicien pour préparer la liste des patients concernés. Au total, les visites de l'EPR prenaient en moyenne quatre heures et demie par semaines, dont trois heures de visite effective (soit 0,08 ETP médecin et 0,11 ETP pharmacien).

3.3. Évaluation des prescriptions

L'analyse en aveugle du critère de jugement principal montrait une augmentation du taux de conformité des prescriptions d'antibiotiques aux référentiels (Tableau 2), de 57,1 % à 91,3 % ($p < 0{,}01$). Cette amélioration concernait principalement le respect des durées de traitement recommandées (14 durées inadaptées « avant » vs. 4 « après » ; $p = 0{,}03$) et de choix des molécules (7 molécules inadaptées « avant » vs. aucune « après » ; $p = 0{,}02$). Aucune différence statistiquement significative n'était constatée

Tableau 3
Traçabilité de la réévaluation des antibiothérapies.

	Période de recueil		*p*
	« Avant » *n* = 49	« Après » *n* = 46	
Prescriptions réévaluées, *n* (%)	43 (87,8)	45 (97,8)	0,11
Arrêt de traitement	2 (4,1)	2 (4,3)	> 0,99
Poursuite sans modification	19 (38,8)	18 (39,1)	> 0,99
Modification de voie	22 (44,5)	21 (45,7)	> 0,99
Modification de molécule	21 (42,9)	22 (47,8)	0,68
Modification de posologie	1 (2,0)	1 (2,2)	> 0,99
Réévaluation tracée, *n* (%)	32 (65,3)	45 (97,8)	< 0,01
Traçabilité complète	5 (10,2)	35 (76,0)	< 0,01
Nombre de patients cités par l'interne/nombre de patients réellement sous antibiothérapie, *n* (%)	43 (87,8)	45 (97,8)	< 0,01

Tableau 4
Évolution du profil de consommation entre les deux périodes.

	Période de recueil « Avant » *n* = 49	« Après » *n* = 46	*p*
Part de consommation selon le profil écologique			
Antibiotiques classiques	55,8 %	65,0 %	< 0,01
Antibiotiques hautement pourvoyeurs de résistance	43,3 %	33,2 %	< 0,01
Antibiotiques de dernier recours	0,9 %	1,8 %	0,13
Part d'antibiotiques injectables	35,2 %	46,4 %	< 0,01
Part d'amoxicilline avec inhibiteur	41,8 %	27,7 %	< 0,01

sur la durée moyenne de traitement (8,0 vs. 7,5 jours ; $p = 0{,}64$). Les durées de séjour ne différaient pas entre les deux groupes ($p = 0{,}35$). Enfin, aucune différence n'était constatée en terme de mortalité et de transfert en soins intensifs.

3.4. Réévaluation des antibiothérapies à 48–96 h

Sur les 95 antibiothérapies, 88 avaient été réévaluées de manière explicite (indiquée dans le dossier du patient) ou implicite (modification de l'ordonnance, sans traçabilité de la réévaluation) (Tableau 3). Ces réévaluations consistaient principalement en une modification de la voie d'administration ou de la molécule (44,5 et 42,9 %, respectivement). Trente-sept ordonnances n'avaient pas été modifiées, sans différence entre les deux périodes. Les arrêts de prescription consécutifs à la réévaluation concernaient 4,1 % (période « avant ») et 4,3 % (période « après ») des cas. Les réévaluations étaient plus souvent tracées dans le dossier patient dans la phase « après », dans 97,8 % des cas, contre 65,3 % « avant » ($p < 0{,}01$). De plus, les réévaluations tracées étaient plus souvent complètes dans la phase « après » (76,0 % vs. 10,2 %). Enfin, lors de la seconde phase d'étude, les internes étaient capables de citer spontanément 97,2 % de leurs patients traités contre 87,1 % avant ($p < 0{,}01$).

3.5. Consommation d'antibiotiques

Pour ce qui est du profil de consommation selon la classification de l'ANSM, la part d'antibiotiques classiques avait augmenté (Tableau 4), au contraire de celle d'antibiotiques hautement pourvoyeurs de résistance (+9,2 % vs. −10,1 %, respectivement, $p < 0{,}01$). Cette augmentation concernait principalement l'amoxicilline (+214 DDJ/1000 JH). Enfin, la part d'antibiotiques injectables avait augmenté, passant de 35,2 % à 46,4 % ($p < 0{,}01$).

4. Discussion

Nous avons pu montrer, dans cette étude, l'impact d'une action multimodale et pluridisciplinaire sur la qualité des prescriptions d'antibiotiques et sur l'amélioration de la traçabilité de la réévaluation. Si l'intérêt d'une équipe dédiée à l'*antimicrobial stewardship* a déjà été montré [5,13,20], l'originalité de notre travail porte sur l'utilisation des ressources humaines propres au service sans création de temps supplémentaire, et sur la combinaison d'actions pédagogiques et incitatives.

La sensibilisation et la formation des internes en début de semestre a permis une prise de conscience sur l'importance de préserver les antibiotiques. Cette notion a été mise en évidence par le meilleur suivi des patients septiques dans la phase « après », phase durant laquelle les internes pouvaient citer spontanément 97,1 % des patients traités par au moins un antibiotique. Cette sensibilisation s'est traduite par le respect des recommandations locales, avec une amélioration importante de la conformité des prescriptions aux référentiels, y compris sans intervention supplémentaire de l'EPR lors de la réévaluation.

L'EPR est arrivée en complément de ces formations, conduisant à une augmentation du taux de réévaluation à 48–72 heures, le portant à 97,8 %. De plus, la traçabilité de ces réévaluations était élevée (97,8 % également) et supérieure à celle des données publiées [21,22]. Au-delà de l'aspect quantitatif, la traçabilité de ces réévaluations était surtout plus complète, avec le renseignement d'au moins trois critères parmi la molécule, la posologie, la voie d'administration et la durée de traitement dans 76,0 % des cas (contre 10,2 % dans la phase « avant »). En améliorant ainsi la tenue du dossier patient et la transmission d'informations entre professionnels de santé lors de la sortie ou des transferts, nous pouvons imaginer que cette meilleure qualité des réévaluations renforce l'intérêt clinique de ce critère institutionnel.

Au-delà de la traçabilité des réévaluations, l'association entre formation des internes et intervention de l'EPR a permis d'augmenter la conformité aux référentiels locaux à 91,3 %. Cette conformité aux recommandations a notamment concerné les durées de traitement, qui étaient plus souvent conformes dans la phase « après » (98 % vs. 65 %). Néanmoins, nous n'avons pu montrer de différence quantitative sur la durée de traitement entre les deux groupes, probablement en raison de divergences faibles lors de la phase « avant » (deux à trois jours de traitement en trop) et d'un manque de puissance de notre étude. Les deux membres de l'équipe étaient spécifiquement formés en infectiologie mais exerçaient dans leurs disciplines respectives (médecine interne et pharmacie clinique), nous laissant supposer que notre étude serait transposable dans tout service clinique, à condition de former spécifiquement les intervenants. La pluridisciplinarité de l'équipe nous semble également être un point fort de l'étude, là où des

interventions monodisciplinaires semblent légèrement efficaces (jusqu'à 80 % de conformité [23]).

Les consommations d'antibiotiques des deux périodes d'étude n'ont pas été interprétées sous un angle strictement quantitatif, étant données la variabilité saisonnière importante des consommations d'antibiotiques et la courte période d'étude. De plus, nous avons constaté une importante augmentation de la consommation d'amoxicilline lors de la période « après » induisant un biais dû aux valeurs des DDJ telles que définies par l'OMS. La DDJ d'amoxicilline est fixée à un gramme, là où nous utilisons habituellement en France une posologie de trois grammes par jour, chaque jour de traitement comptant ainsi pour trois DDJ et majorant artificiellement les consommations. De la même manière, l'augmentation de consommation d'amoxicilline IV (+150 DDJ/1000 JH) a virtuellement augmenté la part d'antibiotiques injectables (+11,2 %), bien que l'EPR ait également agi sur les voies d'abord. Nous avons donc fait le choix d'analyser les consommations par répartition dans les différentes catégories fixées par l'ANSM [24]. Nous avons pu constater que la consommation d'antibiotiques hautement pourvoyeurs de résistance, notamment les fluoroquinolones, était en baisse au profit des antibiotiques dits « classiques », écologiquement plus intéressants (−10,1 % et + 9,2 %, respectivement).

Notre étude présente comme limite un défaut de puissance statistique, qui ne nous a pas permis de détecter des différences en terme de durées de séjour, de traitement, de taux d'échecs ou de décès. De plus, notre étude comparait les pratiques de prescriptions de deux semestres consécutifs et donc de deux équipes d'internes différentes, la seconde ayant un semestre d'expérience supplémentaire, ce qui pourrait avoir influé sur le respect des recommandations et la sensibilisation à la traçabilité des antibiothérapies. Une autre stratégie aurait pu être d'évaluer la mise en place de notre action multimodale et pluridisciplinaire au cours du semestre et de comparer les pratiques du même groupe d'interne. D'autre part, le caractère consécutif des deux semestres d'étude pourrait avoir induit un biais de recrutement devant la saisonnalité des infections, notamment respiratoires. Néanmoins, l'évaluation des prescriptions a porté sur les mois d'avril et d'octobre, en dehors de la période d'épidémie de grippe, et le recrutement ne différait pas entre les deux phases.

Enfin, si l'impact des actions mise en place est important, le temps consacré n'est pas négligeable et n'est probablement pas transposable partout. En effet, le temps médical consacré était de 0,08 ETP pour 57 lits, là où le temps de référent antibiotique recommandé est de 0,04 ETP [25] pour un service équivalent. Néanmoins, en extrapolant ces résultats à un centre d'environ 350 lits de MCO, il apparaît qu'avec 1 ETP (0,5 médecin et 0,5 pharmacien) il serait possible d'obtenir d'excellents résultats sur le respect des recommandations et sur la réévaluation de l'antibiothérapie.

En conclusion, la mise en place d'une action multimodale (associant actions pédagogiques et incitatives) et pluridisciplinaire (associant médecin interniste, pharmacien clinicien et unité mobile de microbiologie clinique) s'est révélée particulièrement efficace pour obtenir une augmentation du taux de respect des recommandations et de la traçabilité des réévaluations, ainsi qu'une forte adhérence des médecins juniors. Ces résultats préliminaires seront complétés par une étude à plus long terme évaluant dans le temps et en pratique courante cette intervention multimodale.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

[1] Tillotson GS, Zinner SH. Burden of antimicrobial resistance in an era of decreasing susceptibility. Expert Rev Anti Infect Ther 2017;15:663–76.

[2] ECDC. The bacterial challenge – time to react; 2009. http://ecdc.europa.eu/en/news-events/bacterial-challenge-time-react-0. [Accès au site le 03/09/2017].

[3] C.D.C. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013; 2012. https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html. [Accès au site le 03/09/2017].

[4] Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire. Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012. Étude Burden-BMR; 2015. https://www.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2015/Morbidite-et-mortalite-des-infections-a-bacteries-multi-resistantes-aux-antibiotiques-en-France-en-2012 [Accès au site le 03/09/2017].

[5] Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, et al. Implementing an antibiotic stewardship program: Guidelines by the infectious diseases society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. Clin Infect Dis 2016;62:e51–77.

[6] White AC, Atmar RL, Wilson J, Cate TR, Stager CE, Greenberg SB. Effects of requiring prior authorization for selected antimicrobials: Expenditures, susceptibilities, and clinical outcomes. Clin Infect Dis 1997;25:230–9.

[7] Pakyz AL, Oinonen M, Polk RE. Relationship of carbapenem restriction in 22 university teaching hospitals to carbapenem use and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:1983.

[8] Rahal JJ, Urban C, Horn D, Freeman K, Segal-Maurer S, Maurer J, et al. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial klebsiella. JAMA 1998;280:1233–7.

[9] Gross R, Morgan AS, Kinky DE, Weiner M, Gibson GA, Fishman NO. Impact of a hospital-based antimicrobial management program on clinical and economic outcomes. Clin Infect Dis 2001;33:289–95.

[10] Carling P, Fung T, Killion A, Terrin N, Barza M. Favorable impact of a multidisciplinary antibiotic management program conducted during 7 years. Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24:699–706.

[11] Vettese N, Hendershot J, Irvine M, Wimer S, Chamberlain D, Massoud N. Outcomes associated with a thrice-weekly antimicrobial stewardship programme in a 253-bed community hospital. J Clin Pharm Ther 2013;38:401–4.

[12] LaRocco A. Concurrent Antibiotic Review Programs–A role for infectious diseases specialists at small community hospitals. Clin Infect Dis 2003;37:742–3.

[13] Davey P, Marwick CA, Scott CL, Charani E, McNeil K, Brown E, et al. Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. Cochrane Database Syst Rev, John Wiley & Sons Ltd 2017;2:CD003543.

[14] Hauck LD, Adler LM, Mulla ZD. Clinical pathway care improves outcomes among patients hospitalized for community-acquired pneumonia. Ann Epidemiol 2004;14:669–75.

[15] Evans RS, Pestotnik SL, Classen DC, Clemmer TP, Weaver LK, Orme Jr JF, et al. A computer-assisted management program for antibiotics and other antiinfective agents. N Engl J Med 1998;338:232–8.

[16] Landgren FT, Harvey KJ, Mashford ML, Moulds RF, Guthrie B, Hemming M. Changing antibiotic prescribing by educational marketing. Med J Aust 1988;149:595–9.

[17] Plan national d'alerte sur les antibiotiques 2011-2016. ANSM. http://ansm.sante.fr/Dossiers/Antibiotiques/Plan-national-d-alerte-sur-les-antibiotiques-Contribution-de-l-ANSM/(offset)/1. [Publié en 2011, Accès au site le 03/09/2017].

[18] Martin C, Brun-Buisson C. Prise en charge initiale des états septiques graves de l'adulte et de l'enfant. Ann Fr Anesth Réanimation 2007;26:53–73.

[19] WHO. WHO–ATC/DDD Index. https://www.whocc.no/atc_ddd_index/ [Publié en 2017, Accès au site le 16/07/2017].

[20] Plachouras D, Hopkins S. Antimicrobial stewardship: we know it works; time to make sure it is in place everywhere. In: The Cochrane Collaboration, editor. Cochrane Database Syst Rev. 2017. p. 2.

[21] Lucas M, Germain J-M, Rémy E, Lottin M, Etienne M, Czernichow P, et al. Reassessment of antibiotic therapy in hospitals. Med Mal Infect 2017;47:324–32.

[22] Pérut V, Gauzit R, Kernéis S, Canouï E, Chedhomme FX, Batista R, et al. Assessing the benefit of the 72-hour antibiotic therapy reassessment documentation. Med Mal Infect 2018;49:187–96.

[23] Papailhau C, Gaujard S, Girard R, Bourguignon L, Mouchoux C. Bon usage des fluoroquinolones chez le sujet age hospitalise : realisation d'un audit clinique dans les hopitaux geriatriques des hospices civils de Lyon. Rev Med Interne 2018;39:551–6.

[24] A.N.S.M. Les antibiotiques considérés comme « critiques » : premières réflexions sur leur caractérisation – Mise à jour; 2018. https://www.ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Les-antibiotiques-consideres-comme-critiques-premieres-reflexions-sur-leur-caracterisation-Point-d-information [Accès au site le 5/12/2015].

[25] Le Coz P, Carlet J, Roblot F, Pulcini C. Human resources needed to perform antimicrobial stewardship teams' activities in French hospitals. Med Mal Infect 2016;46:200–6.

1. Introduction

Deficient bioavailability due to certain physicochemical properties of some active substances is still a challenge in pharmaceutical science. Thus, new formulation strategies are required to overcome this problem—for example for poorly water-soluble compounds [1].

In the last years, the study of formulations to deliver water-insoluble molecules has increased. Emulsions and solid lipid nanoparticles (SLN) are up to now the most studied systems to deliver this type of molecule, and are unstable and have limited loading capacity. Therefore, there is still a demand for readily stable hydrophobic carriers with a higher loading capacity. Colloidal dispersions of gelled lipid nanoparticles (GLN) present an attractive alternative to surpass these limitations, since they may act as hydrophobic reservoirs [2,3].

Organogels are semi-solid systems (soft materials) in which a three-dimensional network composed of cross-linked gelator fibers immobilizes an organic liquid [4]. Organogels are principally classified based on the type of organogelator used, but also based on the nature of the organic liquid and its intermolecular interactions [5,6]. These organogelators can be divided into polymeric organic gelators (POG) and low molecular-mass organic gelators (LMOG) [5]. POG are high molecular-mass molecules which are capable of jellifying organic solvents, forming physical crosslinking points. These crosslinking points can be due to the formation of hydrogen bonds (inducing the formation of α-helices and β-sheets) for polypeptide polymers or $\pi-\pi$ stacking interactions for p-conjugated polymers. LMOG are relatively small organic molecules (molecular weight < 2000 g/mol, usually

even smaller than 500 g/mol) which are capable of forming a three-dimensional network around the organic liquid, thus gelling the organic liquid. LMOG have several advantages over POG: better biocompatibility, lower toxicity, easy to prepare, stronger stability, and high gelling capacities needing less quantities of gelator (<1 wt %) [5,6].

The LMOG are separated into different classes according to criteria based on their molecular structure. For example, they can be classified as alkane organic gelators, as n-octacosane (Figure 1a), organic gelators with one heteroatom as ethers (e.g., 60-crown-20-macrocycle; Figure 1b), organic gelators with two heteroatoms (e.g., *N*-octyl-D-gluconamide; Figure 1c), organic gelators with three heteroatoms (e.g., racemic 2-acryloylamide-dedecane-1-sulfonic acid or ADSA; Figure 1d), polymerizable organic gelators such as bis-urea gelators (Figure 1e), two-component organic gelators such as bis-(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate or AOT (Figure 1f), and organometallic gelators such as palladium-CNC pincer bis(carbene) (Figure 1g) [5,6].

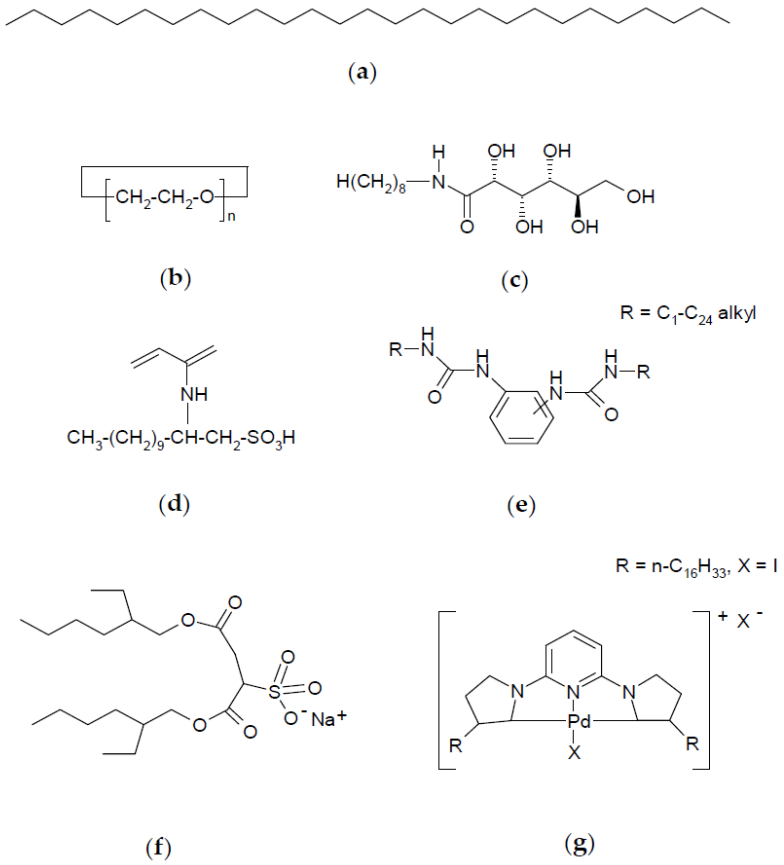


Figure 1. Examples of LMOG chemical structure: (**a**) n-octacosane; (**b**) 60-crown-20-macrocycle; (**c**) *N*-n-octyl-D-gluconamide; (**d**) 2-acryloylamide-dedecane-1-sulfonic acid (ADSA); (**e**) cyclic bis-urea gelator; (**f**) bis-(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate (AOT); (**g**) palladium-CNC pincer bis(carbene).

Derived from this classification, several chemical compounds are used in cosmetics, such as 12-hydroxystearic acid (HSA) (Figure 2a), 1,3:2,4-di-*O*-benzylidene-D-sorbitol (DBS) (Figure 2b), sterols, lecithin, mono- and diglycerides, lecithin mixtures with sorbitan esters, fatty acids, fatty alcohols, waxes, and wax esters [5,6].

Plant metabolites—many of which are very structurally complicated—present attractive candidates as new LMOGs because they are available in renewable supply without extensive synthetic effort. Moreover, LMOG organogels can be classified into two groups depending on the kinetic

properties of aggregates: "strong" organogel (solid fiber network) and "weak" organogel (fluid fiber network) [7–9].

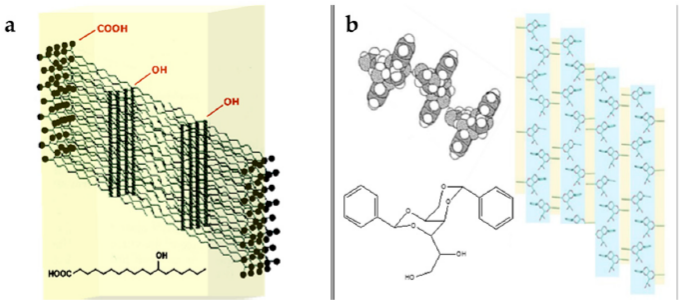


Figure 2. Chemical structure and representation of intermolecular interactions of: (**a**) HSA molecules; (**b**) DBS molecules.

In solution, LMOG self-assemble to form fibrous structures responsible for the gelation phenomenon [4]. Typically, the intermolecular forces that drive aggregation include hydrogen-bonding, π−π stacking, dipole−dipole, and London dispersion forces; however, hydrogen-bonding is a very important component of the self-assembly driving force in a large fraction of reported organogelators [10]. These physical gels are usually thermoreversible (reversible gel–sol/sol–gel phase transition by heating and cooling, respectively), depending on the molecular structure of the gelling agent and the fluid which is rigidified. It is possible to form nanoscale superstructures such as nanofibres, nanoribbons, nanosheets, nanoparticles, etc., which are of interest for materials and nanostructures conception. The interconversion between the gel and solution/sol phases depends only on the disassembly and assembly of the constituent molecules [7,11].

LMOGs are mostly used, since a limited number of synthetic polymers (e.g., polypeptides and polyesters) with these organogelation properties have been reported [12–14].

2. Preparation of LMOG Organogel Self-Assembled Systems

The formulation of stable colloidal dispersions of GLN includes two successive steps. The preparation of the organogel from an organic liquid (vegetable or emollient oil) and an organic gelator as the first step. After organogel preparation, aqueous dispersions of GLN are obtained by their dispersion in a water phase containing a stabilizing and/or emulsifying agent(s) [12] (Figure 3).



Figure 3. Schematic representation of gelled lipid nanoparticle (GLN) colloidal dispersion preparation process.

2.1. Gelation Process

LMOG organogels are obtained by dissolving a small amount of the organogelator at high temperature to obtain an isotropic solution and then cooling this solution under its characteristic gelation transition temperature, known as Tgel. The mixture must be completely solubilized and homogenized before being cooled below its Tgel, which represents the temperature from which the

organogel formation process started. The Tgel has proven to be dependent on the concentration of the organogelator, the properties of the organic liquid (or oil), such as its polarity or viscosity, and in some cases of the cooling process. Gelation occurs as the hot solutions cools, while the self-assembled networks are formed. Since LMOGs form a physical gel (unlike chemical gels), these organogels are thermally reversible organic gel-like materials. The gelation process in this type of organogel is represented in Figure 4 [12].

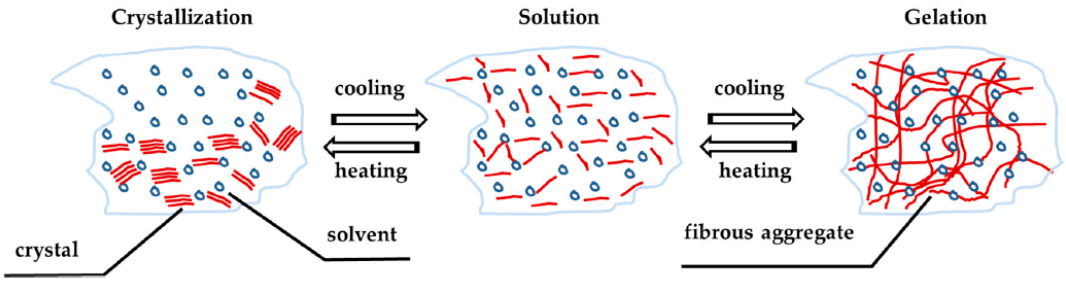


Figure 4. Organogel gelation–melting process representation.

It is important note that organogels formed by LMOGs tend to crystallize, leading to a more metastable organogel. It is possible to adhere a polymer as a gelation-driven compound with covalent bonds, converting it into a "polymer-based gelator" or supramolecular crosslinkable polymer organogelator that can form a more stable gel. For example, polysiloxanes, polyethers, and polycarbonates are useful polymers to confer a more stable characteristic to LMOGs [15]. Moreover, lecithin—a common organogelator usually used as stabilizing and dispersing agent to obtain stable organogel microemulsions—is expensive and difficult to obtain with high purity. When using lecithin of lesser purity, it can be used in the presence of synthetic polymers in the preparation of gel microemulsions in order to obtain the same stabilizing properties [16].

2.2. Phase Transition Parameters

The primary concept to consider in organogels is their phase transition parameters. These parameters are determined by rheology, as following the evolution of the elastic (G′) and viscous (G″) moduli versus temperature increase or decrease. The viscoelastic moduli permit the determination of the phase transition parameters of an organogel, such as gel–sol or sol–gel phase transition domains (PTDs), Tmelt (organogel melting temperature), Tgel, Tsol (organogel liquefaction temperature), as well as Tform (organogel formation temperature) [5,6].

Figure 5 shows the viscoelastic behavior of an LMOG organogel during its melting process (Figure 5a) and during its formation process (Figure 5b).

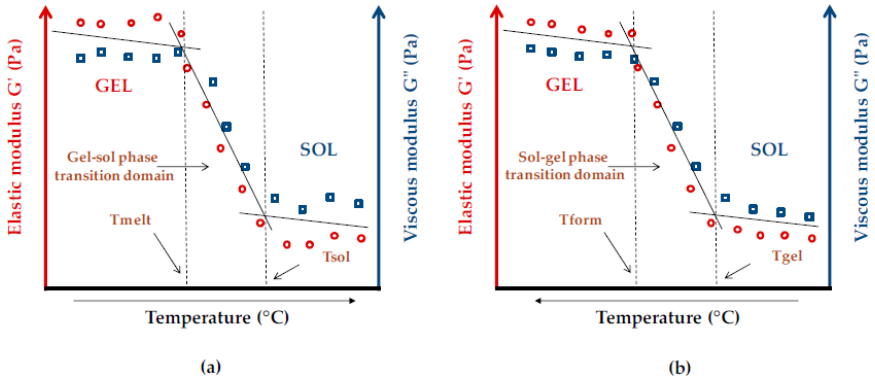


Figure 5. Schematic representation of phase transition parameters of an LMOG organogel: (**a**) organogel liquefaction process (temperature increase); (**b**) organogel formation process (temperature decrease).

The rheological behavior of an LMOG organogel versus temperature presents two phases: the gel phase and the sol phase, separated by a transitional phase, known as PTD. According to the considered process, there is a gel–sol PTD (organogel liquefaction) or sol–gel PTD (organogel formation). The Tmelt corresponds to an abrupt decrease of the viscoelastic moduli and characterizes the beginning of the organogel melting process. This process is progressive, and takes place over a temperature range determined by the gel–sol PTD, and from a certain temperature (known as Tsol—organogel liquefaction), the organogel is completely liquefied. Concerning the sol–gel process (organogel formation), the Tgel corresponds to the abrupt increase of the viscoelastic moduli. Tgel indicates the beginning of the gelation process, contrary to the Tform which indicates the organogel formation temperature, above which the material shows constant viscoelastic properties with the temperature decrease. The sol–gel PTD is closed between Tgel and Tform.

The phase transition parameters of organogels obtained from HSA and various oils (emollients and vegetables) are reported in Table 1. The data show that Tgel and Tmelt values increase with increasing HSA proportion, regardless of the nature of the oil. Concerning Tsol and Tform, these parameters also increase when the HSA wt % increases and show higher values with vegetable oils, which is related to their important dynamic viscosity. The PTD range variation depends on the considered process. In the case of sol–gel PTD, it is closer than those of the gel–sol one. Moreover, this difference decreases as the proportions of HSA are increased for both types of oils (emollients and vegetable oils).

Table 1. Phase transition parameters of organogels obtained from emollients (dicaprylyl ether, capric/caprylic triglycerides) or vegetable oils (soybean, safflower) and 3, 6, and 15 wt % of HSA, respectively. PDT: phase transition domain.

Emollients or vegetable oils	Tgel [1] (°C)	Tform [1] (°C)	Sol–Gel PTD (ΔT)	Tmelt [1] (°C)	Tsol [1] (°C)	Gel–Sol PTD (ΔT)
Oil/HSA 3 wt %						
ether	49	45.5	3.5	48	63	15
triglycerides	47	44	3	48.5	61	12.5
soybean	51	47.5	3.5	53	67	14
safflower	54	50	4	53	68	15
Oil/HSA 6 wt %						
ether	56	51.5	4.5	55	65	10
triglycerides	56	51	5	54	64	10
soybean	58	53.5	4.5	58.5	68	9.5
safflower	61	56	5	59	70	11
Oil/HSA 15 wt %						
ether	63	56	7	62	71	9
triglycerides	63.5	55.5	8	61	70	9
soybean	66.5	60	6.5	66	71	5
safflower	65	56	9	63	72	9

[1] T ± 0.5 °C.

It is observed that when the proportion of HSA is increased, the sol–gel PTD increases and the gel–sol PTD decreases. The formation or destruction of the three-dimensional network of HSA fibers involves two very different processes. In the case of gelling, it is a highly cooperative process that is very energetically favorable. Moreover, during the melting process, there is a progressive breakdown of the network and the fluidization is complete only when all the HSA molecules are dissociated. These two processes are also very sensitive to the strength of the network junctions; that is, to their degrees of crystallization. The increase in HSA content increases the number of junctions in the network, which widens the sol–gel PTD because the network has a higher degree of interconnectivity. At low HSA wt %, a low density of junctions is observed, but these are strongly crystallized. Moreover, when the HSA content increases, the fiber network is more entangled, but the junction zones are more disordered and therefore break more rapidly during the gelling process.

2.3. Organogel Nanoparticle Dispersion

Tgel has an important part in the preparation of the GLN dispersions from a LMOG. As observed in Figure 6, the formation of these one depends on this parameter.

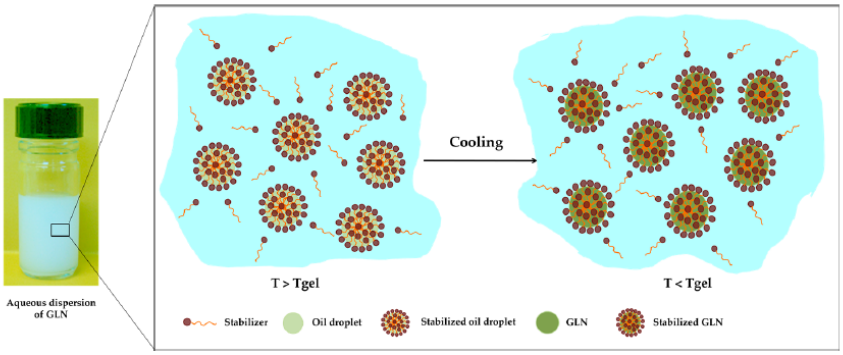


Figure 6. Schematic representation of GLN dispersion.

The mixture must be heated over the characteristic organogel Tgel, and then homogenized while still hot by ultrasound probe or using mechanical homogenization in the presence of emulsifying, thickening, or stabilizing agents. For example, polyethylenenimine (PEI) (Figure 7a) [17], acetylated glycol stearate (AGS) (Figure 7b), and polyvinyl alcohol (PVA) (Figure 7c) are used as stabilizing agents, and sodium hyaluronate (SH) as a thickening one (Figure 7d) [4]. Another common surfactant used as a stabilizing agent for these preparations is cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Figure 7e) [12]. Even though both homogenization methods have been reported, sonication with ultrasound probe has proven to produce a more stable aqueous dispersion obtained from vegetable oils and HSA as organogelator [4], as well as for organogel dispersions with poly(3-hexylthiophene) (P3HT) (Figure 7f) [18].

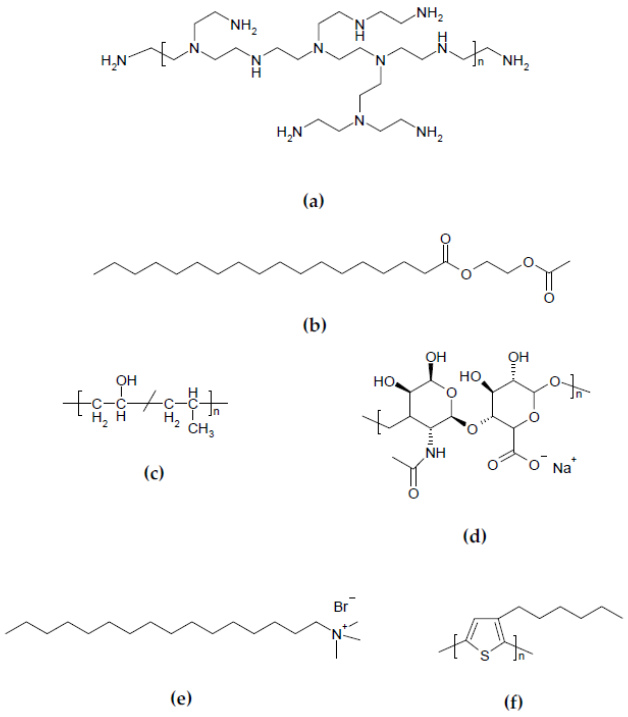


Figure 7. Chemical structure of common stabilizing agents used to prepare colloidal dispersions of GLN: (**a**) PEI; (**b**) AGS; (**c**) PVA; (**d**) SH; (**e**) CTAB; (**f**) P3HT.

3. GLN Physicochemical Characterization

The organogel dispersions of GLN possess characteristic physicochemical properties. The organogel components and preparation process influence the physicochemical properties of its dispersion, such as particle size and distribution, and ζ-potential, morphology, and physical stability [4]. As for the preparation of the organogel dispersions, it is of great importance to determine GLN phase transition parameters based on rheological measurements and to be compared to the "parent" organogel [12]. It is important to perform a proper characterization of GLN properties in order to assess their physical stability or aging and potential applicability.

3.1. Influence of Ingredient Amount and Nature on the Physical Stability of GLN Aqueous Dispersion

The physical stability of GLN dispersions is of great importance for various applications, and it is essential to control particle destructive/unstable processes and monitor their stability. Parameters such as type and concentration of surfactant and oil as well as viscosity of dispersed phase play an important role in the physical stability of the dispersion, and have an impact on particle size [12]. For example, a dispersion of vegetable oil with a greater viscosity (60 cP) presents a better stability compared to a dispersion of mineral oil (6 cP). The viscosity must be enough to maintain the emulsifying and stabilizing agent on the gelled particle surface, allowing the system to have an adequate physical stability [4]. This stability is also maintained in the GLN aqueous dispersion, due to the high electrostatic repulsion between the particles due to the stabilizing agent anchored in the particle's surface. [12].

While the concentration the organogelator has no influence on the particle size or on the physical stability, it has an effect on the viscosity of dispersions at high oil concentration. As described with other colloidal dispersions, particle size can be influenced by the formulation process parameters, such as shear speed during emulsification [12]. Dispersion can also be influenced by the pH, since the mean hydrodynamic diameter of a monodisperse population characterized by a high positive ζ-potential decreases with pH [2]. Some other parameters, such as the colloid size and surface area-to-volume ratio must be considered, and could have a strong influence for their potential uses.

3.2. Particle Mean Size, Distribution, and ζ-Potential

The light scattering method measures the time-dependent fluctuations of scattered light. Consequently, dynamic light scattering (DLS) provides information regarding the movement of the GLN in the colloidal dispersion, and uses Brownian motion to measure the mean hydrodynamic diameter and the size distribution of the particles. While smaller particles move faster, larger particles move slower, and the intensity of the fluctuations allows the particle size to be determined. Moreover, this method also permits the determination of the ζ-potential from the dynamic electrophoretic mobility. DSL studies show that by emulsifying bulk P3HT organogels into water-containing surfactant, two populations of particles are formed and there is an increase in size as a function of the P3HT concentration [18]. As for organogel dispersions obtain with HSA as gelator, the ζ-potential, polydispersity index (PDI), and particle size proved the influence of the concentration of the gelator on the stability of the dispersion [4]. Inclusive organogel dispersions made with dicarprylyl ether oil, HSA, and CTAB produced a stable colloidal system for longer than 45 days with GLN showing a mean diameter of around 260 nm, narrow PDI (0.01–0.1), and ζ-potential values varying between +25 and +50 mV [12].

3.3. Rheological Measurements

The rheological properties of organogel systems are of great importance with regards to preparing an aqueous dispersion of GLN and consequently to handling their properties and improve their potential applications. As described previously, gel–sol phase transition parameters of organogels are measured by following the variation of the elastic modulus (G′) and viscous modulus (G″) at

increasing temperatures. The gelation process occurs as indicated by an abrupt increase of both moduli, while Tmelt is the exactly the opposite. When dispersed, the organogel showed similar rheological results, allowing the particle gelled state to be confirmed by demonstrating the existence of the Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD [12].

Additionally, regarding the physicochemical properties of the organogels, colloidal dispersions of GLN possess some specific characteristics, giving them a broad spectrum of applications. In Figure 8a are reported the Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD or phase transition parameters of gelled particles obtained from a vegetable (soybean, castor) or emollient (dicaprylyl ether, capric/caprylic triglycerides) oil, HSA as organic gelator, and PVA as stabilizing agent [12]. As previously noted, they are determined by rheology, measuring the evolution of the elastic (G′) and viscous (G″) moduli versus temperature. Tmelt is defined as the temperature below which gelled particles start to melt, while Tsol is the temperature from which the particles are totally transformed into oil droplets. The melting process is progressive, and takes place over a temperature gap, known as gel–sol PTD. Typically, Tmelt transition temperature increases with the concentration of organogelator and the viscosity of the oil used (Figure 8b) [4].

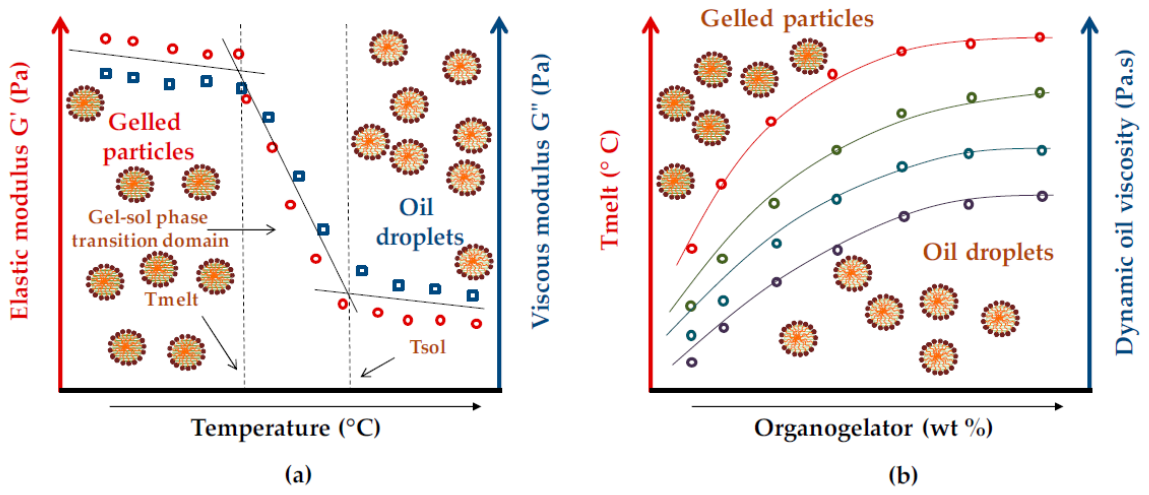


Figure 8. Gel–sol phase transition parameter evolution of GLN dispersion: (**a**) Tmelt, Tsol, and gel–sol PTD value determination according to the temperature increase; (**b**) Tmelt value evolution according the organogelator wt % and the dynamic oil viscosity increase.

Moreover, the Tmelt is easily influenced by the type organogelator and its concentration. POG gels have a lower Tmelt and higher gel strength compared to organogels obtained using LMOGs [5,6].

The formulation of the dispersed organogel had an impact on their rheological properties. An increase of viscosity was observed in the ratio gelator/solvents, as it was observed for lecithin/isopropyl myristate microemulsions [19]. In the case of HSA, the same phenomenon has been observed. Measuring the flow behavior of aqueous dispersions of GLN, there was an increase of the organogelator concentration from 0 wt % to 15 wt %, leading to an increase in shear viscosity from two to six orders of magnitude [20]. The characteristic rheological properties of organogel dispersions are strongly influenced by the interactions between the GLN. The gelled particle dispersions showed a non-Newtonian behavior when the shear rate increased, leading to a decrease of the system dynamic viscosity values [4]. In contrast, in the case of a polymer-based organogel dispersion, the same effect was observed when diluting the dispersion from 40 vol % to 20 vol %, but the system showed a constant viscosity when diluted at 10 vol % because the interactions between the particles became negligible [18].

3.4. GLN Morphology

To evaluate the morphology and structure of the aqueous GLN dispersions, transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) were used, respectively (Figure 9).

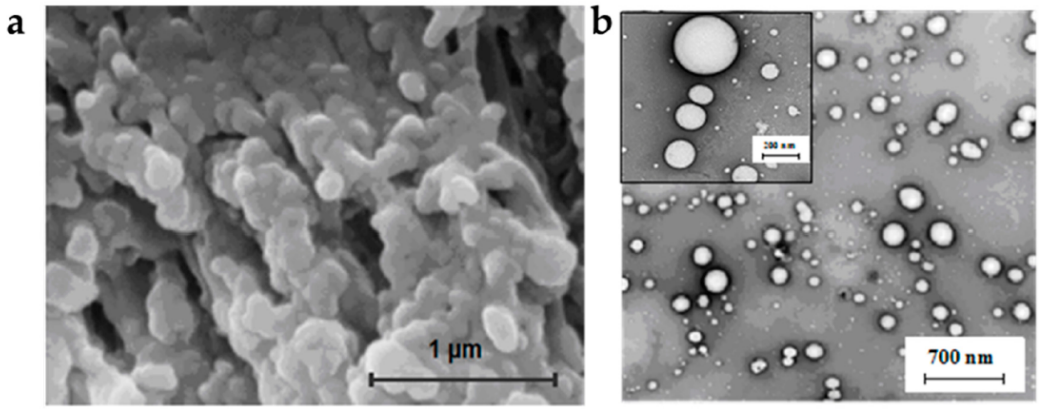


Figure 9. Electron microscopy pictures of GLN dispersion [4]: (**a**) SEM micrograph; (**b**) TEM micrograph. Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

These methods allow the data obtained from the DLS analysis to be completed. The DLS measurements provide insight into the size distribution of the gel particles within the dispersion, but they do not reveal information about their internal structure. In some applications, it is important that the particles retain porosity and a network structure original to the bulk organogel [18], while other GLN show spherical morphology without complementary information concerning their surface state [4]. These methods permit the accumulation of surfactant molecules at the surface of the gelled particles, confirming the ζ-potential values and indicating the stability of the dispersion [12].

4. GLN Potential Applications

Organogel dispersions of GLN are a suitable formulation for the preparation of new systems which could be used for cosmetic applications or as smart nanoparticles for drug delivery [4,12]. According to the data base, one of the first patent applications where the term organogel appeared was deposited organic solvent [21]. However, it was not until 1996 that the organogel dispersion concept appeared in European application patents. Notably, in the dermo-cosmetic field, companies like L'Oréal have patented dispersions of gel particles in a stabilized aqueous phase. [22].

Besides the cosmetic industry, organogel dispersions have been used as drug delivery systems and have proved their ability to enhance the permeation and improve drug release in dermal and transdermal formulations (Figure 9). It has been shown that organogel dispersions are effective in the improvement of sun protection factor (SPF) value, increasing the ability to absorb UV rays. This could be related to the optical properties of the particles and diffusing capacity provided by the organogelator. There is a synergistic improvement of two factors: the photo-protective ability and the photo-stability of the UVB filter [4]. Moreover, it has been used for topical treatments of early stages of skin cancers. In addition, these systems could be used for intravenous applications by adapting the formulation for this aim [3].

4.1. Hydrophobic Reservoirs for Sun Protection

Gelled sun protection nanoparticles (GSPN) in water could be employed as a nanocarrier for dermo-cosmetic applications or as hydrophobic reservoirs for photoprotection (Figure 10) [4–6,17,23].

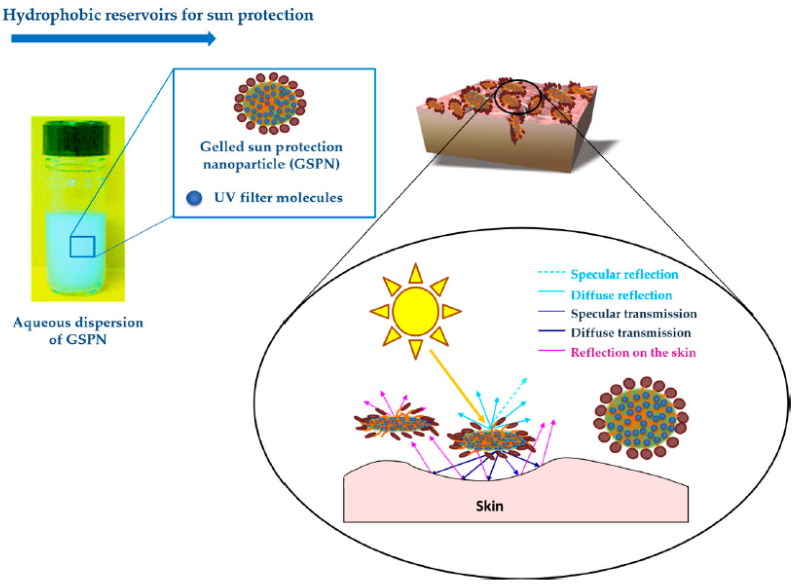


Figure 10. Representation of gelled sun protection nanoparticles (GSPN) and their photoprotection ability mechanism.

The preparation process and physicochemical properties of these GSPN aqueous dispersions have been described previously by Chaouat et al. [24]. Gelled particle dispersions of sunscreen organic mixture–1-(4-methoxyphenyl)-3-(4-*tert*-butylphenyl)propane-1,3-dione or avobenzone (UVA solar filter) (Figure 11a) dissolved in 2-ethylhexyl 2-cyano-3,3-diphenyl-2-propenoate or octocrylene (UVB solar filter, viscous liquid) (Figure 11b) and HSA as organic gelator were obtained by emulsification at high temperature and cooling at room temperature, using PVA as a stabilizing and dispersing agent. The results confirmed that the GSPN size was in agreement with the necessity of keeping the particles on the skin surface, avoiding their penetration through the *stratum corneum*. TEM observation of the dispersion showed spherical particles with a mean diameter of 600 nm—a size in accordance with the DLS measurements. The UV spectroscopy observations showed more important absorption of the gelled particles compared to that of corresponding emulsion droplets. A rheological investigation allowed the particle sol-gel phase transition parameters to be determined, confirming their gelled state. A comparative aging study of the emulsion and corresponding dispersion showed greatly enhanced physical stability after gelation. This last point was also proved by ζ-potential measurements.

According to Kirilov et al., aqueous dispersions of GSPN were also obtained with two organic liquids [4]. Vaseline and almond oils were used as organic media for the GSPN preparation. Gelled nanoparticles containing a model sunscreen molecule with mean size of 450 nm, ζ-potential value above -30 mV, and PDI of 0.18 were obtained by the ultrasound probe homogenization method. A comparative study of their dispersion aging showed a greatly enhanced GSPN stability after gelation. According to the UVB absorption evaluation, GSPN improved the photoprotective ability and the photostability of the immobilized UVB blocker as 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate or EHMAB (Figure 11c). In addition, GSPN showed a high water resistance (~83%), even after 40 min of immersion.

Actually, studies concerning the immobilization of benzophenone-3 or BP-3—a commonly used UVA and UVB absorbed molecule—as GSPN are being carried out (Figure 11d).

The obtained results demonstrate the interest in GSPN and their aqueous dispersion as a concept for the preparation of original sun protection formulations with improved diffusion properties and waterproof ability.

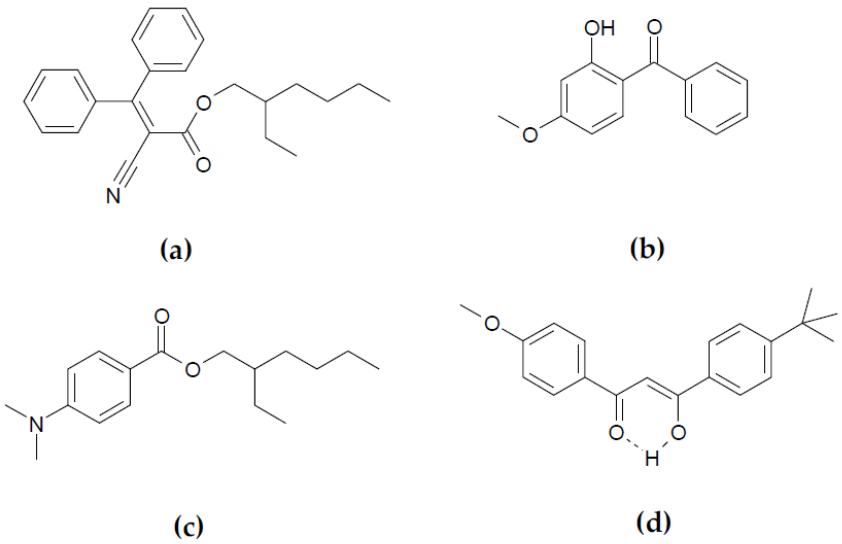


Figure 11. Chemical structure of immobilized chemical UV filter as GSPN: (**a**) octocrylene; (**b**) benzophenone-3 (BP-3); (**c**) 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate (EHMAB); (**d**) avobenzone.

4.2. Hydrophobic Reservoirs for Drug Delivery

Other studies demonstrated the interest of colloidal dispersions of GLN for the encapsulation and delivery of lipophilic active compounds (Figure 12).

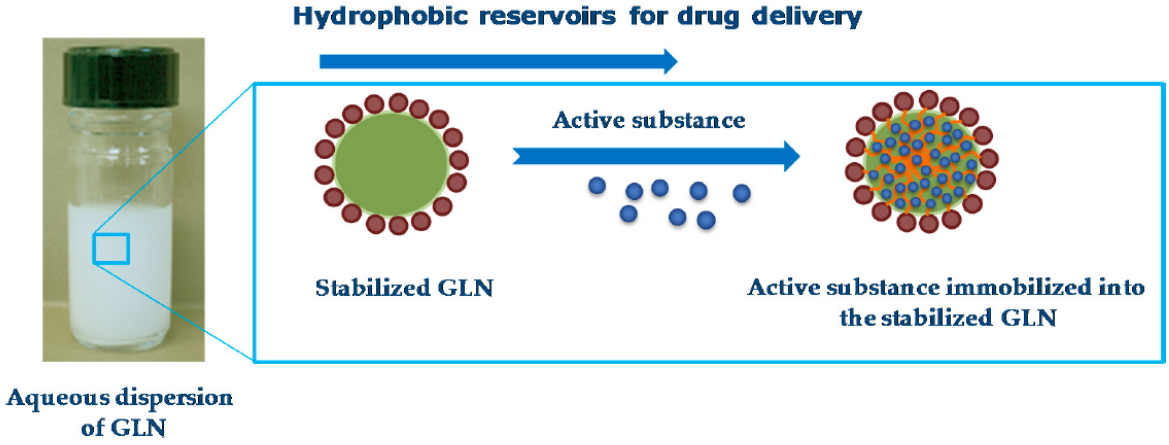


Figure 12. Representation of the drug delivery ability of GLN.

Sigueira-Mourra et al. prepared stable dispersions of soybean oil GLN with excellent chloroaluminum phthalocyanine (ClAlPc) encapsulation efficiency. The obtained ClAlPc-loaded GLN formulation could be a very useful system for photodynamic therapy (PDT) procedures (Figure 13).

Authors have efficiently encapsulated ClAlPc (Figure 14a)—a second-generation photosensitizer agent usually used in PDT—into soybean oil GLN dispersed in aqueous medium. Nanoparticles were jellified and stabilized by HSA and PEI, respectively. They were obtained by hot homogenization using ultrasound probe and then cooling at room temperature until obtaining a stable GLN dispersion. Nanoparticles showed mean diameter of 280 nm, narrow size distribution (PDI ~0.3), positive ζ potential value (~+50 mV), and spherical morphology (Table 2). Dispersions exhibited pronounced physical stability after a 6-month aging period. The PEI and HSA proportions allowed the GLN size, charge, and stability to be controlled, resulting from the complex electrostatic interactions between the

positively-charged PEI and the negatively-charged HSA fibers present on the gelled particles' surface on the one hand and stearic repulsions between positively-charged GLN on the other hand.

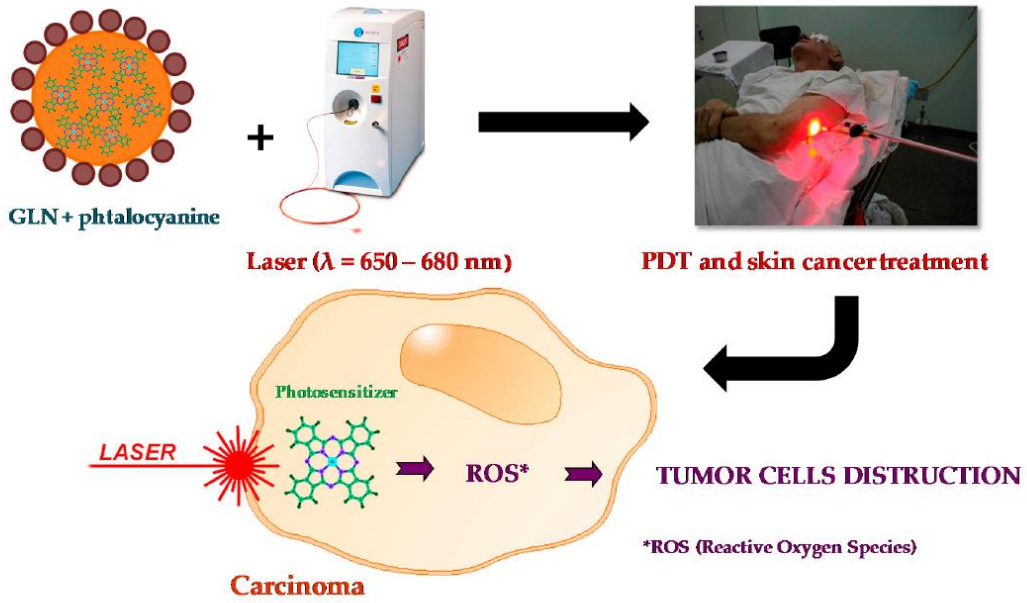


Figure 13. Representation of the medical treatment of skin cancers using photodynamic therapy (PDT).

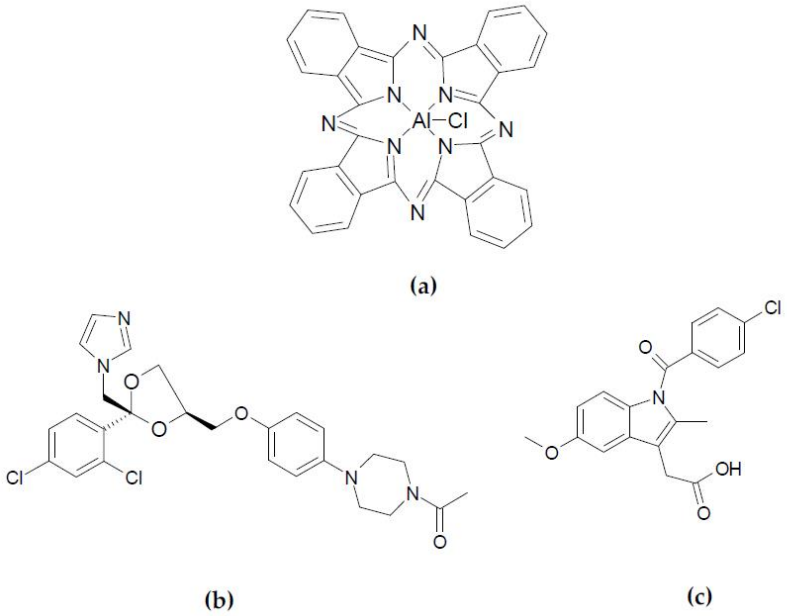


Figure 14. Chemical structure of immobilized active substances: (**a**) chloroaluminum phthalocyanine (ClAlPc); (**b**) ketoconazole; (**c**) indomethacin.

Table 2. Some experimental results from physicochemical characterization GLN containing active substances (n = 3), pH = 7. PDI: polydispersity index.

Active Substance	Mean Size (nm)	PDI	ζ-Potential (mV)	Encapsulation Efficiency (%)
ClAlPc	280 (±10)	0.3 (±0.04)	+50 (±1.6)	~100
indomethacin	244 (±13)	0.26 (±0.05)	−30 (±5.6)	91.9 (±0.2)
ketoconazole	266 (±16)	0.25 (±0.03)	−25.9 (±4.7)	97.4 (±0.1)

Martin et al. studied the release profile and efficiency of GLN obtained by the same preparation process as Siqueira-Mourra et al. [24]. In the first step, they used DLS and differential scanning calorimetry (DSC) to select the most suitable formulations by optimizing the proportion of ingredients (HSA, PVA, castor oil) to obtain particles of the smallest size and greatest stability. Two lipophilic drug models—indomethacin (Figure 14b) and ketoconazole (Figure 14c)—were entrapped in the GLS made of castor oil and gelled by HSA.

Thermal studies confirmed that there was no significant alteration of gelation phenomenon in presence of the entrapped drugs. Very stable dispersions were obtained (>3 months), with GLN presenting a mean diameter between 240 and 300 nm. High encapsulation efficiency (>98%) was measured for indomethacin and ketoconazole (Table 2). The release profile determined by in vitro dialysis showed an immediate release of the drug from the organogel nanoparticles, due to rapid diffusion.

All these studies demonstrate the interest in the colloidal dispersions of GLN for dermo-cosmetic applications as sun protection systems and for drug delivery for lipophilic active substances.

5. Conclusions

Since lipophilic drug formulation remains the major challenge in the pharmaceutical field, recent preparations of colloidal dispersions of GLN present very interesting advantages as drug delivery formulations as well as in the cosmetic industry. These dispersions have promising stability properties, are easily formulated, and can be produced with natural organogelators or simple synthetic polymers, giving them a great range of possible industrial applications. The basic knowledge of these colloidal GLN dispersions, their properties, and characterization methods will allow the optimization of the formulation with regards to obtaining more stable dispersions according to their intended applications. Furthermore, they are still a broad area of possibilities in the synthesis of new organogelators, formulations of better and more stable dispersions, and drug immobilization. The interest for these materials will continue to grow in the future years.

Acknowledgments: We gratefully thank the region Rhone-Alpes and European Region Action Scheme for the Mobility of University Students (ERASMUS) program for the financial support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Gao, L.; Liu, G.; Ma, J.; Wang, X.; Zhou, L.; Li, X.; Wang, F. Applications of drug nanocrystal technologies on oral drug delivery of poorly soluble drugs. *Pharm. Res.* **2013**, *30*, 307–324. [CrossRef] [PubMed]
2. Boudier, A.; Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Belkhelfa, H.; Hadioui, L.; Roques, C.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. Evaluation of biocompatible stabilized gelled soya bean oil nanoparticles as new hydrophobic reservoirs. *J. Microencapsul.* **2010**, *27*, 682–692. [CrossRef] [PubMed]
3. Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Rico-Lattes, I.; Perez, I.; Bordat, P. Novel organogel particles, method for the preparation thereof and cosmetic uses thereof. Patent WO2008037679 (A1), 3 April 2008.
4. Kirilov, P.; Rum, S.; Gilbert, E.; Roussel, L.; Salmon, D.; Abdayem, R.; Serre, C.; Villa, C.; Haftek, M.; Falson, F.; et al. Aqueous dispersions of organogel nanoparticles-potential systems for cosmetic and dermo-cosmetic applications. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2014**, *36*, 336–346. [CrossRef] [PubMed]
5. Kirilov, P.; Le Cong, A.K.; Denis, A.; Rabehi, H.; Rum, S.; Villa, C.; Haftek, M.; Pirot, F. Organogels for cosmetic and dermo-cosmetic applications. Classification, preparation and characterization of organogel formulations Part I & II. *H&PC Today* **2015**, *10*, 15–21.
6. Kirilov, P. Solar Energy: New Long Chain Polypyridinic Ruthenium Complexes; Solar Protection: Preparation of Gelosomes for Cosmetic Applications. Ph.D. Thesis, University Paul Sabatier Toulouse III, Toulouse, France, 17 January 2007.
7. George, M.; Weiss, R.G. Low molecular mass-organic gelator. In *Molecular Gels. Materials with Self-Assembled Fibrillar Networks*, 1st ed.; Weiss, R.G., Terech, P., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2006; Volume 14, pp. 449–477, ISBN 13-978-1-4020-3352-0-(HB).

8. Suzuki, M.; Hanabusa, K. Polymer organogelators that make supramolecular organogels through physical cross-linking and self-assembly. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 455–463. [CrossRef] [PubMed]
9. Bag, B.G.; Majumdar, R.; Dinda, S.K.; Dey, P.P.; Maity, G.C.; Mallia, V.A.; Weiss, R.G. Self-assembly of ketals of arjunolic acid into vesicles and fibers yielding gel-like dispersions. *Langmuir* **2013**, *29*, 1766–1778. [CrossRef] [PubMed]
10. Rogers, M.A.; Abraham, S.; Bodondics, F.; Weiss, R.G. Influence of the hydroxyl position in racemic hydroxyoctadecanoic acids on the crystallization kinetics and activation energies of gels and dispersions in mineral oil. *Cryst. Growth Des.* **2005**, *12*, 5497–5504. [CrossRef]
11. Desvergne, J.P. Organic gelators and hydrogelators. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 846–847. [CrossRef] [PubMed]
12. Kirilov, P.; Lukyanova, L.; Franceschi-Messant, S.; Perier, V.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. A new type of colloidal dispersions based on nanoparticles of gelled oil. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *328*, 1–7. [CrossRef]
13. Vintiloiu, A.; Leroux, J.-C. Organogels and their use in drug delivery—A review. *J. Control. Release* **2008**, *125*, 179–192. [CrossRef] [PubMed]
14. Das, D.; Roy, S.; Debnath, S.; Das, P.K. Surfactant-stabilized small hydrogel particles in oil: Hosts for remarkable activation of enzymes in organic solvents. *Chemistry* **2010**, *16*, 4911–4922. [CrossRef] [PubMed]
15. Hanabusa, K.; Suzuki, M. Development of low-molecular-weight gelators and polymer-based gelators. *Polym. J.* **2014**, *46*, 776–782. [CrossRef]
16. Elnaggar, Y.S.R.; El-Refaie, W.M.; El-Massik, M.A.; Abdallah, O.Y. Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: An update on state of art and recent applications. *J. Control. Release* **2014**, *180*, 10–24. [CrossRef] [PubMed]
17. Siqueira-Moura, M.P.; Franceschi-Messant, S.; Blanzat, M.; Ré, M.I.; Perez, E.; Rico-Lattes, I.; Lattes, A.; Tedesco, A.C. Gelled oil particles: A new approach to encapsulate a hydrophobic metallophthalocyanine. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *401*, 155–160. [CrossRef] [PubMed]
18. Richards, J.J.; Weigandt, K.M.; Pozzo, D.C. Aqueous dispersions of colloidal poly(3-hexylthiophene) gel particles with high internal porosity. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *364*, 341–350. [CrossRef] [PubMed]
19. Hadidi, N.; Nazari, N.; Aboofazeli, R. Formulation and optimization of microemulsion-based organogels containing propranolol hydrochloride using experimental design methods. *DARU J. Pharm. Sci.* **2009**, *17*, 217–224.
20. Kirilov, P.; Gauffre, F.; Franceschi-Messant, S.; Perez, E.; Rico-Lattes, I. Rheological characterization of a new type of colloidal dispersion based on nanoparticles of gelled oil. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 11101–11108. [CrossRef] [PubMed]
21. Winyall, M.E. Process for Preparing Grade of Silica and Process of Using Name. Patent US4216113 (A), 5 August 1980.
22. Ribier, A.; Biatry, B. Cosmetic or Dermatologic Oil/Water Dispersion Stabilized with Cubic Gel Particles and Method of Preparation. Patent EP0711540 (A1), 3 October 2000.
23. Martin, B.; Brouillet, F.; Franceschi, S.; Perez, E. Evaluation of organogel nanoparticles as drug delivery systems for lipophilic compounds. *AAPS PharmSciTech* **2017**, *18*, 1261–1269. [CrossRef] [PubMed]
24. Chaouat, C.; Kirilov, P.; Franceschi-Messant, S.; Perez, E.; Giraud, I.; Rico-Lattes, I. Nanoparticles of gelled suncreen oil: Elaboration and physicochemical characterization. In Proceedings of the 42nd Journadas Anuales del Comite Espanol de la Detergencia, Barcelona, Spain, 28–29 March 2012; Volume 42, pp. 84–96.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *UELC complémentaire de M1*

N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC complémentaire de M1*

DFGSP2
Année 2023/2024

Semestre printemps
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Trois questions
- Grille pour le résumé de 250 mots

Note

Calculatrice : non autorisée
Documents : non autorisés
Dictionnaire français/anglais « papier » : autorisé
Surligneurs : autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

UE complémentaire de M1
Responsable : Christelle MOUCHOUX

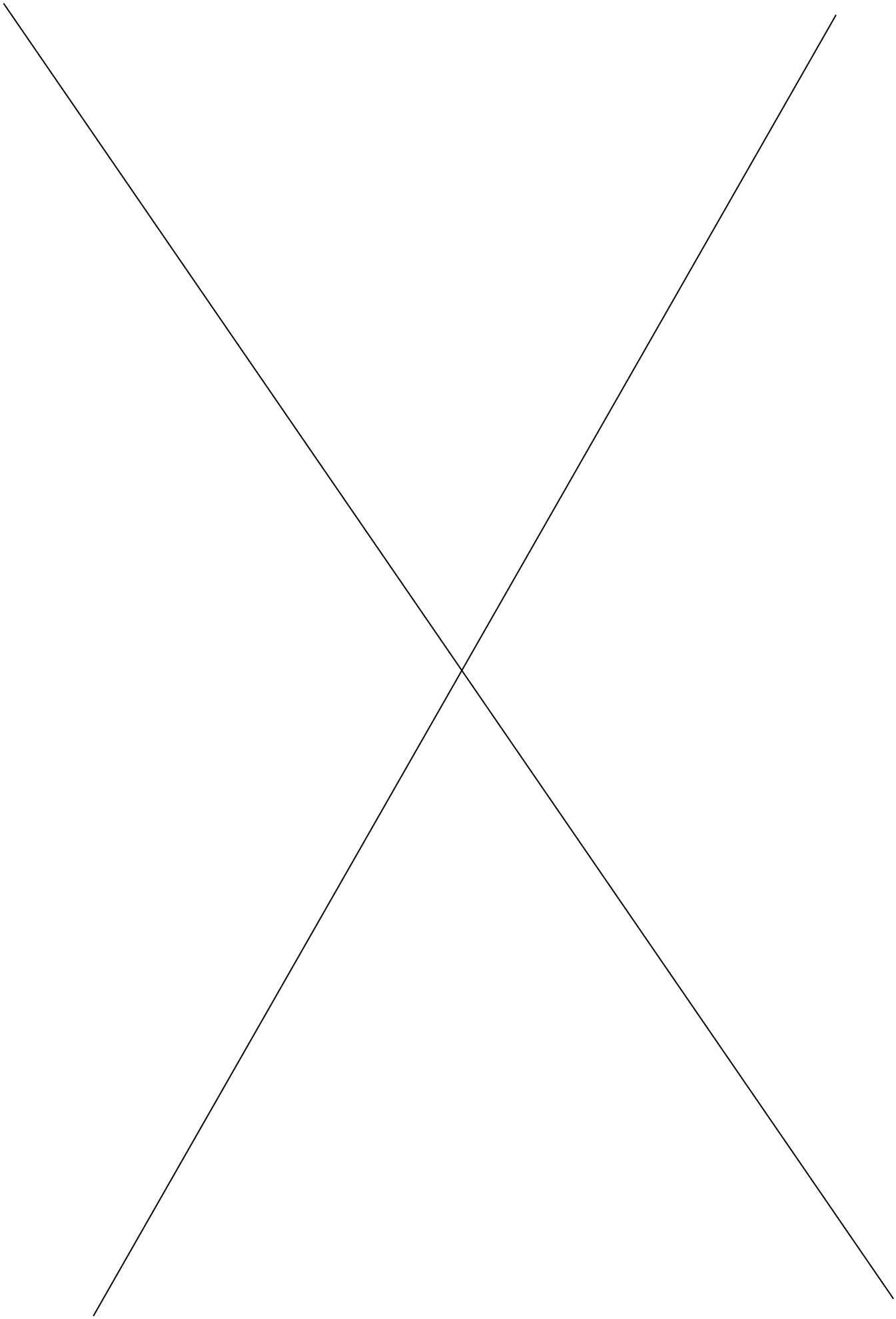
Un article en anglais vous a été envoyé.

Question 1
Proposer un titre en français pour cet article

Question 2
Proposer 3 à 5 mots clefs en français pour cet article

Question 3
Proposer un résumé en français pour cet article (250 mots).
Le résumé doit être écrit dans la grille en page 3 (un mot par case).
Remarque : la grille contient plus de 250 cases.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Facteurs environnementaux et pathologies*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *Facteurs environnementaux et pathologies humaines*

DFGSP2 et DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session 2

FASCICULE n° 1 (de 1 à 2)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- Description du contenu du fascicule 5 QROC

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait X *pages numérotées de 1 à 4*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 2

UE Facteurs environnementaux et pathologies humaines
Mme Cohen et M. Blaha

Sujet de Mme Cohen

Quelle technologie utiliseriez-vous pour explorer la capacité d'un perturbateur endocrinien à activer le récepteur aux estrogènes alpha ?

Décrire le principe de la technologie et le plan expérimental que vous envisageriez. (5 points)

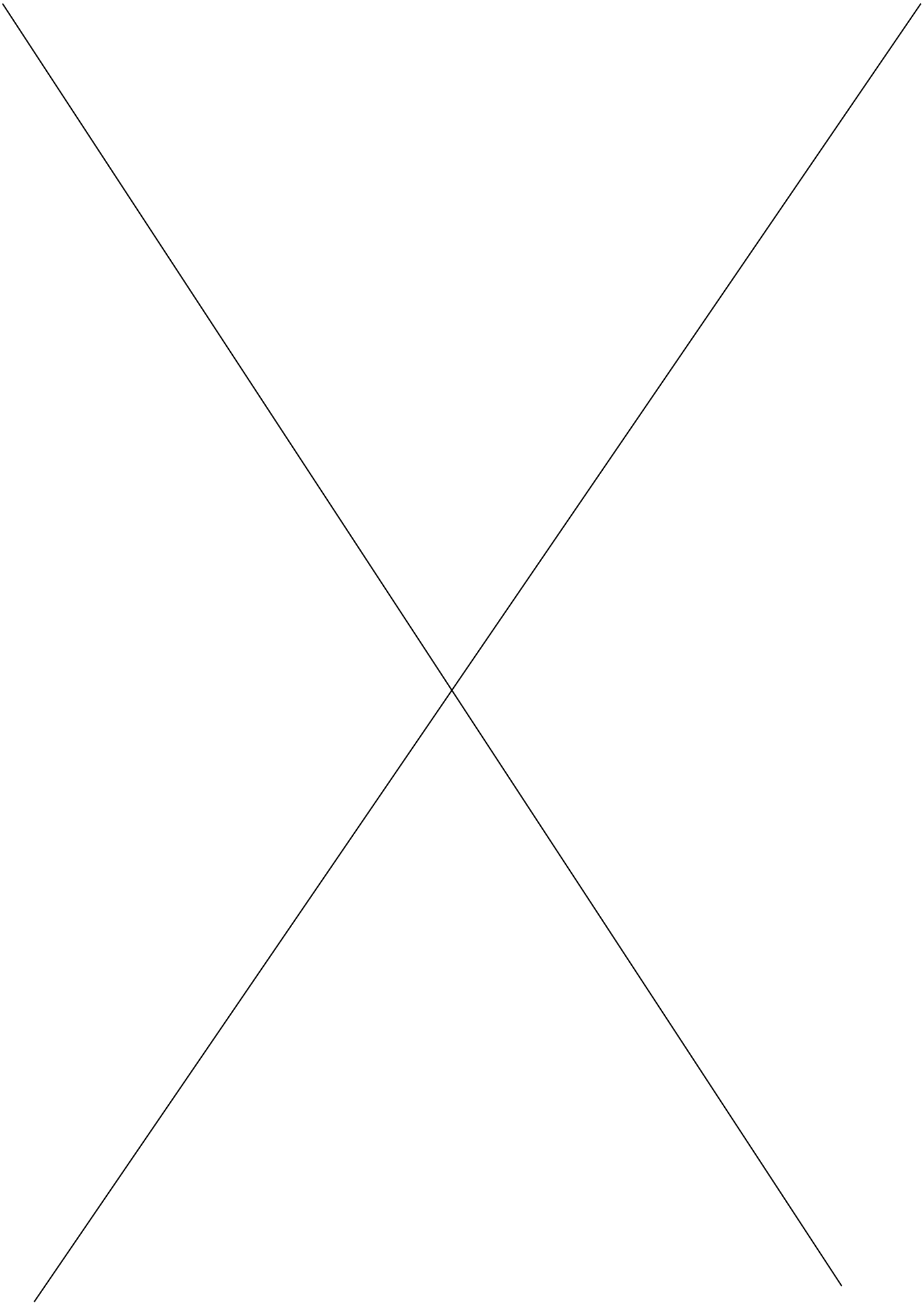
Répondre succinctement

1. **Indiquer les 4 propriétés d'un polluant organique persistant (1 point)**

2. A quoi correspond l'acronyme REACH ? Quels sont les objectifs de ce règlement ? (1 point)

3. **Quelles sont les sources d'exposition aux nitrates pour l'homme ? (1 point)**

4. Quels sont les impacts de la pollution atmosphérique sur la santé humaine ? (2 points)



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Facteurs environnementaux et pathologies*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *Facteurs environnementaux et pathologies humaines*

DFGSP2 et DFGSP3
Année 2023/ 2024

Semestre automne
Session 2

FASCICULE n° 2 (de 1 à 2)

DUREE DE L'EPREUVE : 1h, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- Description du contenu du fascicule 8 QROC

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait X *pages numérotées de 1 à 5*

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 2 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 2

UE Facteurs environnementaux et pathologies humaines
Mme Cohen et M. Blaha

Sujet de Mme Rodriguez Nava

Indiquez les méthodes qui permettent d'évaluer la biodiversité bactérienne des sols (1,5 points).

Citez les principaux composants du sol (1 point).

Qu'est-ce qu'un antibiotique et quelles sont les conséquences de leur utilisation pour l'environnement terrestre? (1,5 point)

Qu'est-ce que les HAP ? (0,5points)

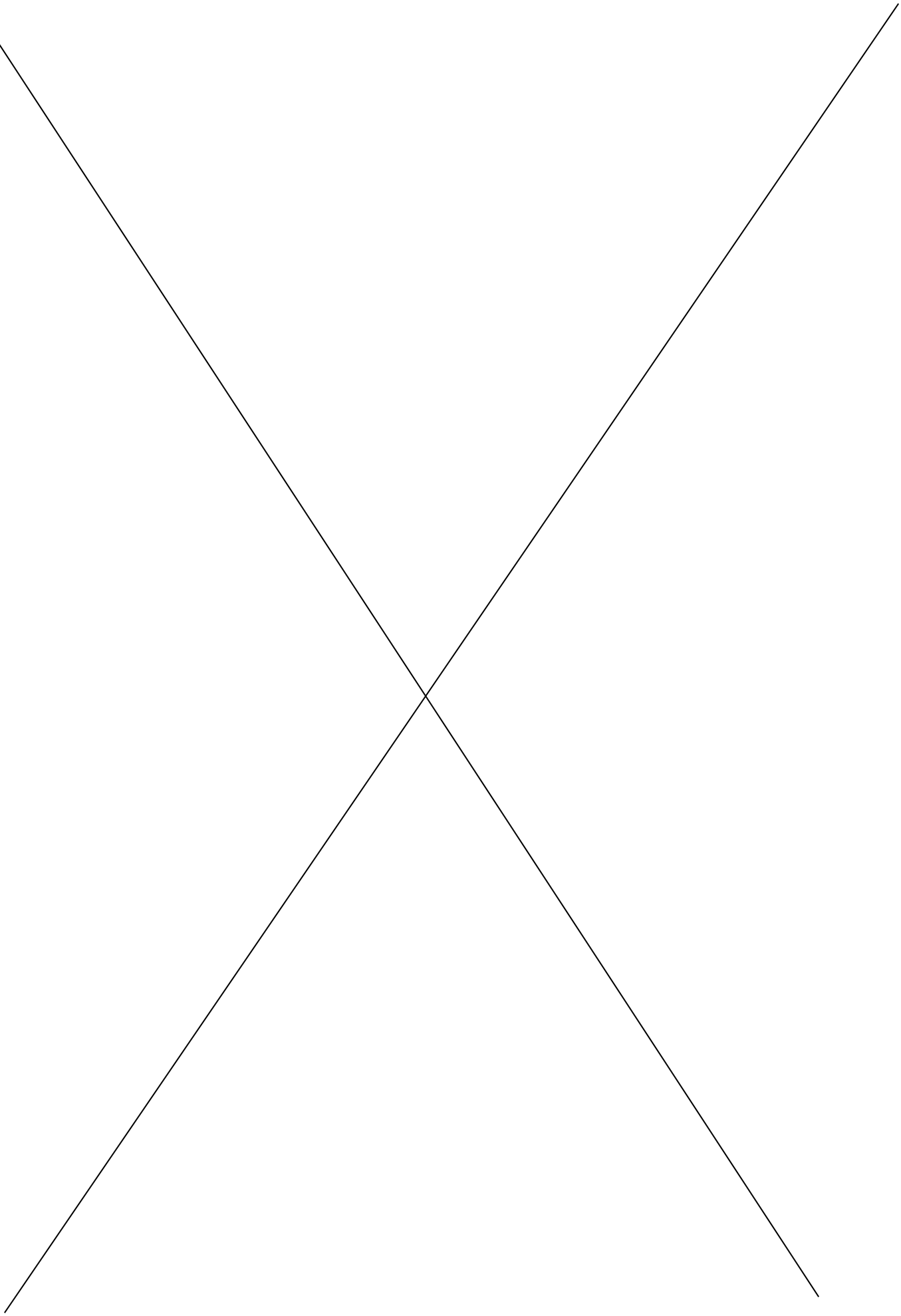
Donnez le nom d'un microorganisme bactérien capable de dégrader les HPA (0,5 points).

Sujet de M. Blaha

Question n°1 : Définissez ce qu'est une bactérie pathogène opportuniste et une bactérie pathogène vrai (2 points)

Question n°2 : Entre ces deux types de bactéries lequel est celui qui est plus craint par les chercheurs en termes de risque de diffusion de gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques dans l'environnement. Pourquoi ? (2 points)

Question n°3 : Quel champignon filamenteux donne le plus d'infections pulmonaire graves en France ? (1 point)



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 1 »

Année 2023 / 2024

Semestre automne
2ème Session

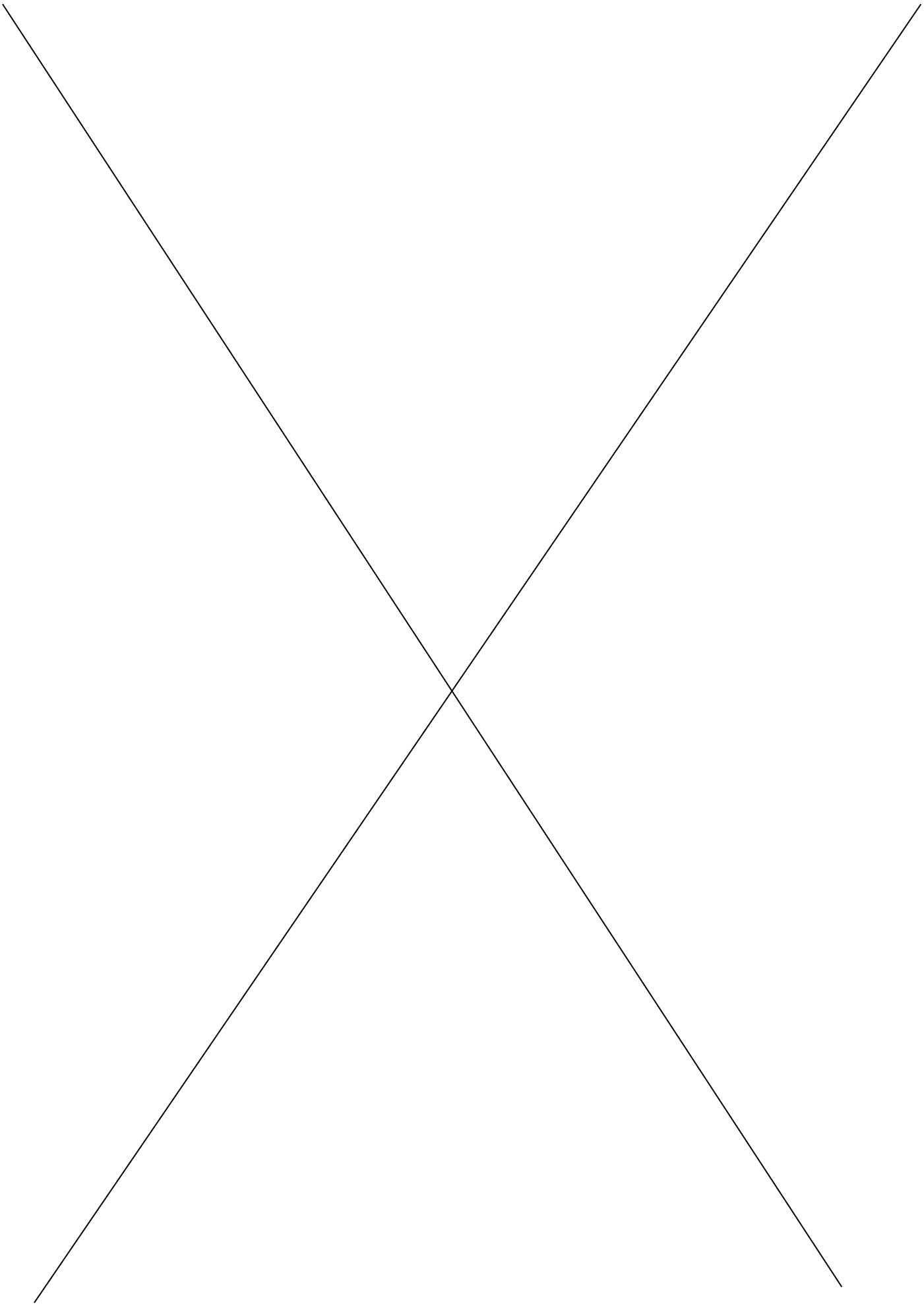
DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

- sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que cette copie comportait 16 pages et que le sujet comportait 2 pages

UELC « ingénieur 1 », Analyse
M-A Dronne



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC ingénieur 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC ingénieur 1*

Année 2023/ 2024

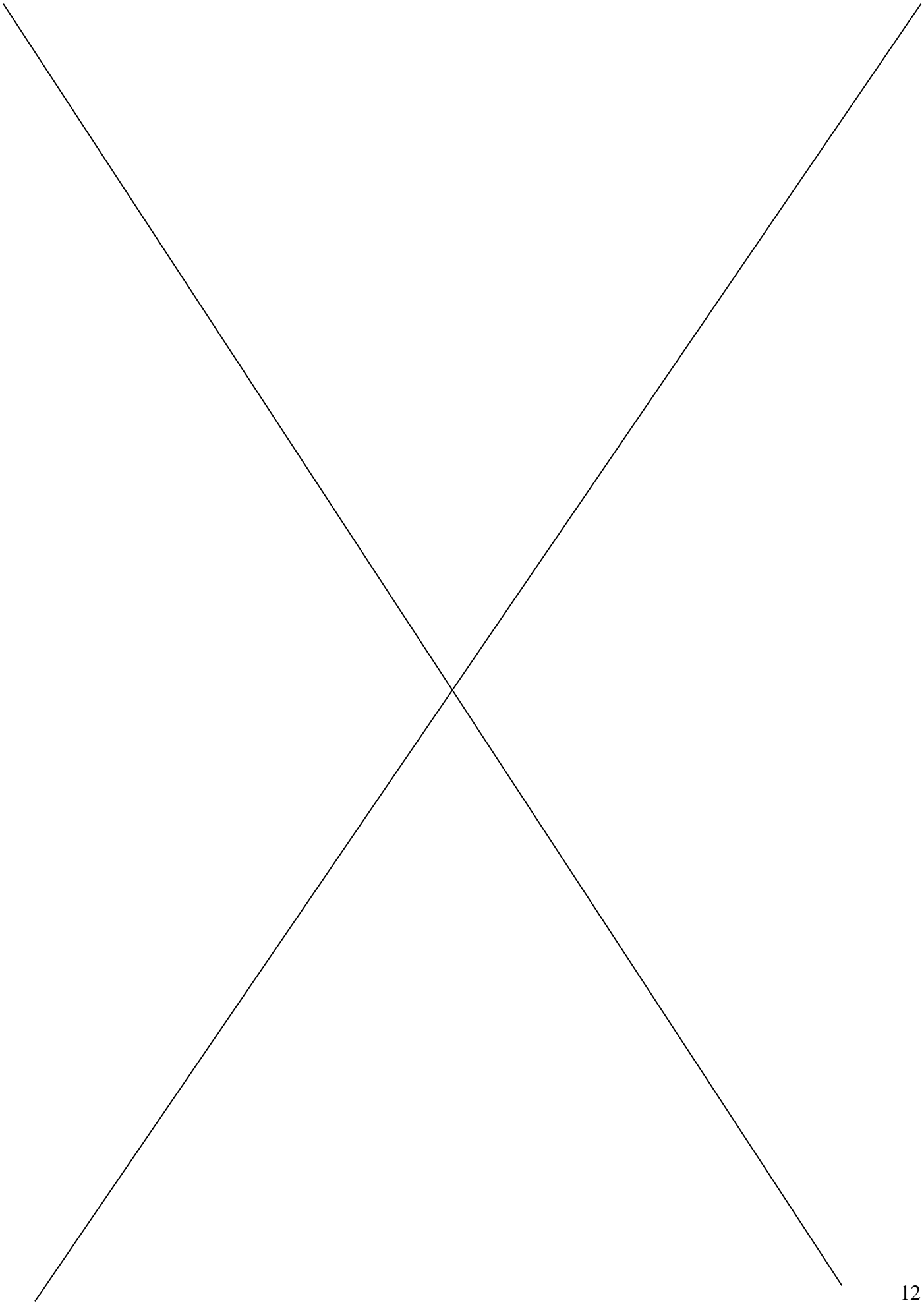
2ème session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Calculatrice : Aucune calculatrice et aucun document autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 12 pages numérotées de 1 à 12

Thermodynamique
Cyril Pailler-Mattei



$2^{\text{ème}}$ année de Pharmacie, UELC Ingénieur 2
Electromagnétisme/Mécanique
Session 2

C. Pailler-Mattei

Juin 2024

Durée de l'examen : 2h
Le sujet comporte 3 exercices
Aucun document autorisé et aucune calculatrice autorisée
La qualité de la rédaction sera prise en compte dans la notation

Exercice 1 : Champ électrique créé par un conducteur cylindrique

Soit un conducteur cylindrique de rayon R et de longueur l. Le conducteur a une densité volumique de charge positive, constante et uniforme, notée ρ. On appelle r la distance entre le centre du conducteur et un point M quelconque de l'espace.

1- En utilisant le théorème de Gauss, déterminer le module du champ électrique $\| \overrightarrow{E}(r) \|$ pour les deux cas suivants :

— pour $r \leqslant R$
— pour $r \geqslant R$

2- En utilisant les équations locales, déterminer à nouveau le module du champ électrique $\| \overrightarrow{E}(r) \|$ pour les deux cas suivants :

— pour $r \leqslant R$
— pour $r \geqslant R$

On précise que la divergence de $\overrightarrow{E}$ en coordonnées cylindrique s'écrit :

$$div\,\overrightarrow{E} = \frac{1}{r}\frac{\partial(rE_r)}{\partial r} + \frac{1}{r}\frac{\partial(E_\theta)}{\partial \theta} + \frac{\partial(E_z)}{\partial z}$$

avec E_r, E_θ et E_z les composantes du vecteur $\overrightarrow{E}$ dans la base cylindrique $(\overrightarrow{e_r}, \overrightarrow{e_\theta}, \overrightarrow{e_z})$.

Exercice 2 : Champ magnétique créé par un cylindre creux

Soit un conducteur cylindrique creux, de longueur infinie, de section circulaire, de rayon interne R_1 et de rayon externe R_2. Ce conducteur est parcouru par un courant

continu d'intensité I parallèle à l'axe (Oz).

Calculer, en utilisant le théorème d'Ampère, la norme du champ magnétique $\| \overrightarrow{B}(r) \|$ créée par le conducteur en fonction de r :

— $r \leqslant R_1$

— $R_1 \leqslant r \leqslant R_2$

— $r \geqslant R_2$

Exercice 2 : Balancier d'une horloge

On s'intéresse au balancier d'une « horloge à poids ». Le balancier est composé d'une tige de longueur l, de masse négligeable, fixée en O et portant à son autre extrémité un disque modélisé par un point matériel M de masse m (Fig.1). Le réferentiel d'étude $\mathbf{R}_0\,(O,\ \overrightarrow{e_x}, \overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z})$ est supposé galiléen.
Les coordonnées du point M seront repérées par rapport au repère cylindrique $\mathbf{R}_1\,(O,\ \overrightarrow{e_r}, \overrightarrow{e_\theta}, \overrightarrow{e_z})$. On note θ l'angle entre $\overrightarrow{e_x}$ et $\overrightarrow{e_r}$.

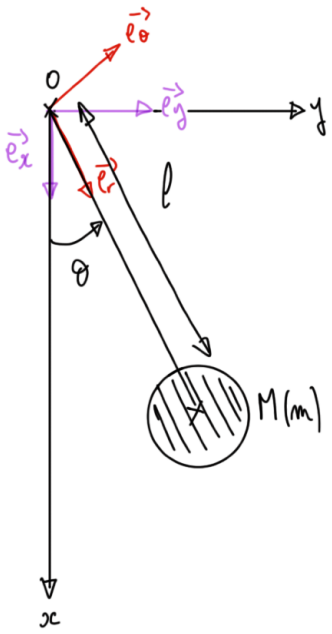


FIGURE 1 – *Schéma d'une horloge à balancier.*

1- Dresser le bilan des forces agissant sur M.

2- Déterminer en O le moment de chacune des forces appliquées sur M.

3- Ecrire le moment cinétique en O du point M dans le réferentiel $\mathbf{R}_0$.

4- A partir du théorème du moment cinétique en O, par rapport à $\mathbf{R}_0$, déterminer l'équation différentielle du mouvement.

On suppose à présent que le mouvement du balancier est de faible amplitude.

5- En posant $\omega^2 = \dfrac{g}{l}$ la pulsation du balancier (avec g la norme de l'accélartion de la pesanteur) que devient l'équation différentielle précedente ?

6- En deduire les expressions de la période T et de la fréquence f du balancier.

7- Le balancier possède un réglage qui permet d'ajuster la longueur l afin que l'horloge donne l'heure exacte. Faut-il augmenter ou diminuer l , si :

— l'horloge avance ?

— l'horloge retarde ?

Vous justifirez votre réponse.

$2^{\text{ème}}$ année de Pharmacie, UELC Ingénieur 1
Thermodynamique
Session 2

L. Heinrich-Balard & C. Pailler-Mattei

Juin 2024

Durée de l'examen : 2h
Le sujet comporte 3 exercices
Aucun document autorisé, toutes calculatrices autorisées
La qualité de la rédaction sera prise en compte dans la notation

Exercice 1 : Dilatation isobare

Soit un gaz quelconque dont les variables pression p, volume ϑ et température T vérifient, pour **une mole**, l'équation suivante :

$$p\,(\vartheta - b) = RT \tag{1}$$

avec b et R des constantes.

Une mole de ce gaz subit une dilatation isobare, en passant de l'état 1, caractérisé par sa pression $p_1 = 1,61 \times 10^6$ Pa, sa température $T_1 = 110$ K, son volume $\vartheta_1 =$ 0,60 L, à l'état 2 caractérisé par sa pression p_2, sa température T_2 et son volume $\vartheta_2 = 2\vartheta_1$.

On rappelle que le coefficient de dilatation isobare α est tel que : $\alpha = \dfrac{1}{\vartheta}\left(\dfrac{\partial \vartheta}{\partial T}\right)_p$.

On donne R=8,3 J.mol^{-1}.K^{-1}.

1- L'équation (1) est-elle une équation d'état ? **Vous justifierez votre réponse**.

2- Quelles sont les valeurs de p_2 et T_2 ? Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

3- Donnez l'expression du coefficient de dilatation isobare, α, en fonction de R, T, b et p.

4- Calculez α lorsque le gaz est dans l'état final 2. Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

5- Que vaudrait α pour un gaz parfait dans le même état final 2 ? Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

Exercice 2 : Transformation cyclique d'un gaz parfait

Soit n moles d'un gaz parfait monoatomique de coefficient adiabatique $\gamma = 5/3$, subissant, lors d'un cycle, les transformations réversibles suivantes : chauffage isochore entre A et B, puis détente isobare entre B et C, refroidissement isochore entre C et D et compression isotherme entre D et A.
On donne : n= 2 moles, ϑ_A=2 L, $p_A = 8 \times 10^5$ Pa, T_B = 150 K, T_C = 275 K, où p_i représente la pression à l'état i, ϑ_i le volume à l'état i et T_i la température à l'état i.
On notera R la constante des gaz parfaits, telle que R=8,3 J.mol^{-1}.K^{-1}.

1- Représentez ce cycle dans un diagramme de Clapeyron (**justifiez votre réponse**)
2- Que valent T_A, ϑ_B, p_B, p_C, ϑ_C, T_D, ϑ_D, p_D ?
3- Que vaut la variation d'énergie interne ΔU au cours de ce cycle ?
4- Calculez le travail échangé sur chacune des branches de ce cycle.
5- En déduire le travail total échangé lors du cycle. Ce cycle est-il moteur ou récepteur ?
6- Quel est le transfert thermique (quantité de chaleur) échangé lors de ce cycle ?
7- Quelle est la variation d'énergie interne ΔU_{AC} lorsque le système passe de l'état A à l'état C ?
8- Quel est le transfert thermique (quantité de chaleur) échangé lors de la transformation BC ?

Exercice 3 : Efficacité du cycle de Beau de Rochas

Le moteur à explosion a été inventé au XIX^e siécle par Beau de Rochas. Le moteur à explosion est un moteur à combustion interne dont l'allumage est commandé et réalisé grâce à des bougies (éclateurs produisant des étincelles). Schématiquement, on fait subir à une mole de mélange (air + carburant), supposée se comporter comme un gaz parfait, un cycle constitué de deux adiabatiques et de deux isochores. Ce cycle est appellé cycle Beau de Rochas.
Le cycle Beau de Rochas est représenté sur le diagramme de Clapeyron ci-après.

- AB et CD adiabatiques réversibles
- BC et DA isochores

On notera T_A, T_B, T_C et T_D les températures du système thermodynamique (air + carburant) respectivement en A, B, C et D.
1- Donner les expressions des transferts thermique Q_{BC} et Q_{DA} le long des transformations BC et DA en fonction de T_A, T_B, T_C, T_D et C_ϑ la capacité thermique à volume constant.
2- Donner l'expression de l'efficacité η de ce cycle moteur en fonction de T_A, T_B, T_C et T_D.

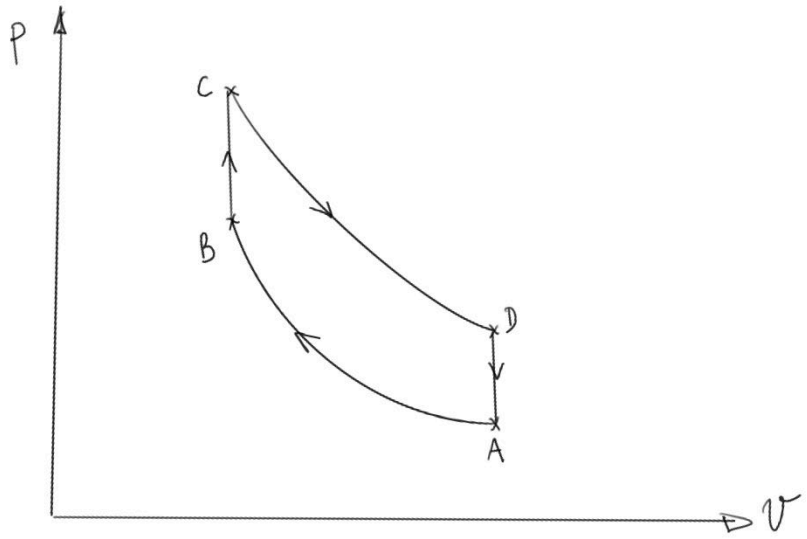


FIGURE 1 – *Diagramme de Clapeyron du cycle Beau de Rochas.*

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC ingénieur 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC ingénieur 2*

Année 2023/ 2024

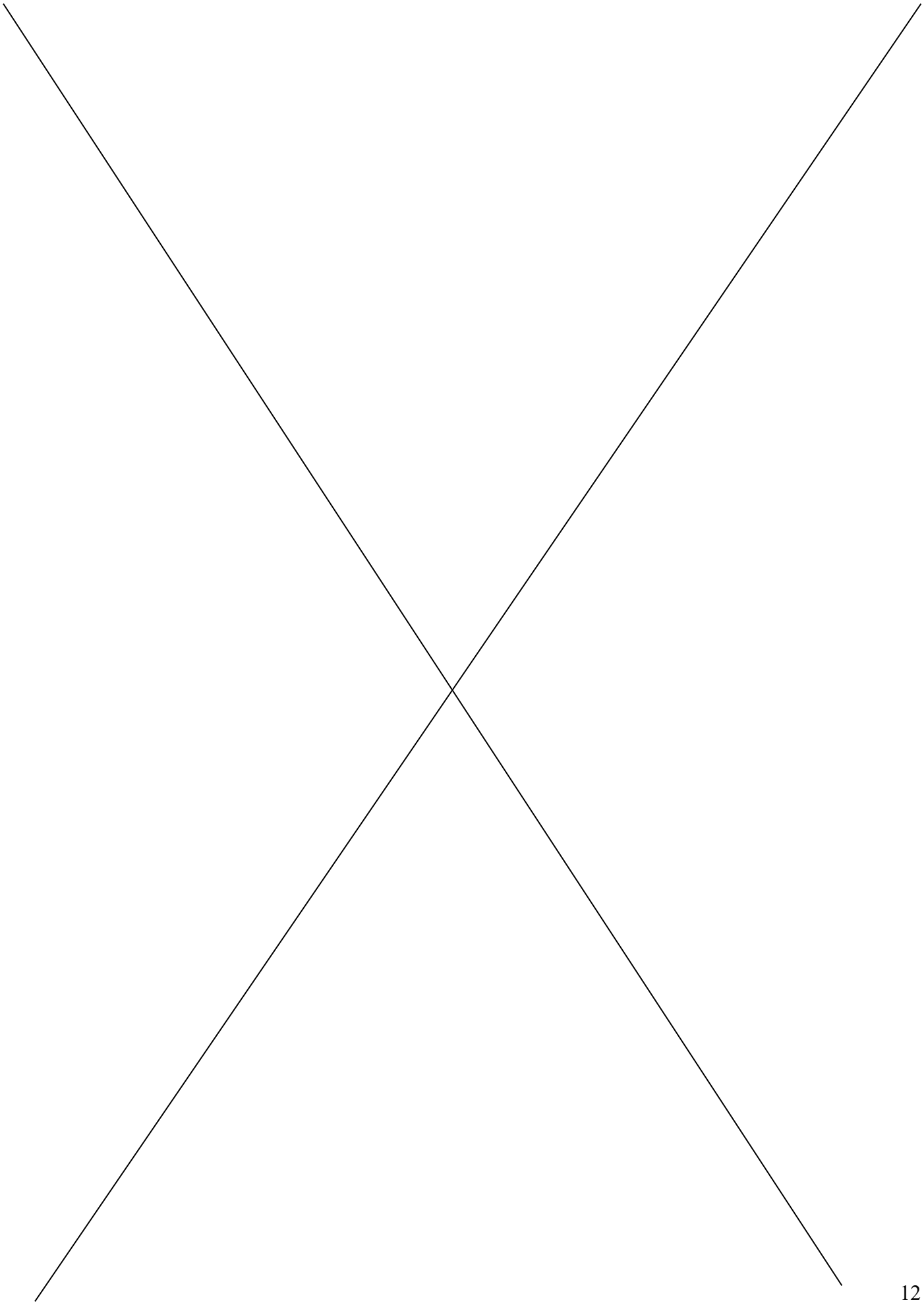
2ème session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Calculatrice : Aucune calculatrice et aucun document autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 12 pages numérotées de 1 à 12

Mécanique/Électromagnétisme
Cyril Pailler-Mattei



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Algèbre*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ALGEBRE

UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

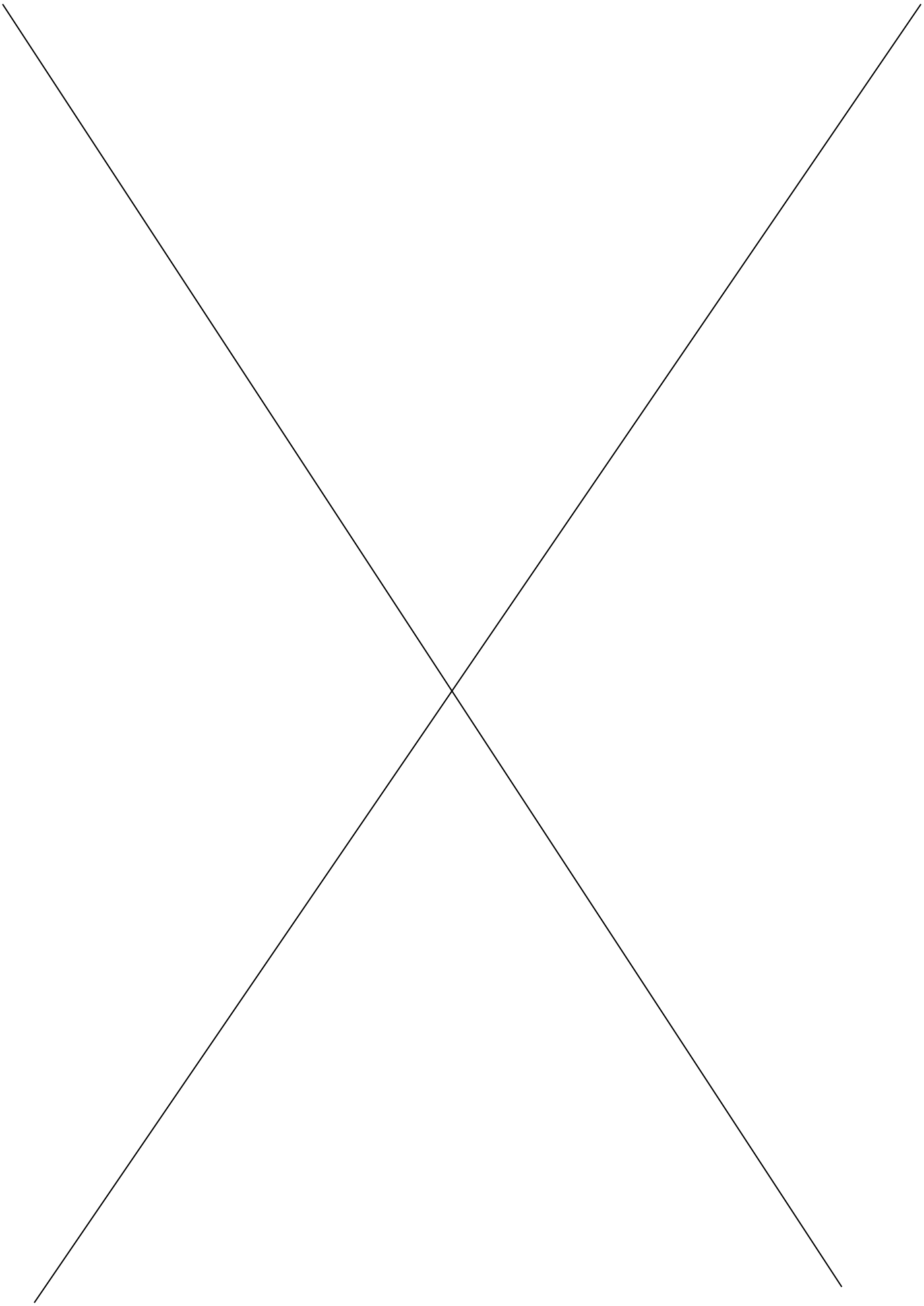
L'épreuve comprend :

- sujet : 2 pages
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : polycopié de cours, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Algèbre
M-A Dronne



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***Analyse*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE D'ANALYSE
UELC « ingénieur 4 »

Année 2023 / 2024

Semestre printemps
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

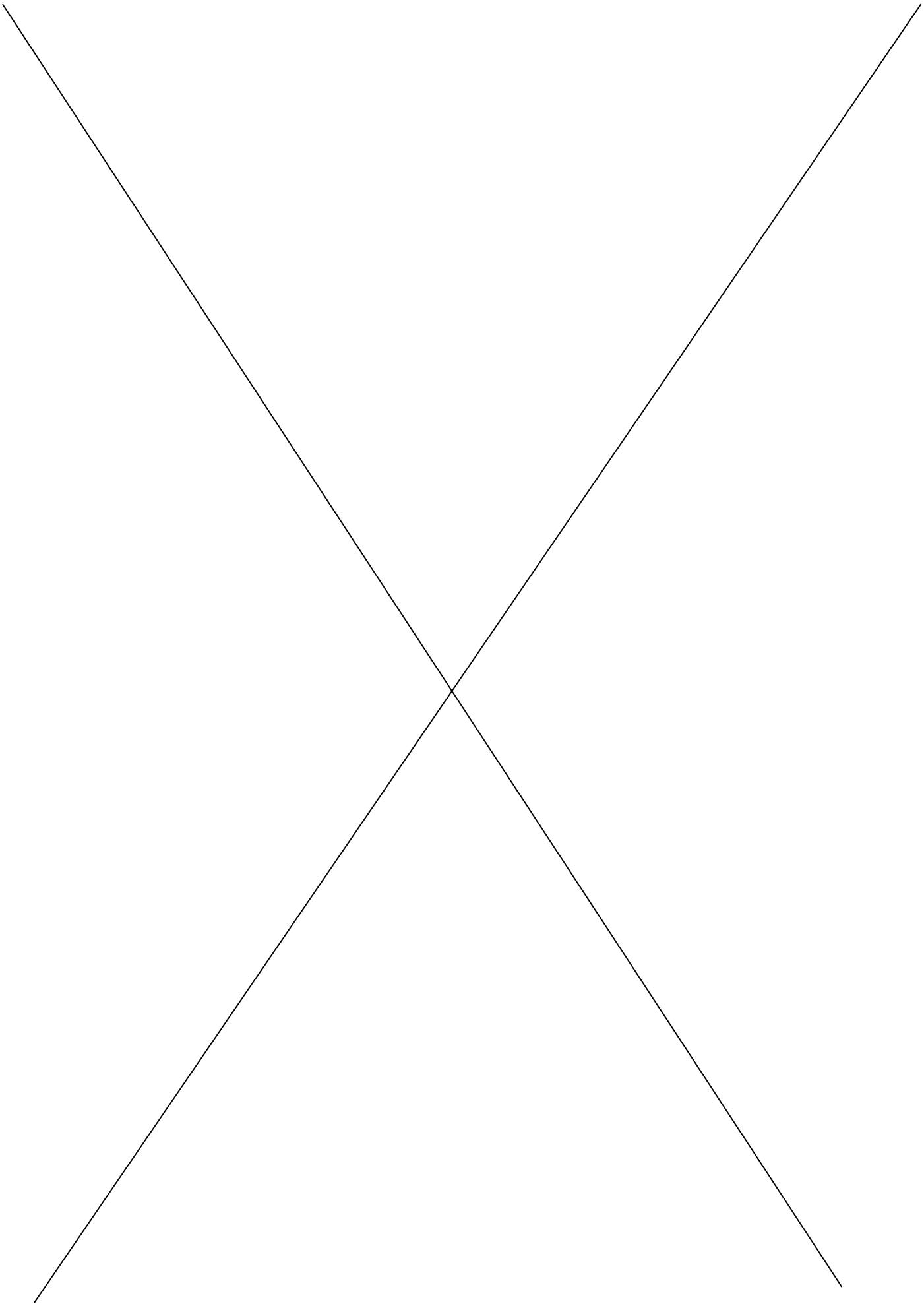
L'épreuve comprend :

- Sujet : 1 page
- fascicule : 14 pages vierges (page 3 à 16)

Documents autorisés : documents papiers, calculatrice

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 16 *pages numérotées de 1 à 16*

UELC « ingénieur 4 », Analyse
L. Brandolese



Université Claude Bernard Lyon 1
UV Ingénieurs-Pharmaciens-4A **juin 2024**

Nom : **Prénom :** **Numéro de carte d'étudiant :**

Contrôle de « Thermodynamique de l'Ingénieur ». Session 2. Durée : 2 heures. Tous documents autorisés. Composer sur l'énoncé.

I. Equilibre liquide – solide : dans l'article Reddi *et al*. (2012), Solid–liquid equilibrium, thermal and physicochemical studies of organic eutectics, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 107, 183-188, est décrite une étude d'équilibre solide – liquide du binaire 3-amino-phénol (constituant 1) – urée (constituant 2). La figure 1 représente T_{sol}, la température de solidification du mélange (apparition du premier cristal à partir de la phase liquide) en fonction de la fraction molaire globale de 3-amino-phénol notée z_1. Lorsque $T > T_{sol}$, le système est constitué d'une phase liquide contenant les constituants 1 et 2.

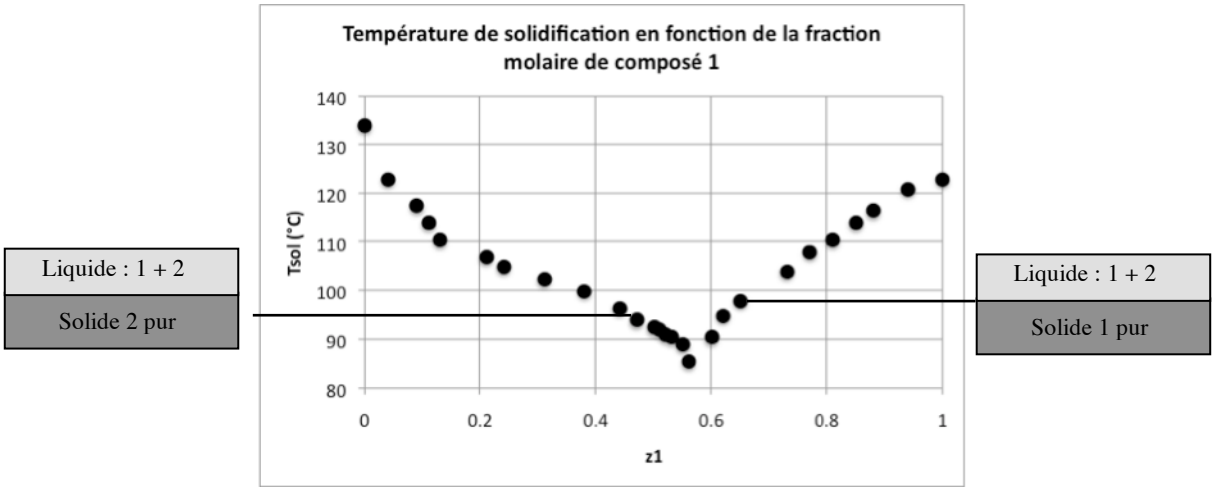


Figure 1 : température de solidification T_{sol} du binaire 3-amino-phénol (constituant 1) – urée (constituant 2) en fonction de z_1 la fraction molaire globale de 3-amino-phénol (Reddi *et al*. (2012), *J. Therm. Anal. Calorim.*, 107, 183-188).

Pour $z_1 < 0{,}56$, lorsque $T < T_{sol}$, le système contient une phase solide constituée de composé 2 pur en équilibre avec une phase liquide contenant les constituants 1 et 2. Inversement, pour $z_1 > 0{,}56$, lorsque $T < T_{sol}$, le système contient une phase solide constituée de composé 1 pur en équilibre avec une phase liquide contenant les constituants 1 et 2. On note x_1 et x_2 les fractions molaires des composés 1 et 2 dans le liquide à l'équilibre. Le changement de comportement se produit lorsque la température de solidification est la plus faible : elle correspond au point eutectique. En ce point, il y a deux phases solides constitués des corps purs 1 et 2 et une phase liquide contenant les composés 1 et 2 dans les mêmes proportions.

Nous considérons un système fermé constitué initialement d'une phase liquide à 130 °C pour une fraction molaire globale de constituant 1 de $z_1 = 0{,}2$ (point I). On diminue la température jusqu'à 100 °C (point F).

a) Placer sur la figure 1 les points I et F.

Réponse : sur la figure 1

b) Déterminer sur la figure 1 la température de solidification du mélange.

Réponse : sur la figure 1, T_{sol} =

c) Déterminer sur la figure 1 la fraction molaire de composé 1 dans la phase liquide correspondant au point F.

Réponse : sur la figure 1, x_{1F} =

d) Déterminer la fraction molaire de phase solide $z_{sF} = \dfrac{n_{sF}}{n_{sF} + n_{lF}}$ au point F où n_{sF} et n_{lF} sont respectivement les nombres de mole de phase solide et liquide.
Démarche :

Réponse : z_{sF} =

e) Exprimer la condition d'équilibre du constituant 2 dans la zone où $z_1 < 0{,}56$.

Réponse :

f) On suppose pouvoir appliquer la convention symétrique pour la phase liquide. Donner l'expression de la fugacité du constituant 2 dans la phase liquide.

Réponse : f_{2l} =

g) En notant γ_2 le coefficient d'activité du constituant 2 dans la phase liquide, en déduire l'expression de $Ln\left(\gamma_2 x_2\right)$ où x_2 est la fraction molaire d'équilibre du composé 2 dans le liquide.
Démarche :

Réponse :

h) Pour T_F = 100 °C = 373,15 K, calculer γ_{2F} la valeur expérimentale de γ_2.

Réponse :

γ_{2F} =

Propriétés et rappels exercice I :

- constante des gaz parfaits : $R = 8{,}314$ J.mol^{-1}.K^{-1} ;
- $Ln\dfrac{f_{2s}^*}{f_{2l}^*} \approx -\dfrac{\Delta h_{sl,2}^*}{R}\left(\dfrac{1}{T} - \dfrac{1}{T_{sl,2}}\right)$;

- enthalpie et température de fusion de l'urée pur (composé 2) (Reddi *et al*. (2012), *J. Therm. Anal. Calorim*., 107, 183-188) : $\Delta h^*_{sl,2} = 14600$ J.mol^{-1} , $T_{sl,2} = 407{,}15$ K .

II. Analyse du bouilleur d'une colonne à distiller : on considère le bouilleur d'une colonne à distiller continue tel que schématisé figure 2 et fonctionnant en régime permanent. Cette colonne cryogénique est utilisée pour séparer les constituants de l'air une fois liquéfié (principalement O_2 et N_2).

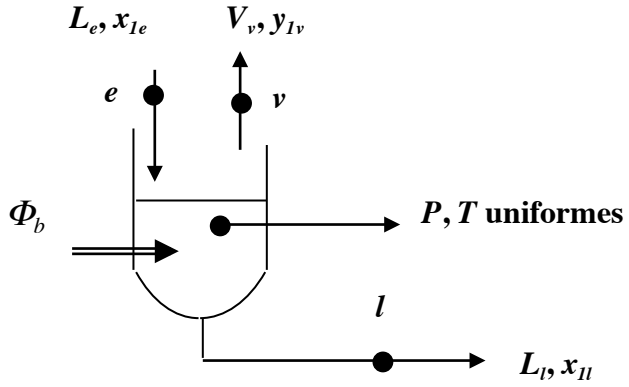


Figure 2 : principe du bouilleur d'une colonne à distiller continue

Le bouilleur est situé en pied de colonne. Il reçoit un flux de liquide saturé ***e*** de débit molaire L_e = 50 mol.s^{-1}, de fraction molaire en O_2 (constituant 1) $x_{1e} = 0{,}8$. On fournit au système le flux de chaleur Φ_b ce qui permet de produire un flux molaire de vapeur ***v*** de débit molaire V_v et de fraction molaire en O_2 $y_{1v} = 0{,}7$. Le reste de la matière (flux ***l***) est soutiré selon le débit molaire liquide L_l et de fraction molaire en O_2 $x_{1l} = 0{,}91$. Les hypothèses suivantes sont adoptées pour le bouilleur :

- les grandeurs qui le caractérisent (pression P, température T, composition des phases liquide et vapeur) sont uniformes et les deux phases sont à l'équilibre thermodynamique ;
- il s'ensuit que les flux qui en sortent (***v*** et ***l***) sont aussi à l'équilibre thermodynamique.

a) Calculer les débits molaires V_v et L_l.
Démarche :

Réponse : V_v = L_l =

b) Placer sur le diagramme enthalpie molaire – fraction molaire de O_2 du binaire O_2 – N_2 (figure 3) les points représentatifs des flux ***e***, ***l*** et ***v***.

Réponse : sur le diagramme

c) Les flux ***l*** et ***v*** étant à l'équilibre, ils ont même température. Déterminer sur la figure 3 la température d'équilibre T.

Réponse : T =

d) Déterminer sur la figure 3 les enthalpies molaires des trois flux ***e***, ***v*** et ***l***, respectivement h_e, h_v et h_l.

Réponse : h_e = h_v = h_l =

e) Calculer Φ_b le flux de chaleur à fournir au système.

Démarche :

Réponse : Φ_b =

Propriétés exercice II :

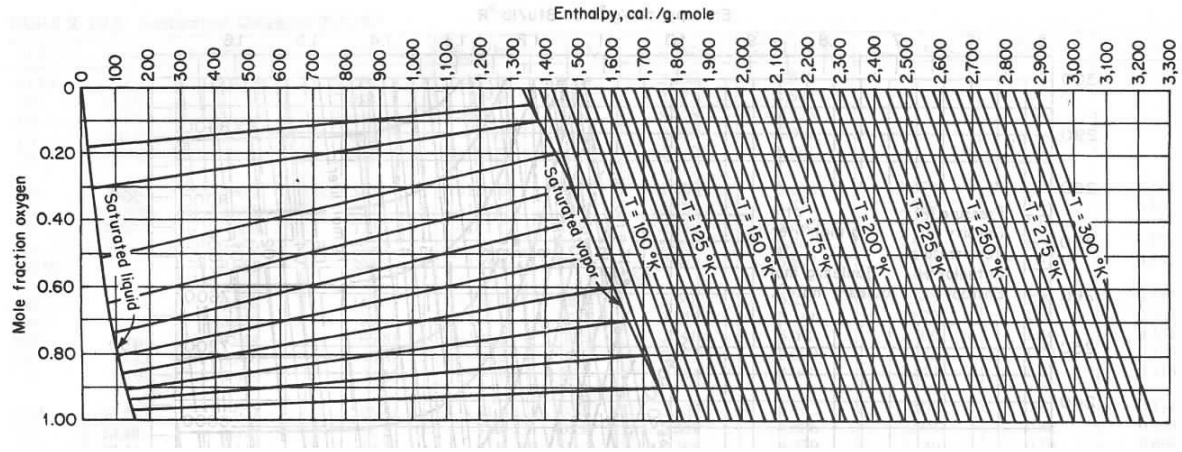


Figure 3 : diagramme fraction molaire de O_2 (ordonnée) – enthalpie molaire (abscisse en cal/mol*) du mélange O_2 – N_2 (Perry *et al*. (1997), Chemical Engineer's Handbook, McGraw-Hill) à la pression de 1 bar. On rappelle que les points représentatifs de deux phases à l'équilibre sont sur les courbes « saturated vapor » et « saturated liquid » et sur la même isotherme.

*dans la littérature anglo-saxonne, l'unité mol est souvent notée g.mol.

1 cal = 4,18 J.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023 / 2024

Semestre automne
Session rattrapage

FASCICULE n° 1 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure 30 minutes, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice de pharmacocinétique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

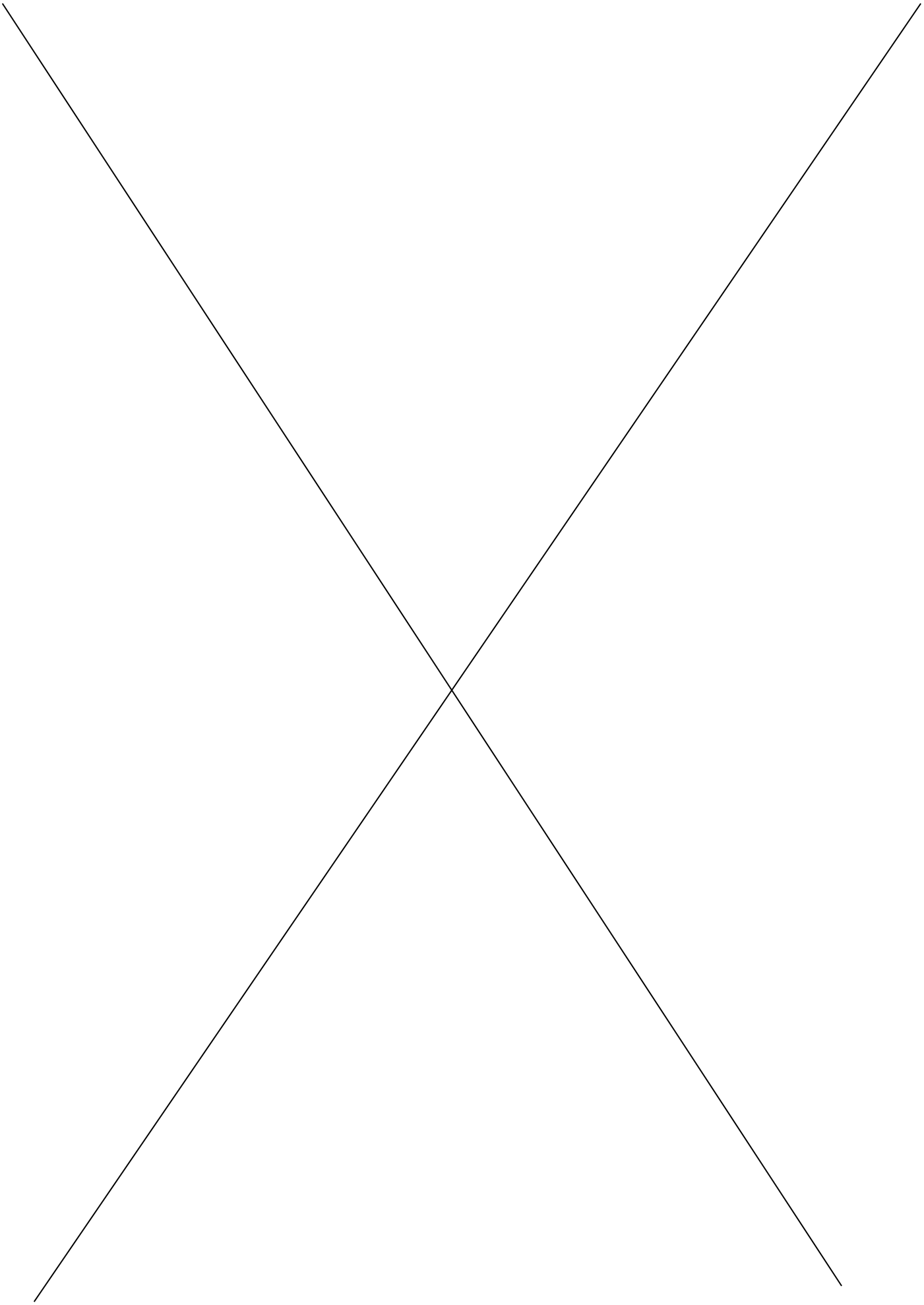
J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Correcteur : Magali Larger

UELC Préparation Internat 1
Responsable de l'UELC : Magali Larger

100 mg d'un médicament de poids moléculaire 200g/mol sont administrés par IV bolus. La cinétique du médicament suit un modèle à un compartiment. Les concentrations plasmatiques retrouvées 1h et 8h après l'administration sont de 22,62 µmol/L et 11,23 µmol/L respectivement. La liaison aux protéines plasmatiques est de 70%. Le DFG du patient est estimé à 90 mL/min.

Question 1 : Calculer la constante d'élimination.
Question 2 : Calculer le temps de demi-vie d'élimination.
Question 3 : Calculer le volume de distribution.
Question 4 : Calculer la clairance totale.
Question 5 : Calculer l'aire sous la courbe de 0 à l'infini.
Question 6 : 80 mg de médicament sont retrouvés sous forme inchangée dans les urines après 48 heures de recueil. Calculer la clairance rénale du médicament.
Question 7 : Quel est le mécanisme d'excrétion rénale du médicament ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023 / 2024

Semestre automne
Session rattrapage

FASCICULE n° 2 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure 30 minutes, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 exercice de chimie analytique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Correcteur : Wael Zeinyeh

UELC Préparation Internat 1
Responsable de l'UELC : Magali Larger

Nous préparons une solution aqueuse de nitrate d'argent $AgNO_3$ à une concentration de 500 mg/L.

Données :

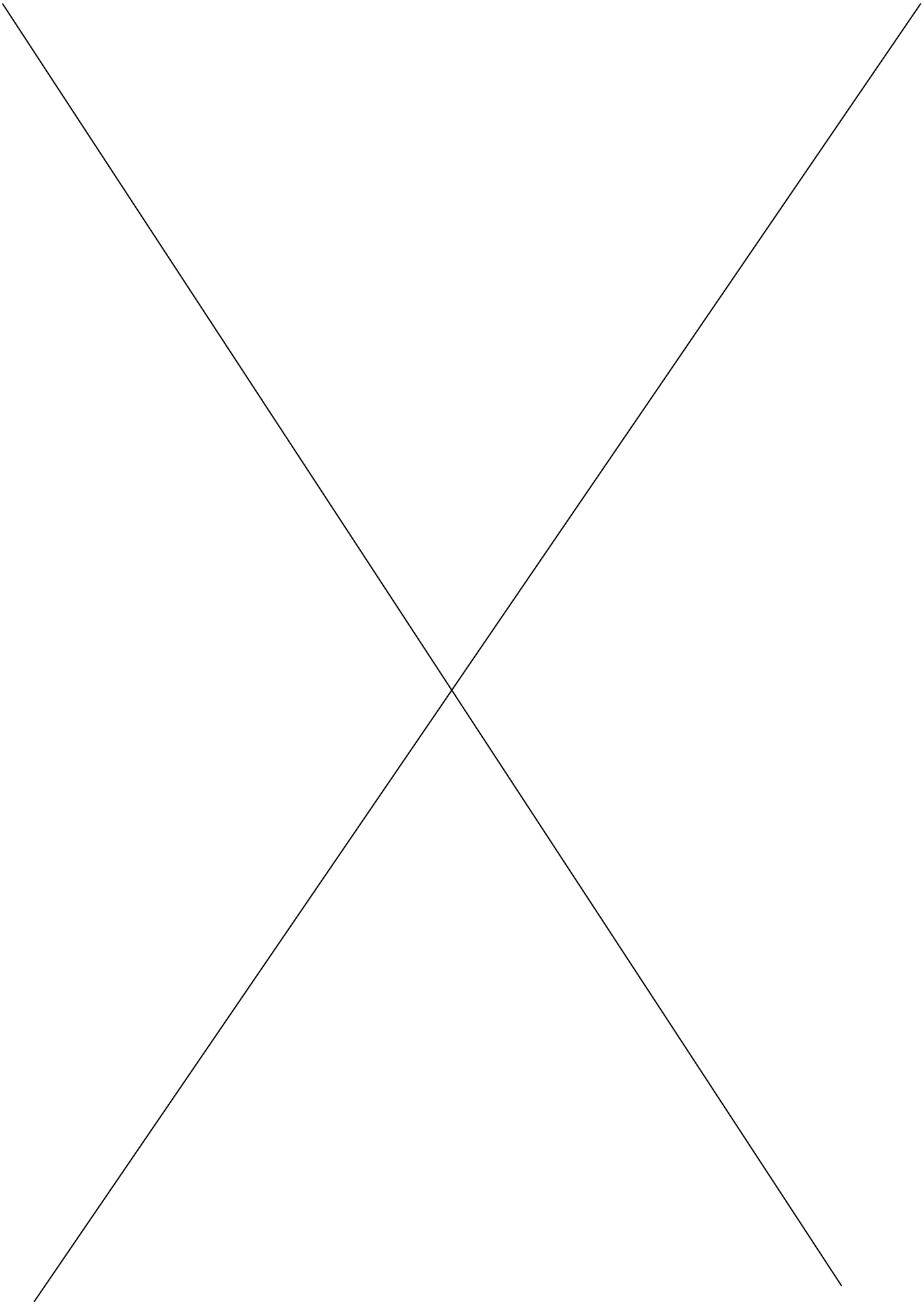
Masses atomiques : Ag : 108 N : 14 O : 16

Formule de Nernst : $E = E° + \frac{0.06}{n} \log_{10} \frac{[Ox]}{[Red]}$

Potentiel standard : $E°\ (Ag^+/Ag) = 0.799$ Volt

Question 1 : Calculez la concentration des ions Ag^+ dans cette solution en mol/L.

Question 2 : Une électrode d'argent trempe dans cette solution. Calculez le potentiel de cette électrode par rapport à l'électrode standard à hydrogène.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023 / 2024

Semestre automne
Session rattrapage

FASCICULE n° 3 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure 30 minutes, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice de biophysique

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Correcteur : Elise Levigoureux

UELC Préparation Internat 1
Responsable de l'UELC : Magali Larger

Le gallium 68, dont le numéro atomique est 31, est un radionucléide qui présente un excès de protons et se désintègre en zinc 68 (^{68}Zn). Cet élément perd 30 % de son activité en 35 minutes.

On donne
$N_A = 6{,}02.10^{23}$ mol^{-1}
m (^{68}Ga) = 67,9279801 u
m (^{68}Zn) = 67,9248442 u
1 u = 931,5 MeV/c^2

Question 1. Calculer la constante radioactive, la période et la durée de vie moyenne de ce radionucléide.

Question 2. Quelle(s) est(sont) le(s) type(s) de désintégration nucléaire du ^{68}Ga ? Justifiez votre réponse et écrivez l'(les) équation(s) de désintégration correspondante(s).

Question 3. Calculer, en MBq, l'activité d'une mole d'atomes de ^{68}Ga.

Question 4. On injecte un médicament radiopharmaceutique marqué au ^{68}Ga à un patient. La dose préparée par le radiopharmacien est de 250 MBq. Quelle sera la masse de ^{68}Ga injectée au patient s'il reçoit son injection 15 minutes après sa préparation ?

Question 5. Le gallium 68 est obtenu grâce à un générateur renfermant du germanium 68 dont la période radioactive est égale 270,95 jours. Le germanium 68 se désintègre en gallium 68 par capture électronique.

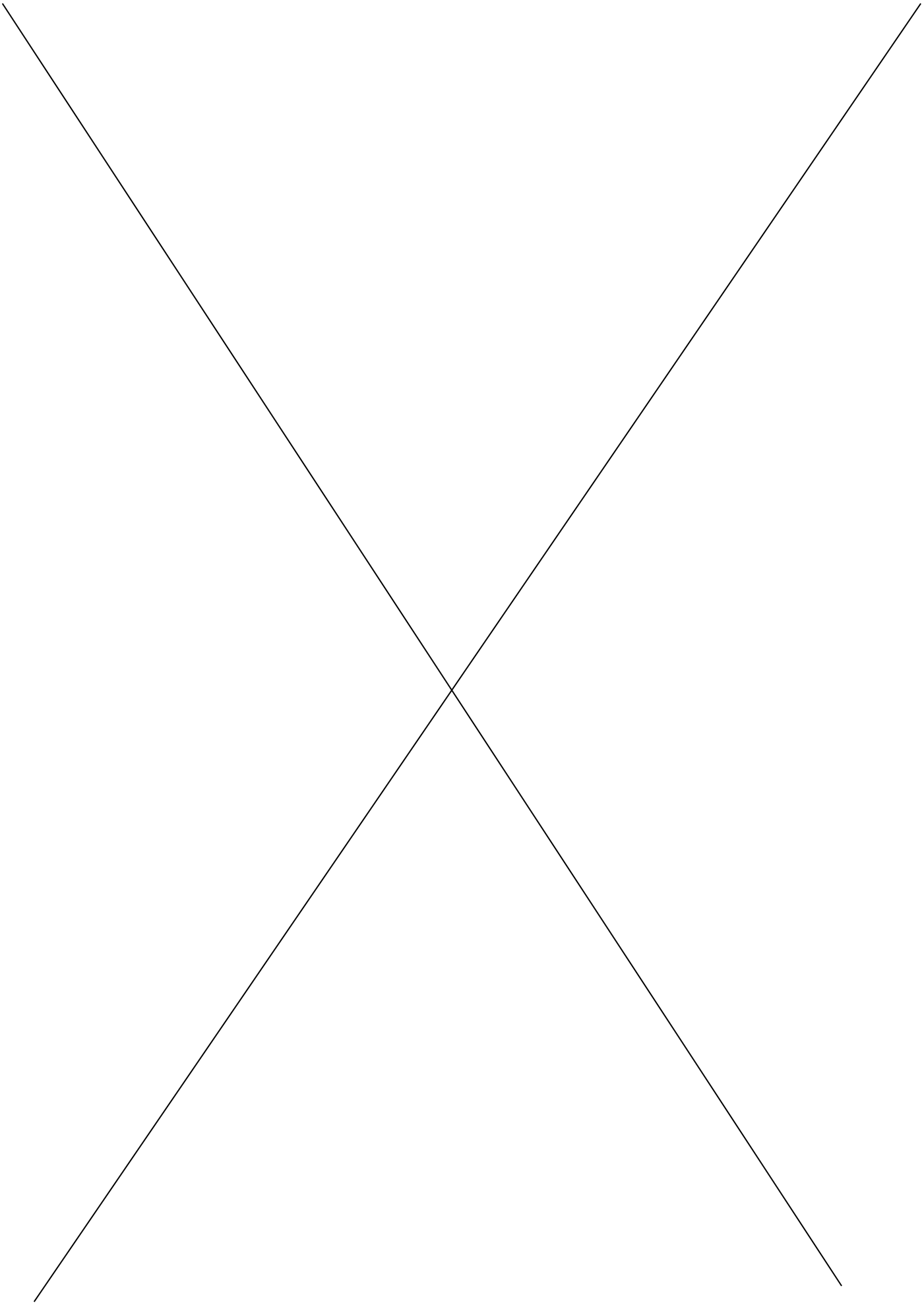
Question 5.1. Calculer la constante radioactive du germanium 68 (en s^{-1}).

On admet qu'à l'instant t = 0 il n'y a pas encore de ^{68}Ga (activité A_{02} = 0 GBq).
On rappelle la relation donnant l'activité A_2 de ^{68}Ga en fonction du temps :

$$A_2 = A_{01}\frac{\lambda_2}{\lambda_2 - \lambda_1}.(e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

Avec λ_1 correspondant à la constante radioactive du germanium 68, λ_2 la constante radioactive du gallium 68 et N_{01} le nombre de noyaux initiaux de germanium 68.

Question 5.2. Au bout de combien de temps, t_{max} (en h), aura-t-on un maximum d'activité de gallium 68 ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session rattrapage

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice de Chimie analytique

Calculatrice autorisée

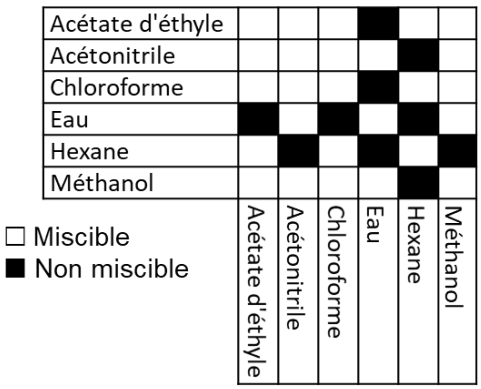
J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Lars Jordheim

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Vous avez un échantillon aqueux contenant l'analyte F et d'autres composés, et vous souhaitez faire une extraction liquide-liquide. La figure montre des données de miscibilité entre différents solvants. Le tableau donne des informations concernant ces solvants ainsi que la solubilité de l'analyte F dans les différents solvants



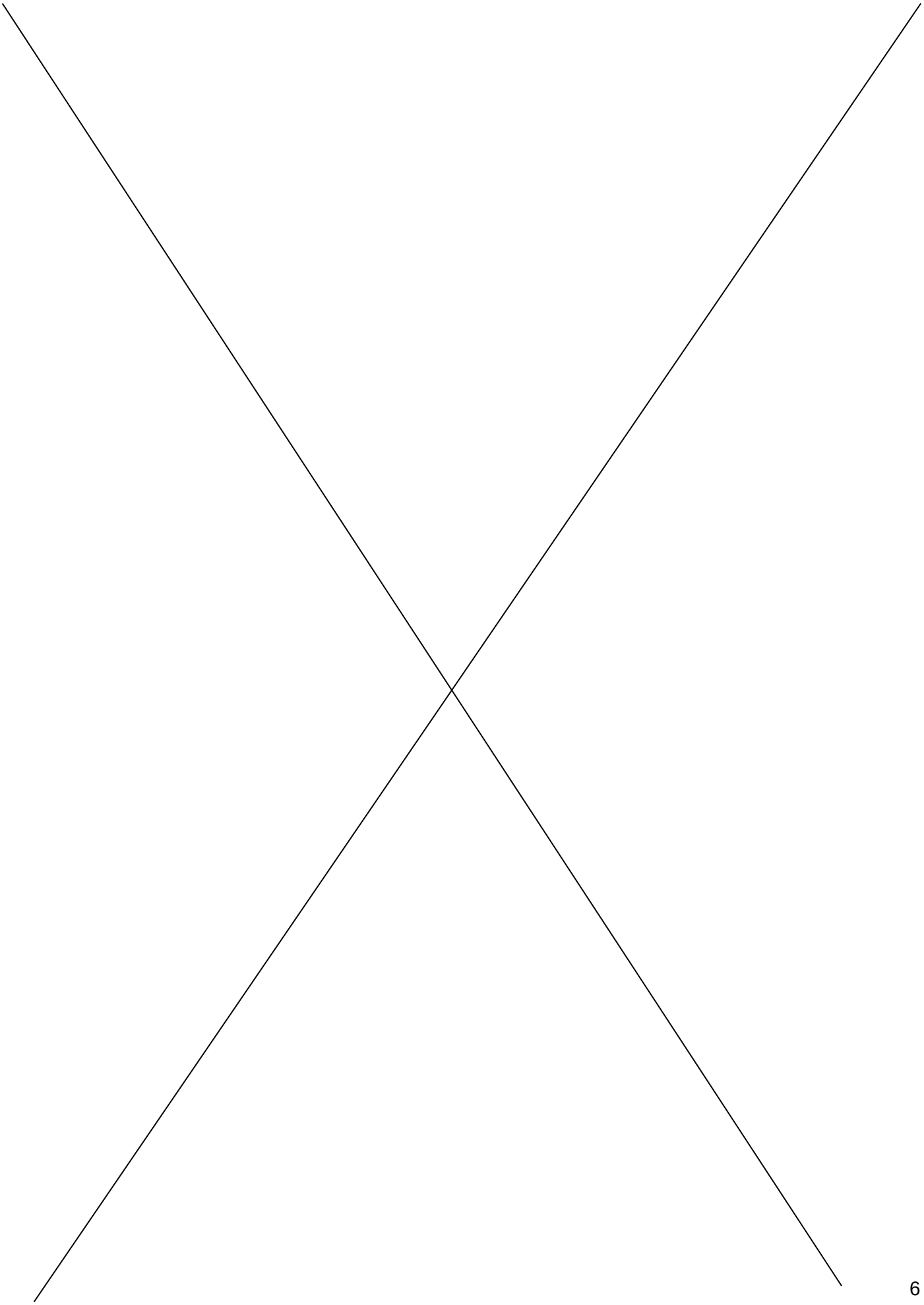
	T° ébullition (°C)	Densité	Masse molaire (g/mol)	Solubilité F (g/L)
Acétate d'éthyle	77,1	0,90	88,1	4,3
Acétonitrile	82,0	0,80	41,1	6,8
Chloroforme	62,0	1,48	119,4	2,8
Eau	100,0	1,00	18,0	3,3
n-Hexane	68,7	0,66	86,2	1,7
Méthanol	65,0	0,79	32,0	3,2

Question 1. Sachant que vous souhaitez extraire le maximum de l'analyte F de la solution aqueuse, quel solvant choisissez-vous ? Justifiez votre réponse, sans faire de calcul.

Question 2. Calculer le rendement d'extraction pour une extraction simple en utilisant 5 mL de la solution aqueuse et 10 mL du solvant choisi à la question 1.

Question 3. Calculer le rendement d'extraction pour une extraction à deux étages en utilisant 5 mL de la solution aqueuse et un total de 10 mL du solvant choisi à la question 1.

Question 4. Quels sont les avantages et inconvénients d'augmenter le nombre d'étages en extraction liquide-liquide ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session rattrapage

FASCICULE n° 2

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 exercice de Pharmacocinétique

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Magali Larger

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Un médicament M est administré en bolus intraveineux à la dose de 1 mg/kg à un individu de 80kg. On suppose que l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps correspond à un modèle monocompartimentale. Une heure après l'administration, la concentration plasmatique retrouvée est de 140 ng/mL. Six heures après l'administration, la concentration plasmatique retrouvée est de 128 ng/mL.

Question 1. Ecrire l'équation de la courbe concentration en fonction du temps.

Question 2. Calculer la clairance totale.

Question 3. Calculer la demi-vie d'élimination.

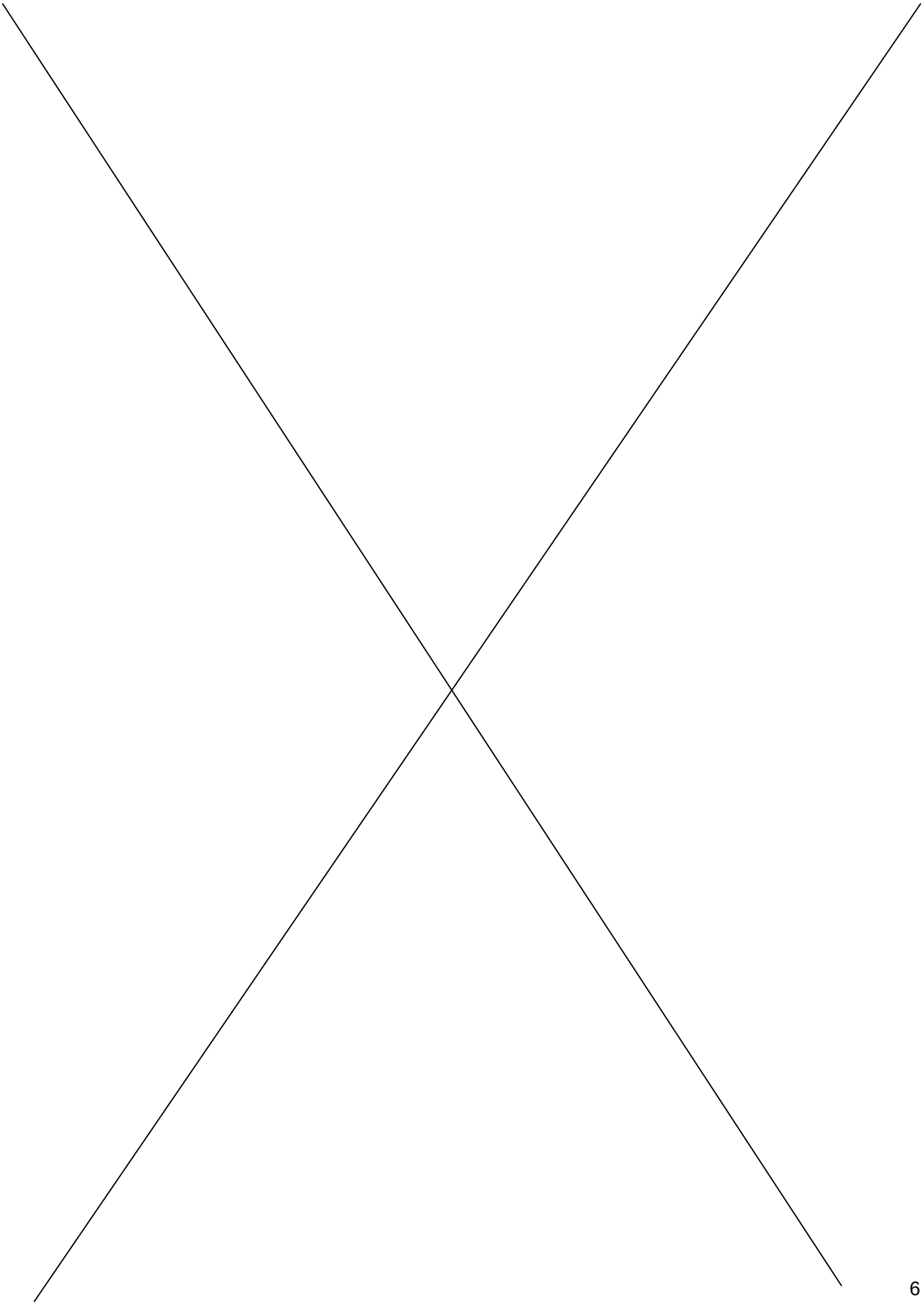
Question 4. La clairance rénale est de 2 L/h et le débit hépatique du patient est de 72 L/h.

4.1. Calculer le coefficient d'extraction hépatique.

4.2. Quelles sont les conséquences d'une modification du débit sanguin hépatique sur la clairance d'élimination du médicament

4.3. Quelles sont les conséquences d'une augmentation de la liaison aux protéines plasmatiques sur la clairance et le volume de distribution du médicament.

Question 5. Le médicament M est administré par voie orale à la dose de 160 mg. Ecrire l'équation de la courbe, sachant que la demi vie correspondant à la phase d'absorption est de 5.02h, que la biodisponibilité est de 42% et que le terme correspondant à l'élimination est le même que celui de la forme intraveineuse.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session rattrapage

FASCICULE n° 3

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice de Physiologie

Note

Calculatrice autorisée

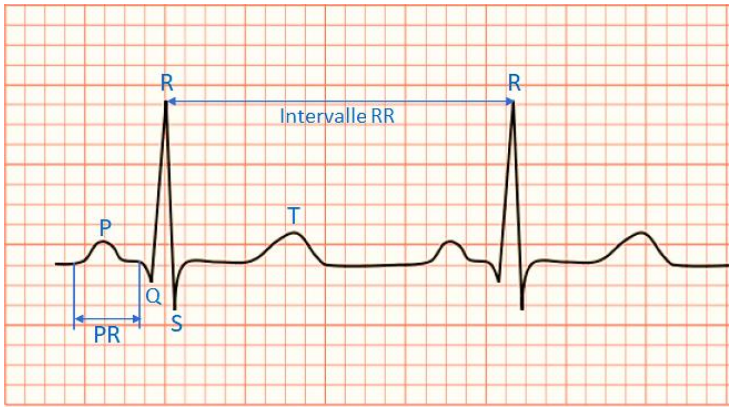
J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 4 pages numérotées de 1 à 4

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Ming Lo

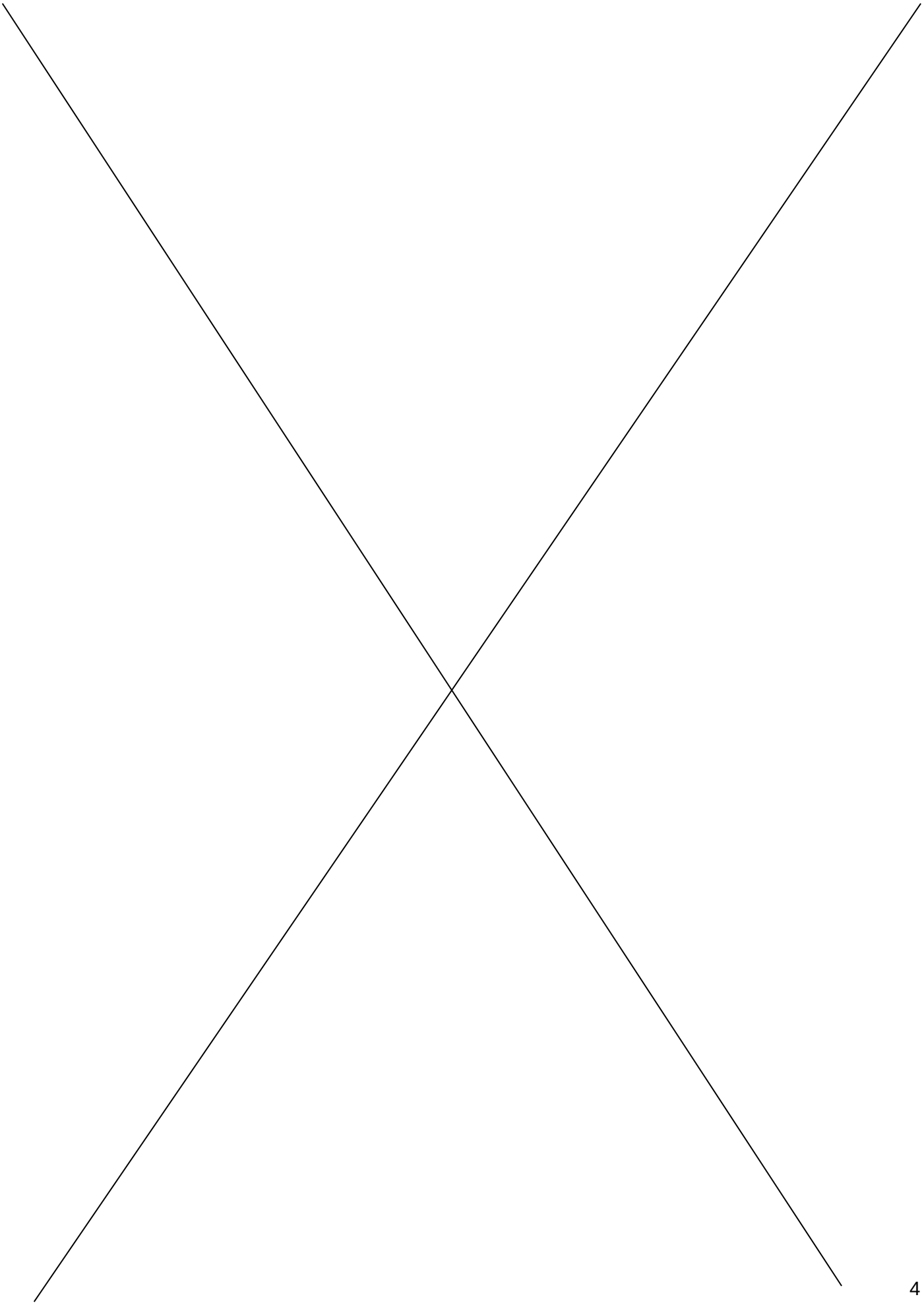
UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Le schéma ci-dessous représente un tracé « type » d'électrocardiogramme (ECG).



Question 1. Décrire les activités électriques cardiaques qui correspondent à l'onde P, à l'intervalle PR, au complexe QRS et à l'onde T.

Question 2. Citer les intérêts cliniques de la mesure de l'ECG.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session rattrapage

FASCICULE n° 4

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 1 exercice d'Enzymologie

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Karim Chikh

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Un laboratoire a pour but de purifier de la chymotrypsine à partir de pancréas. A chaque étape de la purification on dose la concentration catalytique (U/mL) à l'aide d'un substrat chromogène de cette sérine protéase et la concentration en protéines totales. Les résultats sont reportés ci-dessous et prennent en compte les dilutions effectuées préalablement qui sont décrites plus loin.

Etape de purification	volume (mL)	protéines (mg/ml)	concentration catalytique (U/mL)
Homogénat de pancréas	200	800	16
Précipitation par $(NH_4)_2SO_4$	15	400	200
Affinité (éluat)	20	8	72

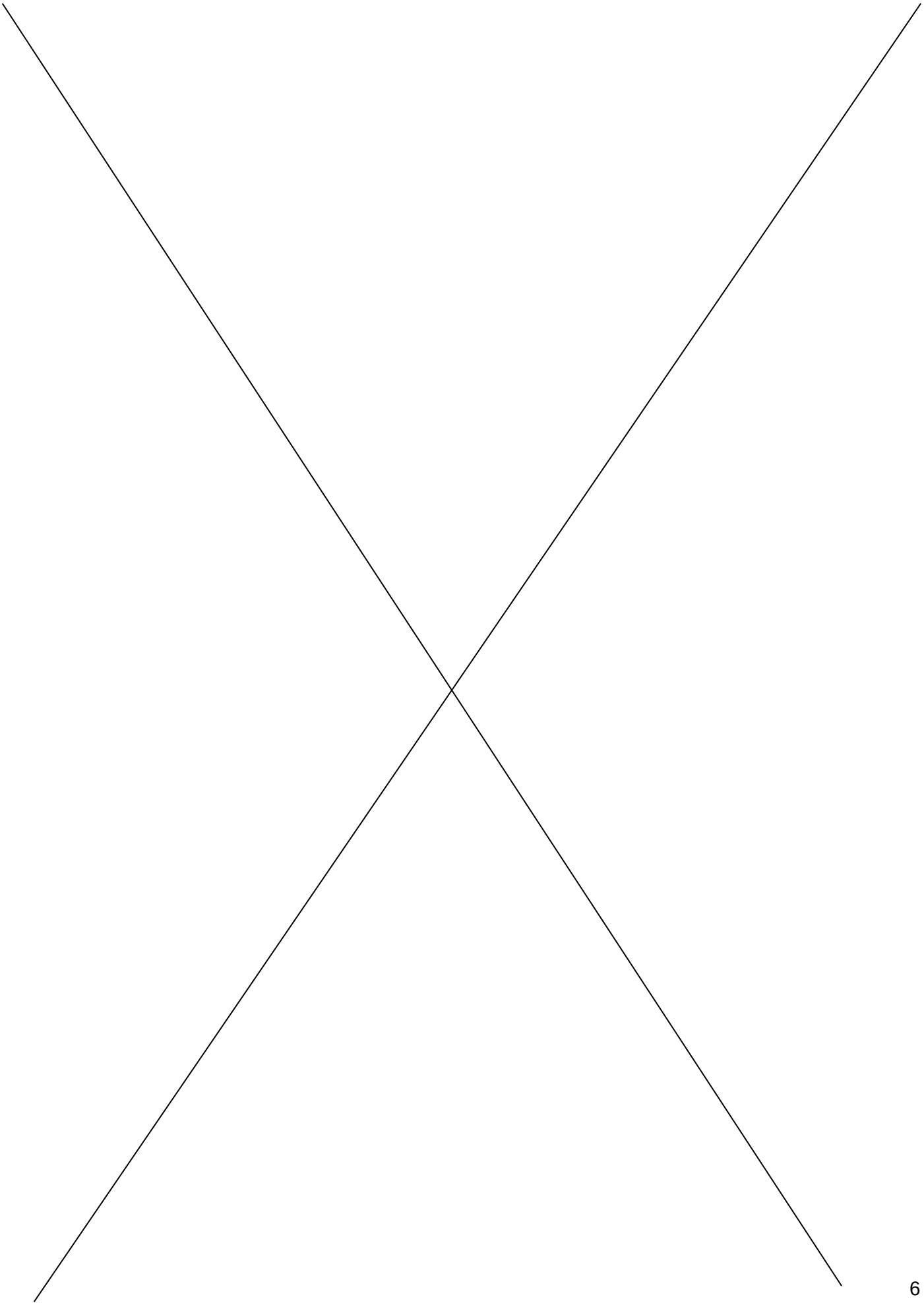
Question 1 : Calculer l'activité spécifique de chaque fraction, ainsi que le rendement et le degré de purification obtenu.

Le K_m de la chymotrypsine pour son substrat chromogène est de 0,50 mM. Pour mesurer les concentrations catalytiques du tableau ci-dessus, chaque fraction est préalablement diluée au 1/1000ème, le temps de mesure est de 1 min et les conditions du dosage (dans les conditions conventionnelles retenues pour la définition de l'unité de l'activité enzymatique) sont telles que 90% des sites actifs de l'enzyme [(ES)/(E)t = 0,9] sont occupés par le substrat chromogène.

Question 2 : Quelle doit être la concentration en substrat chromogène (en mM et en unités Km) dans les conditions du dosage?

Question 3 :

a) Calculer pour la dernière étape de purification (éluat obtenu par chromatographie d'affinité) la vitesse initiale (V_0) mesurée dans le milieu réactionnel. Quelle serait la V_{max}?
b) En déduire, après 1 min d'incubation, la concentration résiduelle en substrat (en mmol/L et en unités K_m).
c) Calculer la vitesse (v) correspondant à cette concentration et l'exprimer en % de la vitesse initiale (V_0) mesurée. Commenter.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms :

……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 1*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 1*

DFGSP3
Année 2023 / 2024

Semestre automne
Session rattrapage

FASCICULE n° 4 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure 30 minutes, comprenant 4 fascicules

Ce fascicule n°4 comprend :

- 1 exercice d'Enzymologie

Calculatrice autorisée
Documents non autorisés
Stabilos non autorisés

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4

Correcteur : Karim Chikh

UELC Préparation Internat 1
Responsable de l'UELC : Magali Larger

L'étude cinétique de l'activité d'une enzyme sur un substrat est réalisée dans des conditions bien définies. Le tableau ci-dessous montre la vitesse initiale V_0 en fonction de la concentration en substrat [S] en l'absence (expérience A) et en présence (expérience B) d'un inhibiteur I. Le K_m du couple enzyme-substrat est de 1,50 x 10^{-4} mol/L. La concentration en inhibiteur utilisée dans l'expérience B est [I] = 5 x 10^{-5} mol/L.

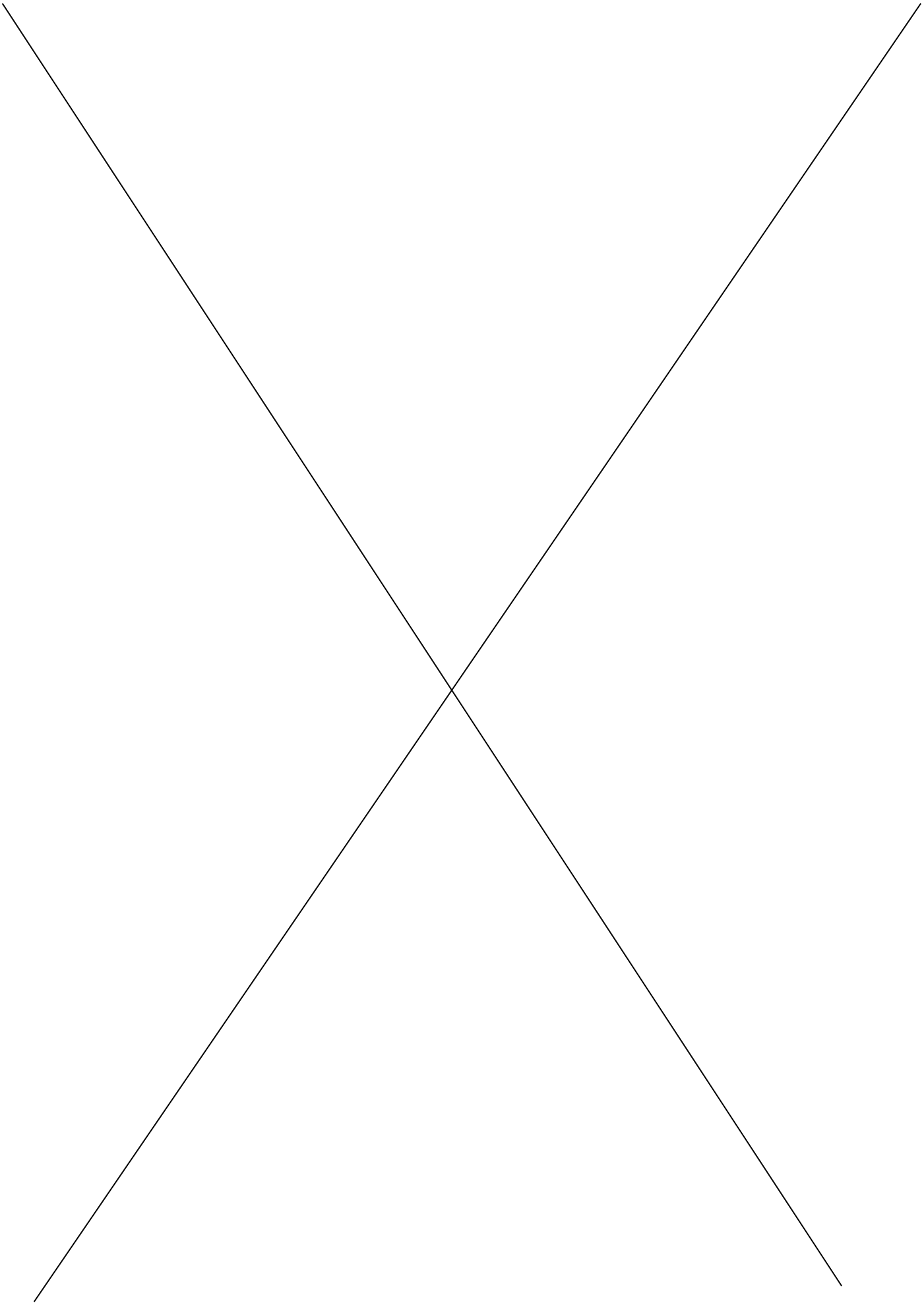
[S] (x 10^{-4} mol/L)	Expérience A V_0 (x 10^{-6} mol.min^{-1}.L^{-1})	Expérience B V_0 app (x 10^{-6} mol.min^{-1}.L^{-1})
0	0	0
1,50	4,0	1
4,00	5,8	2,3
6,00	6,6	3,0
9,00	7.2	4,0
20,00	7,8	5,2

Question 1. D'après le tableau ci-dessus, quelle est la valeur de la vitesse initiale maximale V_{max} (en mol.min^{-1}.L^{-1})?

Question 2. Calculer les pourcentages d'inhibition observés pour S = 1,50 x 10^{-4} mol/L et pour S = 20 x 10^{-4} mol/L. Qu'en déduisez-vous sur le type d'inhibiteur utilisé dans l'expérience B ?

Question 3. Quelle est la valeur de $K_{m\ app}$ (K_m apparent)?

Question 4. Calculer la constante d'inhibition K_i caractérisant le couple inhibiteur - enzyme.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Préparation Internat 2*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Préparation Internat 2*

UELC
Année 2023/ 2024

Semestre printemps
Session rattrapage

FASCICULE n° 5

DUREE DE L'EPREUVE : 2h, comprenant 5 fascicules

Ce fascicule n°5 comprend :

- 1 dossier d'hématologie

Note

Calculatrice autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comporte 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 5 fascicules numérotés de 1 à 5

Correcteur : Sarah Huet

UELC Préparation à l'internat 2
Responsable de l'UE : Magali LARGER

Mme D., 31 ans, consulte son médecin traitant pour une altération de l'état général. Elle se dit très asthénique et présente une pâleur cutanée et conjonctivale. L'examen clinique révèle une légère tachycardie. L'interrogatoire révèle que la patiente n'a aucun antécédent en dehors du fait d'être végétarienne depuis plusieurs années. Elle n'a aucun antécédent et ne prend aucun traitement.

L'hémogramme réalisé chez Mme D. montre les résultats suivants :
Sg Erythrocytes : 2,72 T/L
Sg Hémoglobine : 95 g/L
Sg Hématocrite : 0,29
Sg Leucocytes : 8,5 G/L
Sg Thrombocytes : 193 G/L
Sg Réticulocytes 2%
*Formule leucocytaire :

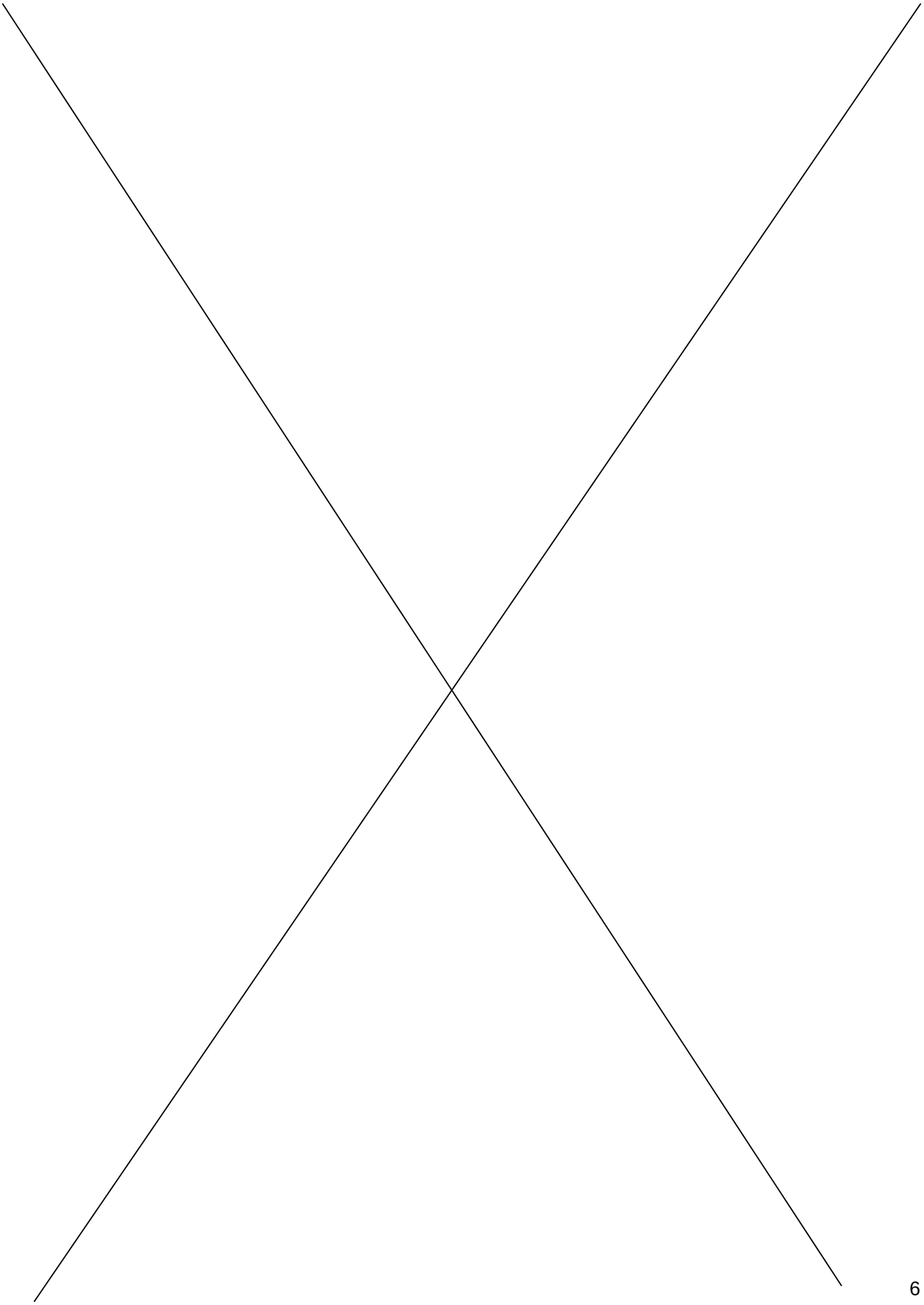
- Polynucléaires neutrophiles : 74 %
- Polynucléaires éosinophiles : 2 %
- Polynucléaires basophiles 1%
- Lymphocytes : 19 %
- Monocytes : 4 %

Question 1 : Calculez les constantes érythrocytaires et interprétez cet hémogramme. Précisez les valeurs usuelles de chaque paramètre et utilisez le vocabulaire approprié pour décrire les anomalies.

Question 2 : Comment expliquez-vous les signes cliniques présentés par la patiente ?

Question 3 : Quelle étiologie suspectez-vous en priorité chez Mme D pouvant expliquer les anomalies clinico-biologiques observées ? Justifiez votre réponse.

Question 4 : Expliquez le mécanisme physiopathologique ayant vraisemblablement abouti aux anomalies biologiques observées.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 1

Calculatrice : (autorisée)

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 6

UELC3 Préparation à l'internat
Responsable-enseignant de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : David Kryza

Le tritium ^{3}H est un isotope radioactif de l'hydrogène obtenu par bombardement d'une cible de lithium $^{6}_{3}Li$ par des neutrons. Sa période est T = 12,3 ans.

1) Compléter les trois cases vides dans l'équation de formation du tritium ci-dessous :

$$^{6}_{3}Li + {}^{1}_{0}n \rightarrow {}^{3}H + \quad He$$

2) Ecrire l'équation de transformation du tritium sachant qu'il s'agit d'une transformation isobarique de type β^- et que le noyau Y formé est à l'état fondamental. Préciser la nature du noyau Y.

On donne les numéros atomiques des éléments suivants :

Z = 2 : hélium Z = 3 : lithium Z = 4 : béryllium

3) Calculer, en keV, l'énergie maximale du β^- émis.

On donne : la masse de l'atome de tritium $M(^{3}H) = 3{,}0160492$ u

la masse de l'atome de Y $M(Y) = 3{,}0160293$ u

4) Quelle est la probabilité (exprimée en pourcentage) pour qu'un noyau de tritium se transforme pendant l'année ?

5) Soit une source de tritium d'activité égale à 1,00 MBq.

a) Quelle masse de tritium correspond à cette activité ?

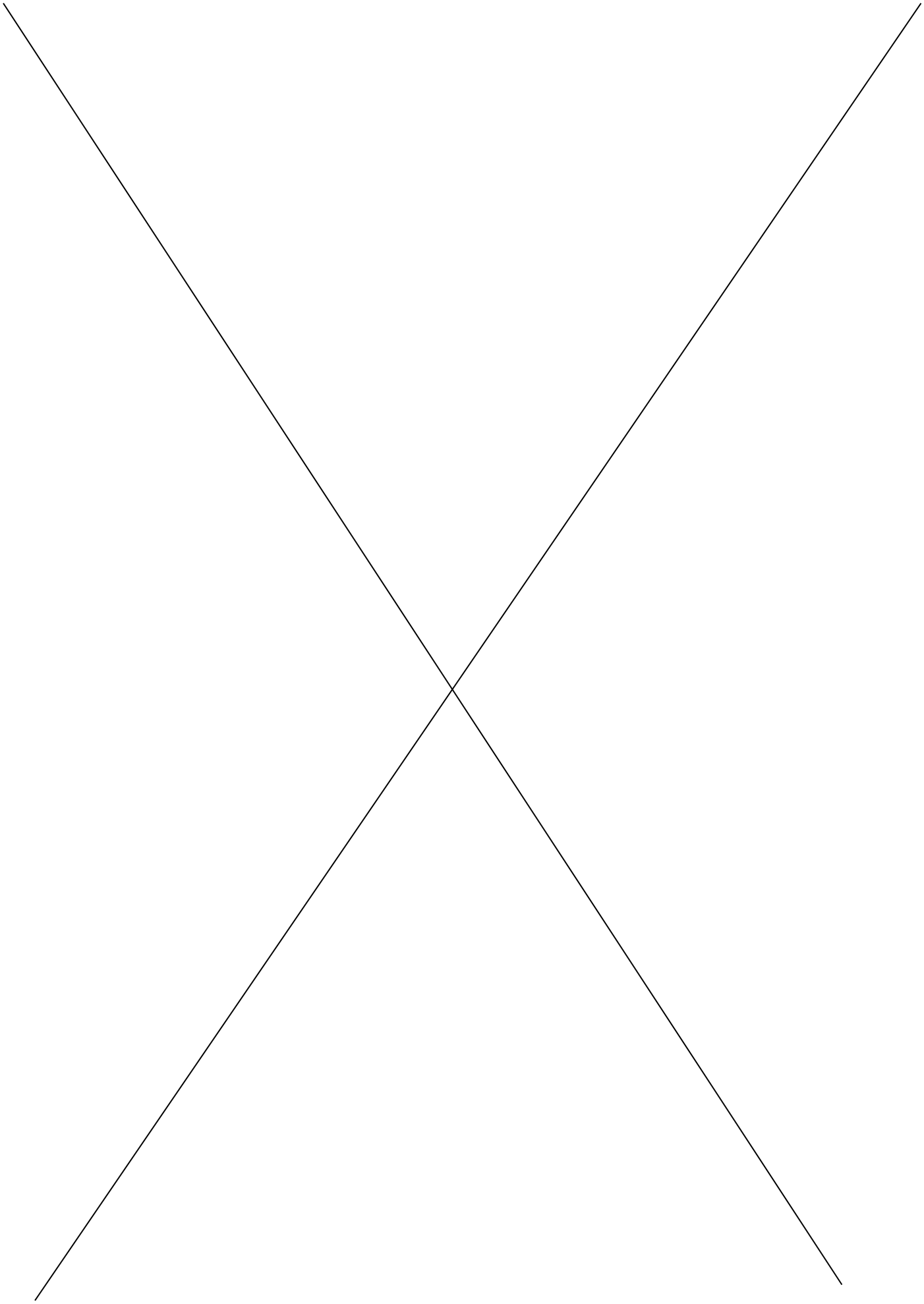
b) Au bout de combien de périodes l'activité de la source devient-elle inférieure à 50,0 kBq ? Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.

6) Le tritium est produit dans la haute atmosphère par réaction entre un neutron rapide du rayonnement cosmique et un noyau d'azote :

$$^{14}_{7}N + {}^{1}_{0}n \rightarrow {}^{12}_{6}C + {}^{3}_{1}H$$

Il est transporté par la pluie à la surface de la terre où on le retrouve sous forme d'eau tritiée, avec une activité volumique constante au cours du temps. On suppose que toutes les autres sources de tritium sont négligeables.

On mesure dans une bouteille de vin vieux (qui a été conservée bouchée) une activité due au tritium 13 fois plus faible que celle d'un vin d'aujourd'hui. Déduire de ces données l'âge (en années) du vin vieux. Donner le résultat avec 3 chiffres significatifs.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 3

Calculatrice : (autorisée)

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 4

UELC3 Préparation à l'internat
Responsable-enseignant de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : Lars Jordheim / C Machon

Exercice de Chimie analytique

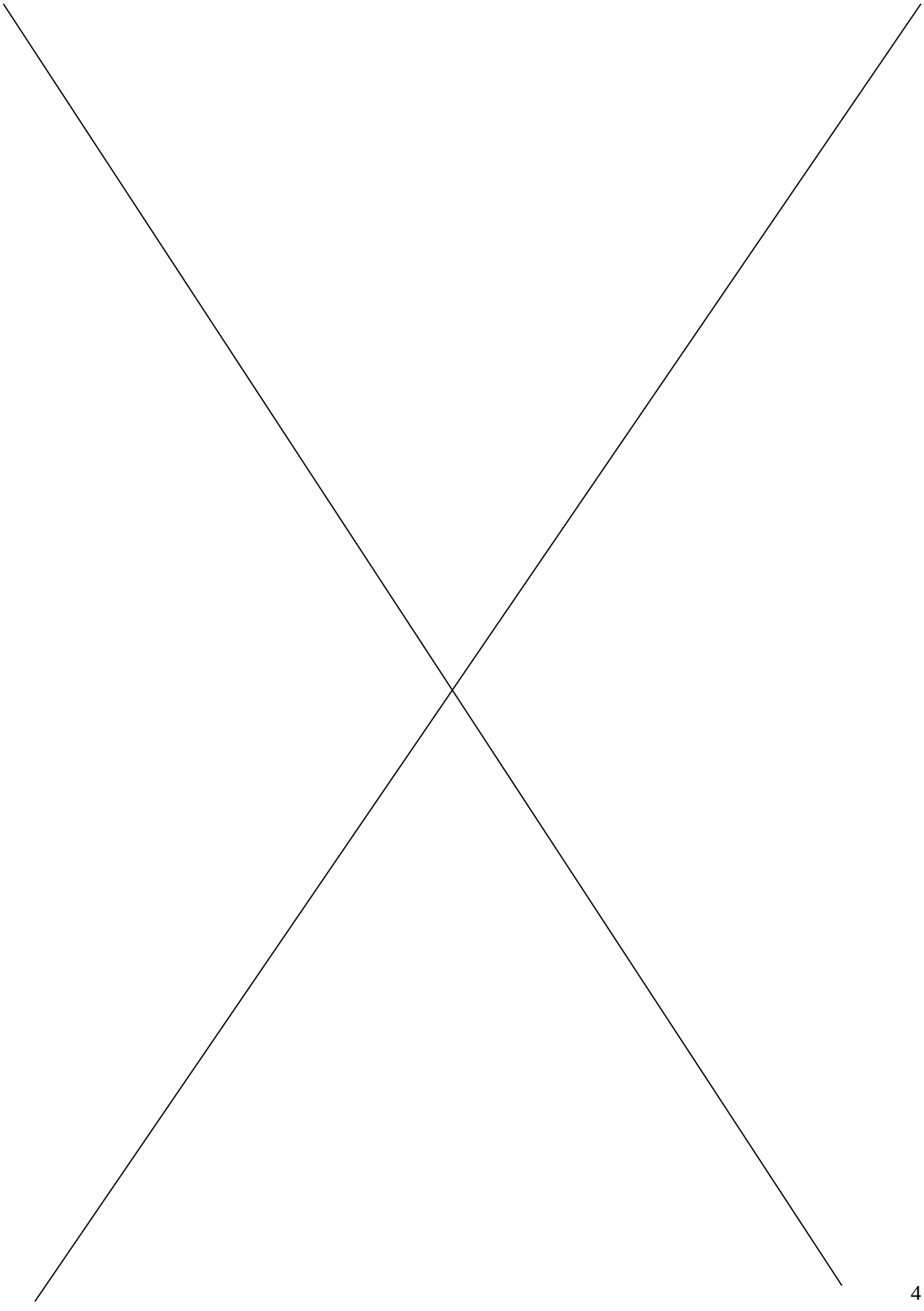
Une solution A est préparée en mélangeant 12 mL de solution aqueuse d'hydroxyde de potassium 0,40 mol/L et 25 mL d'une solution aqueuse d'acide benzoïque 0,80 mol/L.

On donne : pKa ($C_6H_5COOH/C_6H_5COO^-$) = 4,19

QUESTION 1
Calculez le pH de la solution A.

QUESTION 2
Déterminez la molarité de la solution tampon A.

QUESTION 3
Quelle quantité d'ions OH^-, en mol, faut-il ajouter à 6 mL de solution A pour que le pH devienne égal à 4,19 ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC3 Préparation à l'internat*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE UELC3 Préparation à l'internat

DFASP1
Année 2023/ 2024

Semestre automne
2ème Session

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h

Ce fascicule comprend :

- Exercice 2

Calculatrice : (autorisée)

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 1 pages numérotées de 1 à 4

UELC3 Préparation à l'internat
Responsable-enseignant de l 'UELC Internat :
David Kryza

Correcteur : MP Gustin

Des mesures effectuées sur un même étalon avec deux méthodes analytiques différentes ont donné les résultats suivants :

Méthode 1	$n_1 = 30$	$m_1 = 99{,}90$	$s_1 = 0{,}06$
Méthode 2	$n_2 = 30$	$m_2 = 100{,}00$	$s_2 = 0{,}13$

Peut-on dire que les résultats obtenus par les deux méthodes diffèrent en moyenne au risque 5% ? Vous considérerez que les échantillons sont grands.

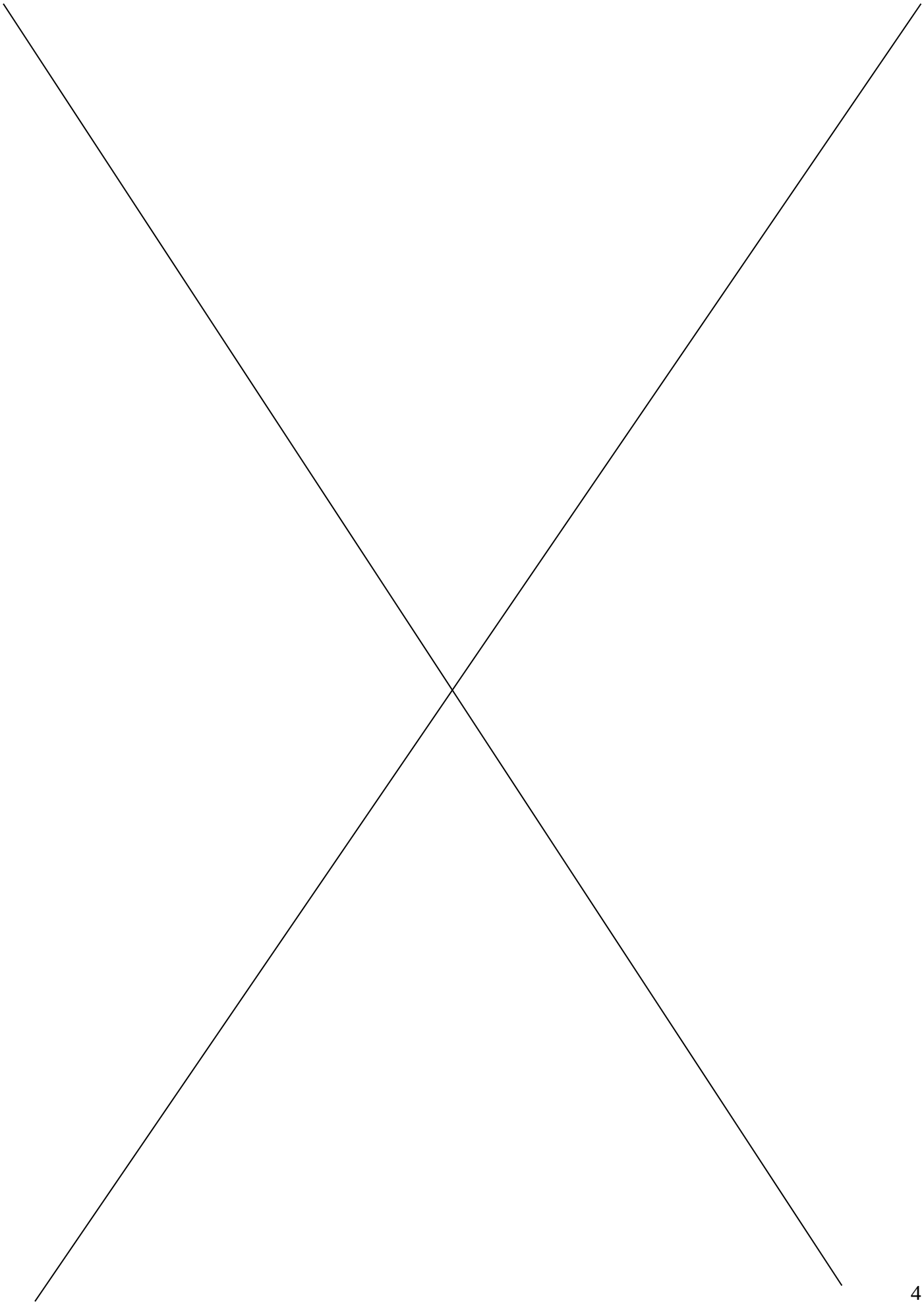
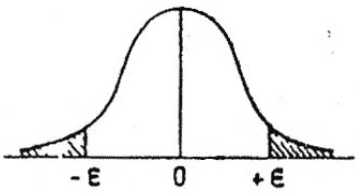


Table de l'écart-réduit (loi normale) (*).

La table donne la probabilité α pour que l'écart-réduit égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée ε, c'est-à-dire la probabilité extérieure à l'intervalle $(-\varepsilon, +\varepsilon)$.



α	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,00	∞	2,576	2,326	2,170	2,054	1,960	1,881	1,812	1,751	1,695
0,10	1,645	1,598	1,555	1,514	1,476	1,440	1,405	1,372	1,341	1,311
0,20	1,282	1,254	1,227	1,200	1,175	1,150	1,126	1,103	1,080	1,058
0,30	1,036	1,015	0,994	0,974	0,954	0,935	0,915	0,896	0,878	0,860
0,40	0,842	0,824	0,806	0,789	0,772	0,755	0,739	0,722	0,706	0,690
0,50	0,674	0,659	0,643	0,628	0,613	0,598	0,583	0,568	0,553	0,539
0,60	0,524	0,510	0,496	0,482	0,468	0,454	0,440	0,426	0,412	0,399
0,70	0,385	0,372	0,358	0,345	0,332	0,319	0,305	0,292	0,279	0,266
0,80	0,253	0,240	0,228	0,215	0,202	0,189	0,176	0,164	0,151	0,138
0,90	0,126	0,113	0,100	0,088	0,075	0,063	0,050	0,038	0,025	0,013

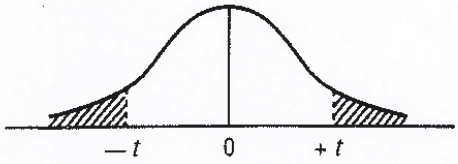
La probabilité α s'obtient par addition des nombres inscrits en marge.
Exemple : pour $\varepsilon = 1{,}960$ la probabilité est $\alpha = 0{,}00 + 0{,}05 = 0{,}05$.

Table pour les petites valeurs de la probabilité.

α	0,001	0,000 1	0,000 01	0,000 001	0,000 000 1	0,000 000 01	0,000 000 001
ε	3,29053	3,89059	4,41717	4,89164	5,32672	5,73073	6,10941

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de *t* (*).



La table donne la probabilité α pour que *t* égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).

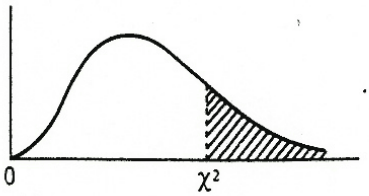
d.d.l. \ α	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
∞	0,126	0,674	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

Exemple : avec d.d.l. = 10, pour $t = 2{,}228$ la probabilité est $\alpha = 0{,}05$.

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de χ^2 (*).

La table donne la probabilité α pour que χ^2 égale ou dépasse une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).



d.d.l. \ α	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,0158	0,455	1,074	1,642	2,706	3,841	5,412	6,635	10,827
2	0,211	1,386	2,408	3,219	4,605	5,991	7,824	9,210	13,815
3	0,584	2,366	3,665	4,642	6,251	7,815	9,837	11,345	16,266
4	1,064	3,357	4,878	5,989	7,779	9,488	11,668	13,277	18,467
5	1,610	4,351	6,064	7,289	9,236	11,070	13,388	15,086	20,515
6	2,204	5,348	7,231	8,558	10,645	12,592	15,033	16,812	22,457
7	2,833	6,346	8,383	9,803	12,017	14,067	16,622	18,475	24,322
8	3,490	7,344	9,524	11,030	13,362	15,507	18,168	20,090	26,125
9	4,168	8,343	10,656	12,242	14,684	16,919	19,679	21,666	27,877
10	4,865	9,342	11,781	13,442	15,987	18,307	21,161	23,209	29,588
11	5,578	10,341	12,899	14,631	17,275	19,675	22,618	24,725	31,264
12	6,304	11,340	14,011	15,812	18,549	21,026	24,054	26,217	32,909
13	7,042	12,340	15,119	16,985	19,812	22,362	25,472	27,688	34,528
14	7,790	13,339	16,222	18,151	21,064	23,685	26,873	29,141	36,123
15	8,547	14,339	17,322	19,311	22,307	24,996	28,259	30,578	37,697
16	9,312	15,338	18,418	20,465	23,542	26,296	29,633	32,000	39,252
17	10,085	16,338	19,511	21,615	24,769	27,587	30,995	33,409	40,790
18	10,865	17,338	20,601	22,760	25,989	28,869	32,346	34,805	42,312
19	11,651	18,338	21,689	23,900	27,204	30,144	33,687	36,191	43,820
20	12,443	19,337	22,775	25,038	28,412	31,410	35,020	37,566	45,315
21	13,240	20,337	23,858	26,171	29,615	32,671	36,343	38,932	46,797
22	14,041	21,337	24,939	27,301	30,813	33,924	37,659	40,289	48,268
23	14,848	22,337	26,018	28,429	32,007	35,172	38,968	41,638	49,728
24	15,659	23,337	27,096	29,553	33,196	36,415	40,270	42,980	51,179
25	16,473	24,337	28,172	30,675	34,382	37,652	41,566	44,314	52,620
26	17,292	25,336	29,246	31,795	35,563	38,885	42,856	45,642	54,052
27	18,114	26,336	30,319	32,912	36,741	40,113	44,140	46,963	55,476
28	18,939	27,336	31,391	34,027	37,916	41,337	45,419	48,278	56,893
29	19,768	28,336	32,461	35,139	39,087	42,557	46,693	49,588	58,302
30	20,599	29,336	33,530	36,250	40,256	43,773	47,962	50,892	59,703

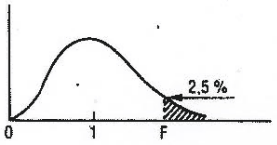
Exemple : avec d.d.l. = 3, pour $\chi^2 = 0{,}584$ la probabilité est $\alpha = 0{,}90$.

Quand le nombre de degrés de liberté est élevé, $\sqrt{2\,\chi^2}$ est à peu près distribué normalement autour de $\sqrt{2\,(\text{d.d.l.}) - 1}$ avec une variance égale à 1.

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de F (point 2,5 %) (*)

La table donne la limite supérieure de $F = \frac{s_A^2}{s_B^2}$, pour le risque 2,5 % (valeur ayant 2,5 chances sur 100 d'être égalée ou dépassée), en fonction des nombres de degrés de liberté l_A et l_B.



l_B \ l_A	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	647,8	799,5	864,2	899,6	921,8	937,1	948,2	956,7	963,3
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39
3	17,44	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,62	14,54	14,47
4	12,22	10,65	9,98	9,60	9,36	9,20	9,07	8,98	8,90
5	10,01	8,43	7,76	7,39	7,15	6,98	6,85	6,76	6,68
6	8,81	7,26	6,60	6,23	5,99	5,82	5,70	5,60	5,52
7	8,07	6,54	5,89	5,52	5,29	5,12	4,99	4,90	4,82
8	7,57	6,06	5,42	5,05	4,82	4,65	4,53	4,43	4,36
9	7,21	5,71	5,08	4,72	4,48	4,32	4,20	4,10	4,03
10	6,94	5,46	4,83	4,47	4,24	4,07	3,95	3,85	3,78
11	6,72	5,26	4,63	4,28	4,04	3,88	3,76	3,66	3,59
12	6,55	5,10	4,47	4,12	3,89	3,73	3,61	3,51	3,44
13	6,41	4,97	4,35	4,00	3,77	3,60	3,48	3,39	3,31
14	6,30	4,86	4,24	3,89	3,66	3,50	3,38	3,29	3,21
15	6,20	4,77	4,15	3,80	3,58	3,41	3,29	3,20	3,12
16	6,12	4,69	4,08	3,73	3,50	3,34	3,22	3,12	3,05
17	6,04	4,62	4,01	3,66	3,44	3,28	3,16	3,06	2,98
18	5,98	4,56	3,95	3,61	3,38	3,22	3,10	3,01	2,93
19	5,92	4,51	3,90	3,56	3,33	3,17	3,05	2,96	2,88
20	5,87	4,46	3,86	3,51	3,29	3,13	3,01	2,91	2,84
21	5,83	4,42	3,82	3,48	3,25	3,09	2,97	2,87	2,80
22	5,79	4,38	3,78	3,44	3,22	3,05	2,93	2,84	2,76
23	5,75	4,35	3,75	3,41	3,18	3,02	2,90	2,81	2,73
24	5,72	4,32	3,72	3,38	3,15	2,99	2,87	2,78	2,70
25	5,69	4,29	3,69	3,35	3,13	2,97	2,85	2,75	2,68
26	5,66	4,27	3,67	3,33	3,10	2,94	2,82	2,73	2,65
27	5,63	4,24	3,65	3,31	3,08	2,92	2,80	2,71	2,63
28	5,61	4,22	3,63	3,29	3,06	2,90	2,78	2,69	2,61
29	5,59	4,20	3,61	3,27	3,04	2,88	2,76	2,67	2,59
30	5,57	4,18	3,59	3,25	3,03	2,87	2,75	2,65	2,57
40	5,42	4,05	3,46	3,13	2,90	2,74	2,62	2,53	2,45
60	5,29	3,93	3,34	3,01	2,79	2,63	2,51	2,41	2,33
120	5,15	3,80	3,23	2,89	2,67	2,52	2,39	2,30	2,22
∞	5,02	3,69	3,12	2,79	2,57	2,41	2,29	2,19	2,11

l_B \ l_A	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	968,6	976,7	984,9	993,1	997,2	1001	1006	1010	1014	1018
2	39,40	39,41	39,43	39,45	39,46	39,46	39,47	39,48	39,49	39,50
3	14,42	14,34	14,25	14,17	14,12	14,08	14,04	13,99	13,95	13,90
4	8,84	8,75	8,66	8,56	8,51	8,46	8,41	8,36	8,31	8,26
5	6,62	6,52	6,43	6,33	6,28	6,23	6,18	6,12	6,07	6,02
6	5,46	5,37	5,27	5,17	5,12	5,07	5,01	4,96	4,90	4,85
7	4,76	4,67	4,57	4,47	4,42	4,36	4,31	4,25	4,20	4,14
8	4,30	4,20	4,10	4,00	3,95	3,89	3,84	3,78	3,73	3,67
9	3,96	3,87	3,77	3,67	3,61	3,56	3,51	3,45	3,39	3,33
10	3,72	3,62	3,52	3,42	3,37	3,31	3,26	3,20	3,14	3,08
11	3,53	3,43	3,33	3,23	3,17	3,12	3,06	3,00	2,94	2,88
12	3,37	3,28	3,18	3,07	3,02	2,96	2,91	2,85	2,79	2,72
13	3,25	3,15	3,05	2,95	2,89	2,84	2,78	2,72	2,66	2,60
14	3,15	3,05	2,95	2,84	2,79	2,73	2,67	2,61	2,55	2,49
15	3,06	2,96	2,86	2,76	2,70	2,64	2,59	2,52	2,46	2,40
16	2,99	2,89	2,79	2,68	2,63	2,57	2,51	2,45	2,38	2,32
17	2,92	2,82	2,72	2,62	2,56	2,50	2,44	2,38	2,32	2,25
18	2,87	2,77	2,67	2,56	2,50	2,44	2,38	2,32	2,26	2,19
19	2,82	2,72	2,62	2,51	2,45	2,39	2,33	2,27	2,20	2,13
20	2,77	2,68	2,57	2,46	2,41	2,35	2,29	2,22	2,16	2,09
21	2,73	2,64	2,53	2,42	2,37	2,31	2,25	2,18	2,11	2,04
22	2,70	2,60	2,50	2,39	2,33	2,27	2,21	2,14	2,08	2,00
23	2,67	2,57	2,47	2,36	2,30	2,24	2,18	2,11	2,04	1,97
24	2,64	2,54	2,44	2,33	2,27	2,21	2,15	2,08	2,01	1,94
25	2,61	2,51	2,41	2,30	2,24	2,18	2,12	2,05	1,98	1,91
26	2,59	2,49	2,39	2,28	2,22	2,16	2,09	2,03	1,95	1,88
27	2,57	2,47	2,36	2,25	2,19	2,13	2,07	2,00	1,93	1,85
28	2,55	2,45	2,34	2,23	2,17	2,11	2,05	1,98	1,91	1,83
29	2,53	2,43	2,32	2,21	2,15	2,09	2,03	1,96	1,89	1,81
30	2,51	2,41	2,31	2,20	2,14	2,07	2,01	1,94	1,87	1,79
40	2,39	2,29	2,18	2,07	2,01	1,94	1,88	1,80	1,72	1,64
60	2,27	2,17	2,06	1,94	1,88	1,82	1,74	1,67	1,58	1,48
120	2,16	2,05	1,94	1,82	1,76	1,69	1,61	1,53	1,43	1,31
∞	2,05	1,94	1,83	1,71	1,64	1,57	1,48	1,39	1,27	1,00

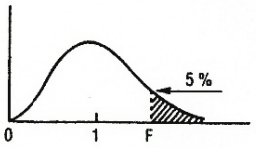
La valeur cherchée $F^{l_A}_{l_B}$ est lue à l'intersection de la colonne l_A et de la ligne l_B.

Exemple : pour les degrés de liberté $l_A = 6$, $l_B = 10$, la limite supérieure de F est $F^{6}_{10} = 4,07$.

(*) D'après E. S. Pearson et H. O. Hartley, Biometrika tables for statisticians, vol. 1, University Press, Cambridge.

Table de F (point 5 %) (*).

La table donne la limite supérieure de $F = \frac{{s_A}^2}{{s_B}^2}$, pour le risque 5 % (valeur ayant 5 chances sur 100 d'être égalée ou dépassée), en fonction des nombres de degrés de liberté l_A et l_B.



l_B \ l_A	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88

l_B \ l_A	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3
2	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
∞	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

La valeur cherchée $F^{l_A}_{l_B}$ est lue à l'intersection de la colonne l_A et de la ligne l_B.

Exemple : pour les degrés de liberté $l_A = 6$, $l_B = 10$, la limite supérieure de F est $F^{6}_{10} = 3{,}22$.

(*) D'après E.S. Pearson et H.O. Hartley, Biometrika tables for statisticians, vol. 1, University Press, Cambridge.

ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM
EPREUVE DE UELC INTERNAT 4

4ème année
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS A

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 4 fascicules + tables statistiques

Ce fascicule comprend :

- 10 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules + tables statistiques.

UELC Internat 4

QCM 1 : quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. Le calcul du nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique utilise la largeur des pics chromatographiques et la distance entre deux pics
B. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique est un indicateur de l'efficacité de la colonne
C. Si un pic chromatographique correspondant à un analyte donné devient de plus en plus large au fil des analyses, cela indique une augmentation du nombre de plateaux théoriques de la colonne chromatographique
D. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique présente la même valeur pour tous les analytes analysés sur cette colonne
E. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique peut varier en cas de changement de composition de la phase mobile

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes sur les méthodes quantitatives, indiquer celles qui sont exactes :

A. En étalonnage par ajouts dosés, des quantités croissantes du composé à doser sont ajoutées dans des aliquots d'échantillon
B. La méthode par étalonnage interne permet de corriger des biais survenant au cours de la préparation d'échantillon
C. L'étalonnage par ajouts dosés peut être utilisé pour des analyses par spectrométrie UV
D. L'étalonnage externe est utilisé pour des dosages dans des matrices complexes nécessitant plusieurs étapes de préparation d'échantillon
E. L'utilisation de contrôles internes de qualité permet de valider une gamme d'étalonnage

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes sur les méthodes quantitatives, indiquer celles qui sont exactes :

Le carbone 11 se désintègre en bore 11 par transformation isobarique de type beta+.
La masse de l'atome de carbone 11 est supérieure de 0,002 u à celle du bore 11.

A. L'énergie maximale des positons émis est de 0,841 MeV
B. Au cours de cette transformation, un neutron est transformé en proton
C. La désintégration par capture électronique est possible
D. A la suite de la transformation radioactive, on peut observer un photon de 0,511 MeV
E. Le neutrino émis à un spectre d'énergie continu

L'énoncé suivant concerne les QCM n°5 et 6.

L'enfant T, 14 ans, est admis aux urgences pour un syndrome fébrile, accompagné de vomissements. L'enfant est aréactif. Les examens biologiques complémentaires sont en faveur d'une méningite bactérienne, avec notamment la présence d'un coque à Gram négatif à l'examen direct.

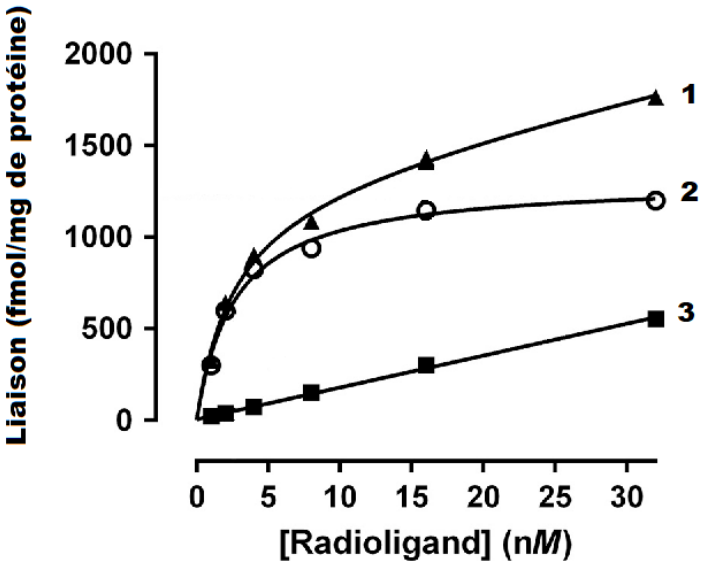
QCM 5 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. La formule leucocytaire du LCR a montré une très large majorité de polynucléaires.
B. L'examen cytochimique du LCR a mis en évidence une hyperprotéinorachie associée à une hyperglycorachie.
C. Compte tenu du contexte, les médecins s'orientent vers une méningite à *Haemophilus influenzae.*
D. La réalisation d'un hémogramme et d'un bilan de coagulation est impérative.
E. Compte tenu de l'urgence, les médecins ont instauré le traitement antibiotique avant même la réception de l'antibiogramme.

QCM 6 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. L'identification du germe peut se faire par biologie moléculaire, directement sur le prélèvement.
B. Le traitement standard d'une méningite liée à la bactérie en cause dans ce cas repose sur l'administration intraveineuse de gentamicine et d'amoxicilline pendant 7 jours.
C. Une antibioprophylaxie par rifampicine pourra être proposée pour les éventuels sujets contact.
D. Il existe des vaccins permettant une prévention contre certaines souches de l'espèce bactérienne en cause dans la méningite de l'enfant T.
E. Une hypofibrinogénémie associée à une thrombocytose, un allongement du temps de Quick et du TCA est en faveur d'un diagnostic de CIVD

QCM 7 : Le graphe ci-dessous montre les résultats d'une étude de liaison d'un radioligand avec des membranes surexprimant le récepteur étudié. La courbe 1 est obtenue en utilisant des concentrations croissantes du radioligand et la courbe 3 est obtenue en répétant la même expérience mais en ajoutant une molécule compétitrice non radioactive et en excès.



Parmi les propositions ci-dessous, indiquez la réponse exacte :

A. La liaison spécifique du radioligand est représentée par la courbe 1
B. L'axe des ordonnées indique la liaison spécifique du radioligand
C. La liaison spécifique du radioligand est obtenue en soustrayant la courbe 3 à la courbe 1
D. A partir de ces résultats nous pouvons mesurer graphiquement le K_D qui vaut Bmax/2
E. Le K_D sera d'autant plus élevé que l'affinité du radioligand sera forte

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celle qui est exacte :

A. Une base est une molécule capable de libérer un ion hydrogène H^+
B. L'équation d'Hendersson-Hasselbalch s'applique pour le calcul du pH d'une base seule en solution aqueuse
C. Le calcul de la molarité d'une solution tampon est effectué en prenant en compte les concentrations de l'acide et de sa base conjuguée ainsi que les concentrations des ions présents en solution
D. En cas de présence d'une base d'un couple et d'une base forte d'un autre couple dans une solution, il n'y a pas de réaction chimique
E. Pour un couple acide/base donné en solution aqueuse, à pH = pKa + 1, il y a autant de base que d'acide dans la solution

L'énoncé suivant concerne les QCM n°9 et 10.
Mr G., 62 ans, consulte aux urgences pour une brusque altération de l'état général. Il présente un syndrome diarrhéique très sévère qui a commencé lors de son retour d'un voyage dans une région reculée, où il était recommandé de ne pas boire l'eau du robinet. Il présente un signe du pli cutané net accompagné d'une tachycardie, ainsi qu'une hyperventilation. Il faut noter que Mr G. avait une créatininémie à 68 µM le lendemain de son retour de voyage (bilan prévu de longue date).
Voici les résultats obtenus 7 jours plus tard à l'hôpital :

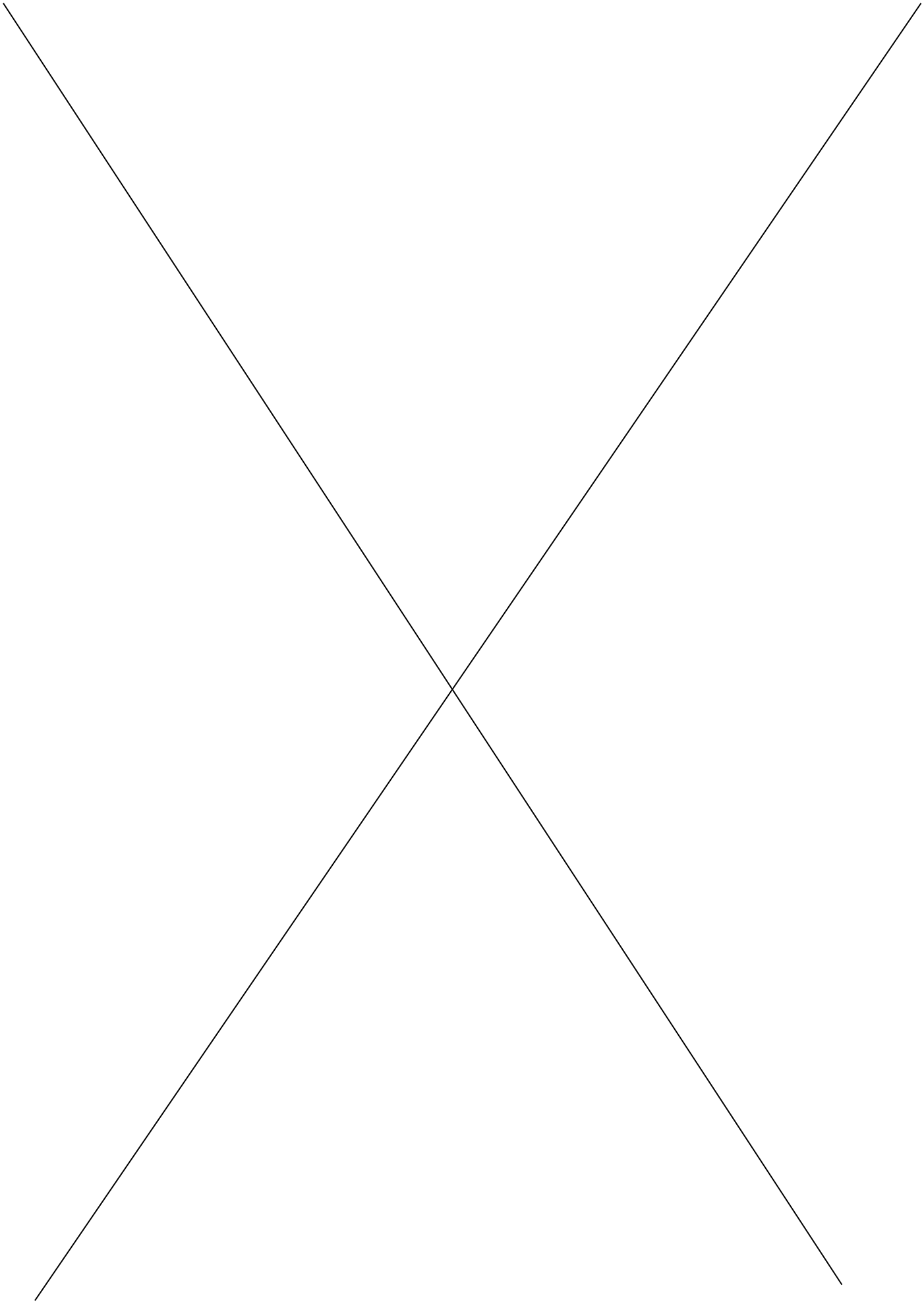
		Valeurs usuelles
Ionogramme plasmatique		
Aspect :	Normal sans hémolyse	
Sodium	140 mmol/L	135 - 145
Potassium :	2,9 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	112 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	18 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	85 g/L	65 – 80
Calcium	2,73 mmol/L	2,2 – 2,6
Phosphore	1,1 mmol/L	0,8 – 1,4
Urée	15 mmol/L	2,5 – 7,5
Créatinine	123 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	54 mL/min/1.73 m^2	> 90
Glycémie	4,5 mmol/L	3,9-5,5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,26	7,35 – 7,45
pCO2 :	28 mmHg	35 – 45
pO2 :	95 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	0,1 g/24h	< 0,15
Sodium :	15 mmol/L	
Potassium :	30 mmol/L	

QCM 9 : Quelles sont les réponses exactes à propos de ce cas clinico-biologique ?

A. D'après les signes cliniques et biologiques, Mr G. présente une déshydratation intracellulaire.
B. D'après les signes cliniques et biologiques, Mr G présente une acidose métabolique.
C. L'hypokaliémie semble, au moins en partie, liée à la diminution du DFG.
D. L'hypokaliémie semble, au moins en partie, liée à des pertes digestives.
E. L'hyperventilation est un mécanisme de compensation de l'acidose respiratoire.

QCM 10 : Quelles sont les réponses exactes à propos de ce cas clinico-biologique ?

A. Le trou anionique est normal (12-16 mmol/L) donc l'acidose est liée à une accumulation de molécules acides.
B. La baisse des bicarbonates est liée à des pertes digestives.
C. L'hyperchlorémie permet de maintenir l'électroneutralité du plasma malgré la baisse des bicarbonates.
D. Le rapport sodium/potassium au niveau urinaire indique que le système rénine-angiotensine-aldostérone est probablement activé.
E. D'après le contexte, les signes cliniques et biologiques, Mr G. présente probablement une insuffisance rénale aigue organique.



ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon

FASCICULE DE QCM
EPREUVE DE UELC INTERNAT 4

4ème année
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

Les questions sont présentes dans un ordre différent selon les fascicules. Ce jeu de questions correspond au

JEU DE QUESTIONS B

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 4 fascicules + tables statistiques

Ce fascicule comprend :

- 10 QCM

A répondre sur fiche adéquate avec un feutre ou stylo bille NOIR
Attention ! Ne pas utiliser les stylos billes ou encre effaçables

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 pages numérotées de 1 à 5.

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de 4 fascicules + tables statistiques.

UELC Internat 4

QCM 1 : quel est le jeu de question auquel vous répondez ? Voir page de garde de votre fascicule.

A- Jeu de questions A
B- Jeu de questions B

QCM 2 : Parmi les propositions suivantes sur les méthodes quantitatives, indiquer celles qui sont exactes :

A. En étalonnage par ajouts dosés, des quantités croissantes du composé à doser sont ajoutées dans des aliquots d'échantillon
B. La méthode par étalonnage interne permet de corriger des biais survenant au cours de la préparation d'échantillon
C. L'étalonnage par ajouts dosés peut être utilisé pour des analyses par spectrométrie UV
D. L'étalonnage externe est utilisé pour des dosages dans des matrices complexes nécessitant plusieurs étapes de préparation d'échantillon
E. L'utilisation de contrôles internes de qualité permet de valider une gamme d'étalonnage

QCM 3 : Parmi les propositions suivantes sur les méthodes quantitatives, indiquer celles qui sont exactes :

Le carbone 11 se désintègre en bore 11 par transformation isobarique de type beta+.
La masse de l'atome de carbone 11 est supérieure de 0,002 u à celle du bore 11.

A. L'énergie maximale des positons émis est de 0,841 MeV
B. Au cours de cette transformation, un neutron est transformé en proton
C. La désintégration par capture électronique est possible
D. A la suite de la transformation radioactive, on peut observer un photon de 0,511 MeV
E. Le neutrino émis à un spectre d'énergie continu

QCM 4 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. Le calcul du nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique utilise la largeur des pics chromatographiques et la distance entre deux pics
B. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique est un indicateur de l'efficacité de la colonne
C. Si un pic chromatographique correspondant à un analyte donné devient de plus en plus large au fil des analyses, cela indique une augmentation du nombre de plateaux théoriques de la colonne chromatographique
D. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique présente la même valeur pour tous les analytes analysés sur cette colonne
E. Le nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique peut varier en cas de changement de composition de la phase mobile

L'énoncé suivant concerne les QCM n°5 et 6.
Mr G., 62 ans, consulte aux urgences pour une brusque altération de l'état général. Il présente un syndrome diarrhéique très sévère qui a commencé lors de son retour d'un voyage dans une région reculée, où il était recommandé de ne pas boire l'eau du robinet. Il présente un signe du pli cutané net accompagné d'une tachycardie, ainsi qu'une hyperventilation. Il faut noter que Mr G. avait une créatininémie à 68 µM le lendemain de son retour de voyage (bilan prévu de longue date).
Voici les résultats obtenus 7 jours plus tard à l'hôpital :

		Valeurs usuelles
Ionogramme plasmatique		
Aspect :	Normal sans hémolyse	
Sodium	140 mmol/L	135 - 145
Potassium :	2,9 mmol/L	3,5 – 4,5
Chlore :	112 mmol/L	95-105
Bicarbonates :	18 mmol/L	23 - 27
Protéines plasmatiques totales :	85 g/L	65 – 80
Calcium	2,73 mmol/L	2,2 – 2,6
Phosphore	1,1 mmol/L	0,8 – 1,4
Urée	15 mmol/L	2,5 – 7,5
Créatinine	123 µmol/L	60-115
DFG (CKD-EPI)	54 mL/min/1.73 m^2	> 90
Glycémie	4,5 mmol/L	3,9-5,5
Gaz du sang artériel		
pH :	7,26	7,35 – 7,45
pCO2 :	28 mmHg	35 – 45
pO2 :	95 mmHg	80 - 100
Urines		
Protéinurie :	0,1 g/24h	< 0,15
Sodium :	15 mmol/L	
Potassium :	30 mmol/L	

QCM 5 : Quelles sont les réponses exactes à propos de ce cas clinico-biologique ?

A. D'après les signes cliniques et biologiques, Mr G. présente une déshydratation intracellulaire.
B. D'après les signes cliniques et biologiques, Mr G présente une acidose métabolique.
C. L'hypokaliémie semble, au moins en partie, liée à la diminution du DFG.
D. L'hypokaliémie semble, au moins en partie, liée à des pertes digestives.
E. L'hyperventilation est un mécanisme de compensation de l'acidose respiratoire.

QCM 6 : Quelles sont les réponses exactes à propos de ce cas clinico-biologique ?

A. Le trou anionique est normal (12-16 mmol/L) donc l'acidose est liée à une accumulation de molécules acides.
B. La baisse des bicarbonates est liée à des pertes digestives.
C. L'hyperchlorémie permet de maintenir l'électroneutralité du plasma malgré la baisse des bicarbonates.
D. Le rapport sodium/potassium au niveau urinaire indique que le système rénine-angiotensine-aldostérone est probablement activé.
E. D'après le contexte, les signes cliniques et biologiques, Mr G. présente probablement une insuffisance rénale aigue organique.

L'énoncé suivant concerne les QCM n°7 et 8.

L'enfant T, 14 ans, est admis aux urgences pour un syndrome fébrile, accompagné de vomissements. L'enfant est aréactif. Les examens biologiques complémentaires sont en faveur d'une méningite bactérienne, avec notamment la présence d'un coque à Gram négatif à l'examen direct.

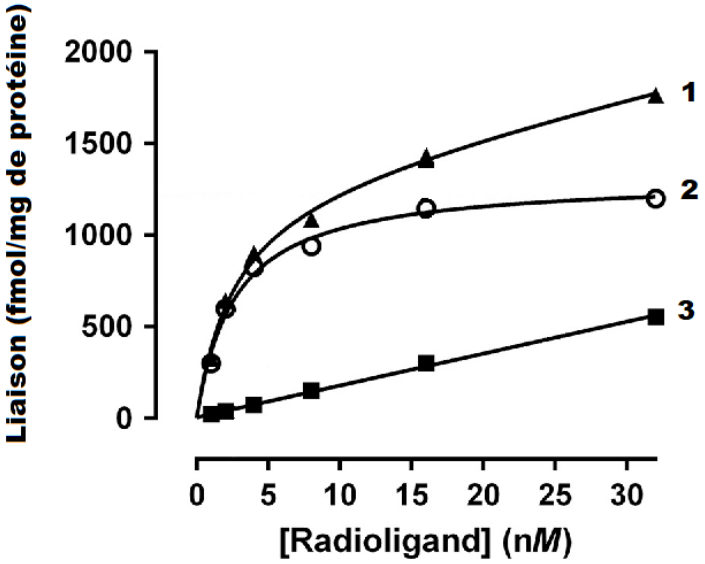
QCM 7 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. La formule leucocytaire du LCR a montré une très large majorité de polynucléaires.
B. L'examen cytochimique du LCR a mis en évidence une hyperprotéinorachie associée à une hyperglycorachie.
C. Compte tenu du contexte, les médecins s'orientent vers une méningite à *Haemophilus influenzae.*
D. La réalisation d'un hémogramme et d'un bilan de coagulation est impérative.
E. Compte tenu de l'urgence, les médecins ont instauré le traitement antibiotique avant même la réception de l'antibiogramme.

QCM 8 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celles qui sont exactes :

A. L'identification du germe peut se faire par biologie moléculaire, directement sur le prélèvement.
B. Le traitement standard d'une méningite liée à la bactérie en cause dans ce cas repose sur l'administration intraveineuse de gentamicine et d'amoxicilline pendant 7 jours.
C. Une antibioprophylaxie par rifampicine pourra être proposée pour les éventuels sujets contact.
D. Il existe des vaccins permettant une prévention contre certaines souches de l'espèce bactérienne en cause dans la méningite de l'enfant T.
E. Une hypofibrinogénémie associée à une thrombocytose, un allongement du temps de Quick et du TCA est en faveur d'un diagnostic de CIVD

QCM 9 : Le graphe ci-dessous montre les résultats d'une étude de liaison d'un radioligand avec des membranes surexprimant le récepteur étudié. La courbe 1 est obtenue en utilisant des concentrations croissantes du radioligand et la courbe 3 est obtenue en répétant la même expérience mais en ajoutant une molécule compétitrice non radioactive et en excès.

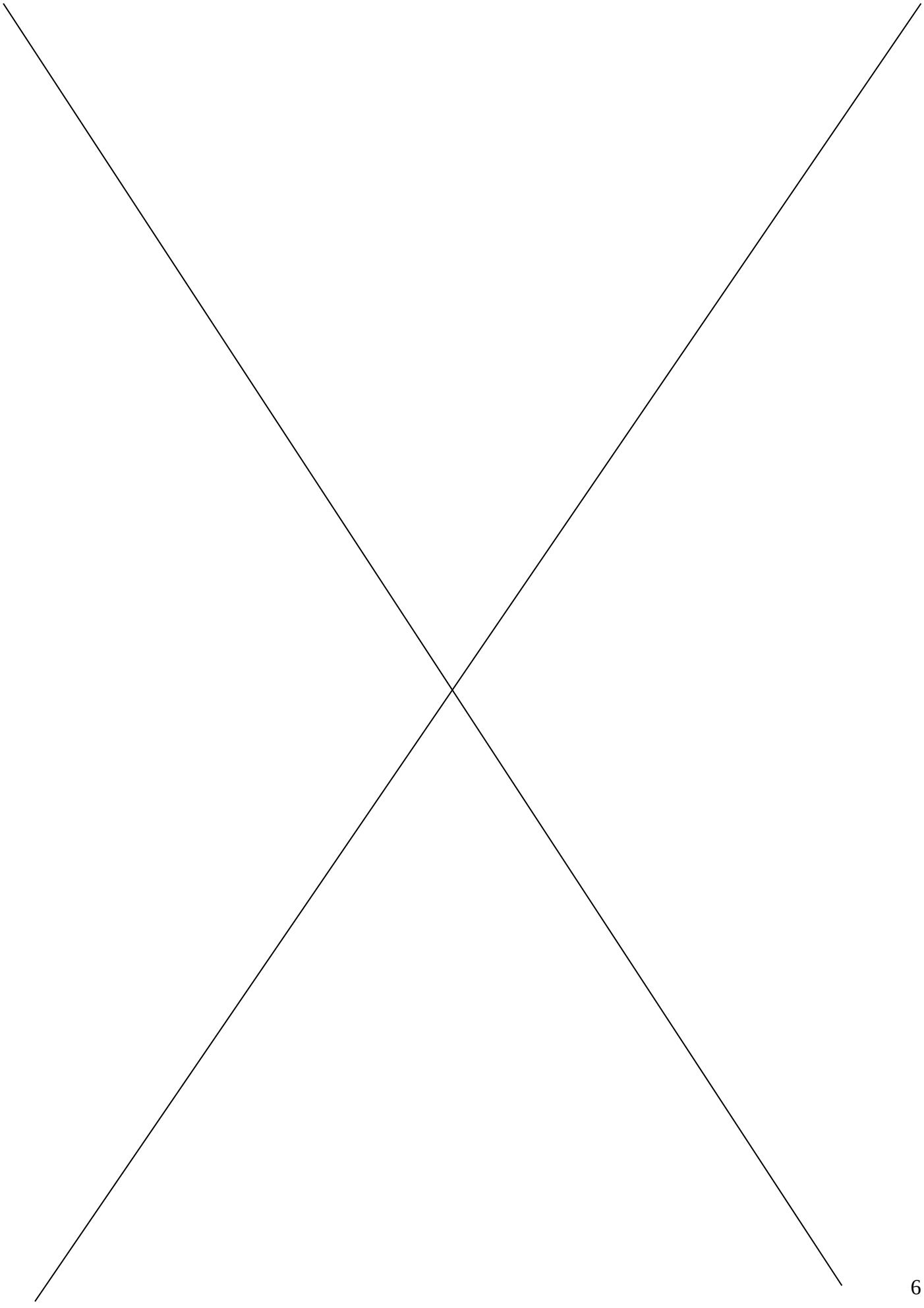


Parmi les propositions ci-dessous, indiquez la réponse exacte :

A. La liaison spécifique du radioligand est représentée par la courbe 1
B. L'axe des ordonnées indique la liaison spécifique du radioligand
C. La liaison spécifique du radioligand est obtenue en soustrayant la courbe 3 à la courbe 1
D. A partir de ces résultats nous pouvons mesurer graphiquement le K_D qui vaut Bmax/2
E. Le K_D sera d'autant plus élevé que l'affinité du radioligand sera forte

QCM 10 : Parmi les propositions suivantes, indiquer celle qui est exacte :

A. Une base est une molécule capable de libérer un ion hydrogène H^+
B. L'équation d'Hendersson-Hasselbalch s'applique pour le calcul du pH d'une base seule en solution aqueuse
C. Le calcul de la molarité d'une solution tampon est effectué en prenant en compte les concentrations de l'acide et de sa base conjuguée ainsi que les concentrations des ions présents en solution
D. En cas de présence d'une base d'un couple et d'une base forte d'un autre couple dans une solution, il n'y a pas de réaction chimique
E. Pour un couple acide/base donné en solution aqueuse, à pH = pKa + 1, il y a autant de base que d'acide dans la solution



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

FASCICULE n° 1 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 4 fascicules + tables statistiques

Ce fascicule n°1 comprend :

- 1 exercice

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4 + tables statistiques.

Correcteur : M.Bolon Larger

ENONCE

Un antibiotique est administré par perfusion intraveineuse à un homme de 43 ans, 80 kg. Dans le RCP du médicament, les informations suivantes sont données : demi-vie d'élimination de 2 heures, volume de distribution de 1,25 L/kg, concentration efficace de 14 mg/L. Le médicament est commercialisé sous forme d'ampoules de 5 mL à la concentration de 150 mg/mL.

QUESTION 1

Quelle vitesse de perfusion recommandez-vous en mg/h et en mL/h ?

QUESTION 2

Les concentrations plasmatiques du médicament chez ce patient sont mesurées : 12 heures après le début de la perfusion, la concentration est de 16,1 mg/L, 16 heures après le début de la perfusion, la concentration est de 16,3 mg/L, 24 heures après le début de la perfusion, la concentration est de 16,5 mg/L.

QUESTION 2.1. Calculer la clairance totale du médicament chez ce patient.

QUESTION 2.2. Calculer la demi-vie d'élimination du médicament chez ce patient.

QUESTION 3

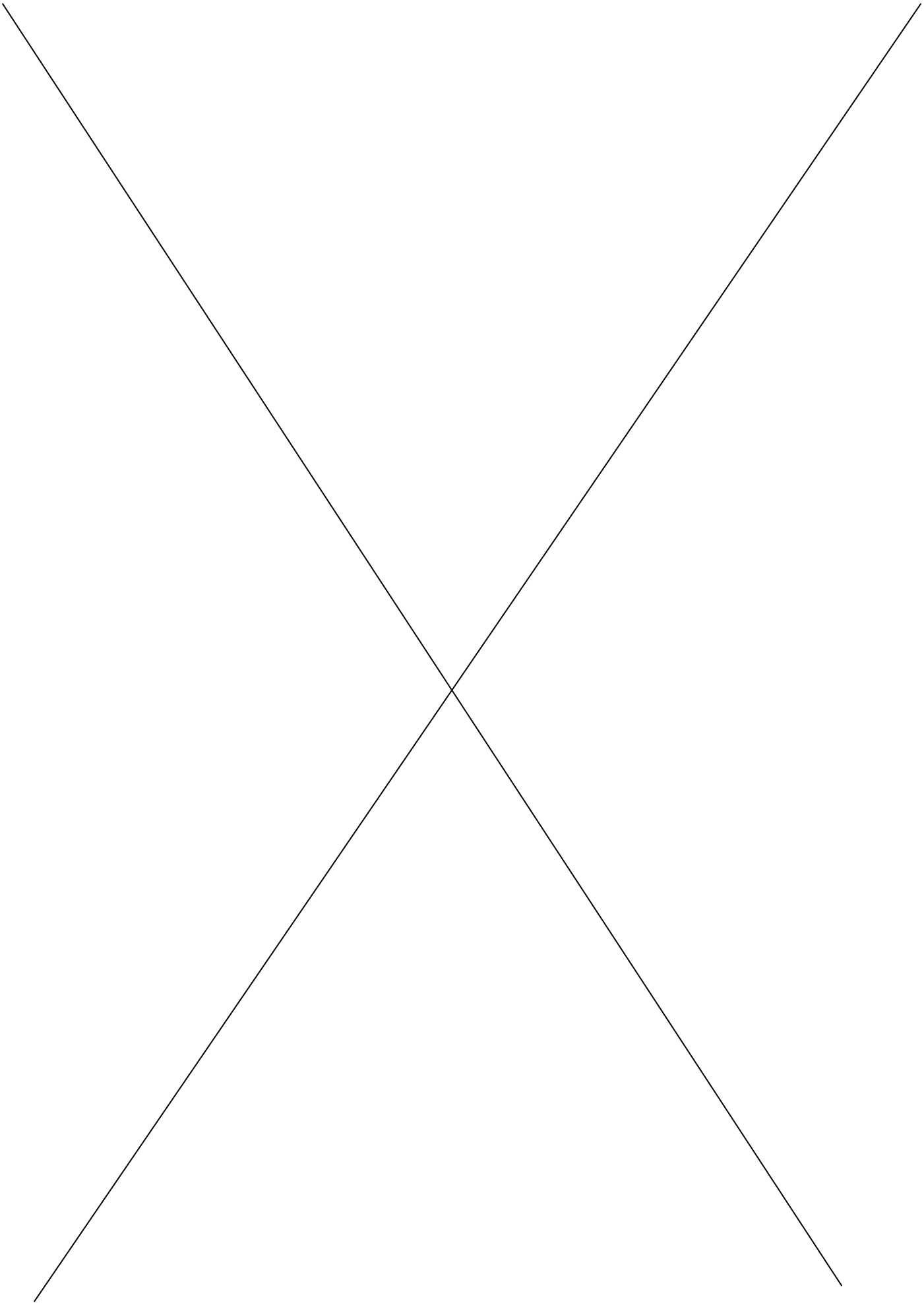
Ecrire l'équation de la courbe concentration en fonction du temps chez ce patient.

QUESTION 4

L'administration d'une dose de charge est-elle nécessaire ici ? Justifier votre réponse. Si oui, calculer la dose de charge.

QUESTION 5

Pourquoi administre-t-on parfois une dose de charge plutôt que d'augmenter la dose ou la vitesse de perfusion ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

FASCICULE n° 2 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 4 fascicules + tables statistiques

Ce fascicule n°2 comprend :

- 1 dossier thérapeutique et biologique

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 pages numérotées de 1 à 8.

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4 + tables statistiques.

Correcteur : Y. Jourdy

ENONCE

Madame S consulte aux urgences pédiatriques car son fils Lucas (16 mois) présente un saignement persistant depuis 48h au niveau d'une plaie du doigt de la main qui est apparu suite à un coupage des ongles. A l'interrogatoire, madame S indique que Lucas marche depuis l'âge de 13 mois et qu'il a une tendance à faire des ecchymoses suite à des chutes de sa hauteur. Elle indique aussi que le fils de sa sœur aurait une maladie de la coagulation (sans plus de précision).
Un bilan biologique est prescrit à Lucas :

Numération de formule sanguine

Sg Erythrocytes :	4,68	T/L
Sg Hématocrite :	0,42	
Sg Hémoglobine :	135	g/L
Sg Leucocytes :	7,84	G/L
Sg Plaquettes :	352	G/L

Formule leucocytaire (valeurs relatives):

Polynucléaires neutrophiles :	0,65
Polynucléaires éosinophiles :	0,03
Polynucléaires basophiles :	0,00
Lymphocytes :	0,25
Monocytes :	0,07

Bilan de coagulation :

Pl Temps de céphaline avec activateur :	45 sec (témoin 32 sec)
Pl Activité du complexe prothrombinique :	86 %
Pl Fibrinogène :	3,76 g/L

QUESTION 1

Interprétez le bilan biologique

QUESTION 2

Devant ce bilan biologique, quel est l'examen complémentaire à réaliser en première intention et comment l'interpréter ? En fonction des résultats possibles, énoncer les différents diagnostics possibles et les tests complémentaires de seconde intention à réaliser.

Suite au test réalisé à la question 2, des examens complémentaires sont prescrits, en voici les résultats :

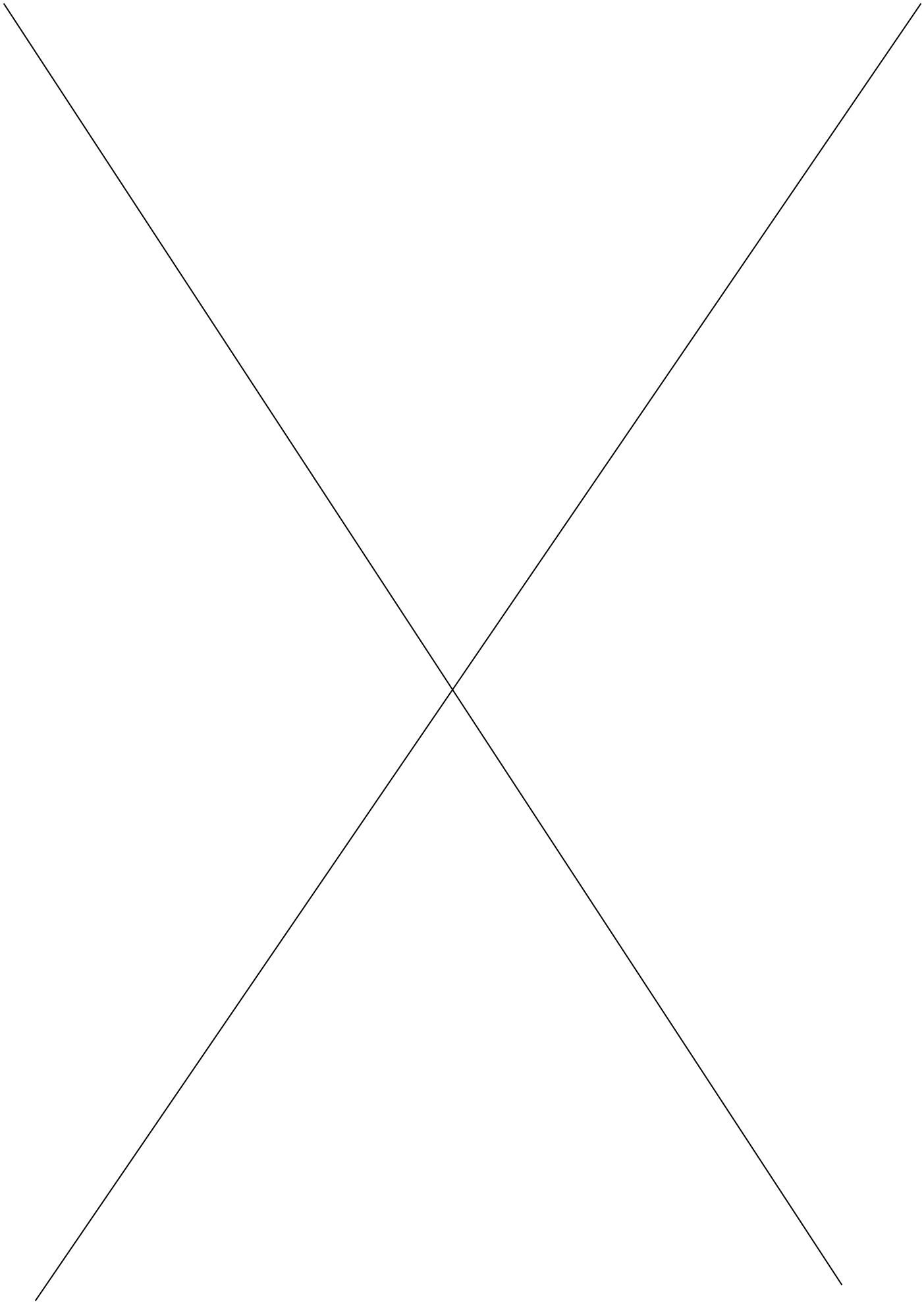
Pl Activité coagulante du FVIII	15%	(50-150%)
Pl Activité coagulante du FIX	96%	(50-150%)
Pl Activité coagulante du FXI	103%	(50-150%)
Pl Activité coagulante du FXII	95%	(50-150%)

QUESTION 3

A l'aide du contexte clinique et du bilan biologique, quels sont les diagnostics à évoquer ? Quels examens complémentaires seraient nécessaire pour préciser le diagnostic ? En prenant en compte les antécédents familiaux de Lucas, quel est diagnostic le plus probable ?

QUESTION 4

Le diagnostic le plus probable évoquer à la question 3 est confirmé. Quelles sont les modalités thérapeutiques de cette pathologie ? Citez les différentes familles de médicaments disponibles et les principaux effets indésirables.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Internat 4*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

Note

EPREUVE DE *UELC Internat 4*

DFASP1
Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

FASCICULE n° 3 (de 1 à 4)

DUREE DE L'EPREUVE : 2 heures, comprenant 4 fascicules + tables statistiques

Ce fascicule n°3 comprend :

- 1 exercice

Calculatrice : autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 6 pages numérotées de 1 à 6

J'ai bien vérifié qu'en début d'épreuve, je suis bien en possession de fascicule(s) numéroté(s) de 1 à 4 + tables statistiques.

Correcteur : MP. Gustin

ENONCE

Une étude dans un service hospitalier de jour a pour objectif d'étudier l'influence de la prise en charge des diabétiques de type 2 sur la sévérité de leur diabète. Dans le cadre de cette étude, la mesure de l'hémoglobine glyquée (taux d'HbG en %) est collectée chez 8 patients à deux occasions : le jour de leur premier rendez-vous (1° rdv) à l'hôpital de jour et 3 mois plus tard. Les résultats sont résumés ci-dessous :

Patient	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
HbG (%) au 1° rdv	8.5	8.5	7.4	9.8	7.8	6.5	12.6	7.6
HbG (%) à 3 mois	7.7	11.3	8	7.9	6.3	5.3	10.8	7

Peut-on dire que la ***diminution*** de l'hémoglobine glyquée au bout de 3 mois de suivi est significative dans ce groupe de patients ? Vous prendrez un risque d'erreur alpha de 5%.

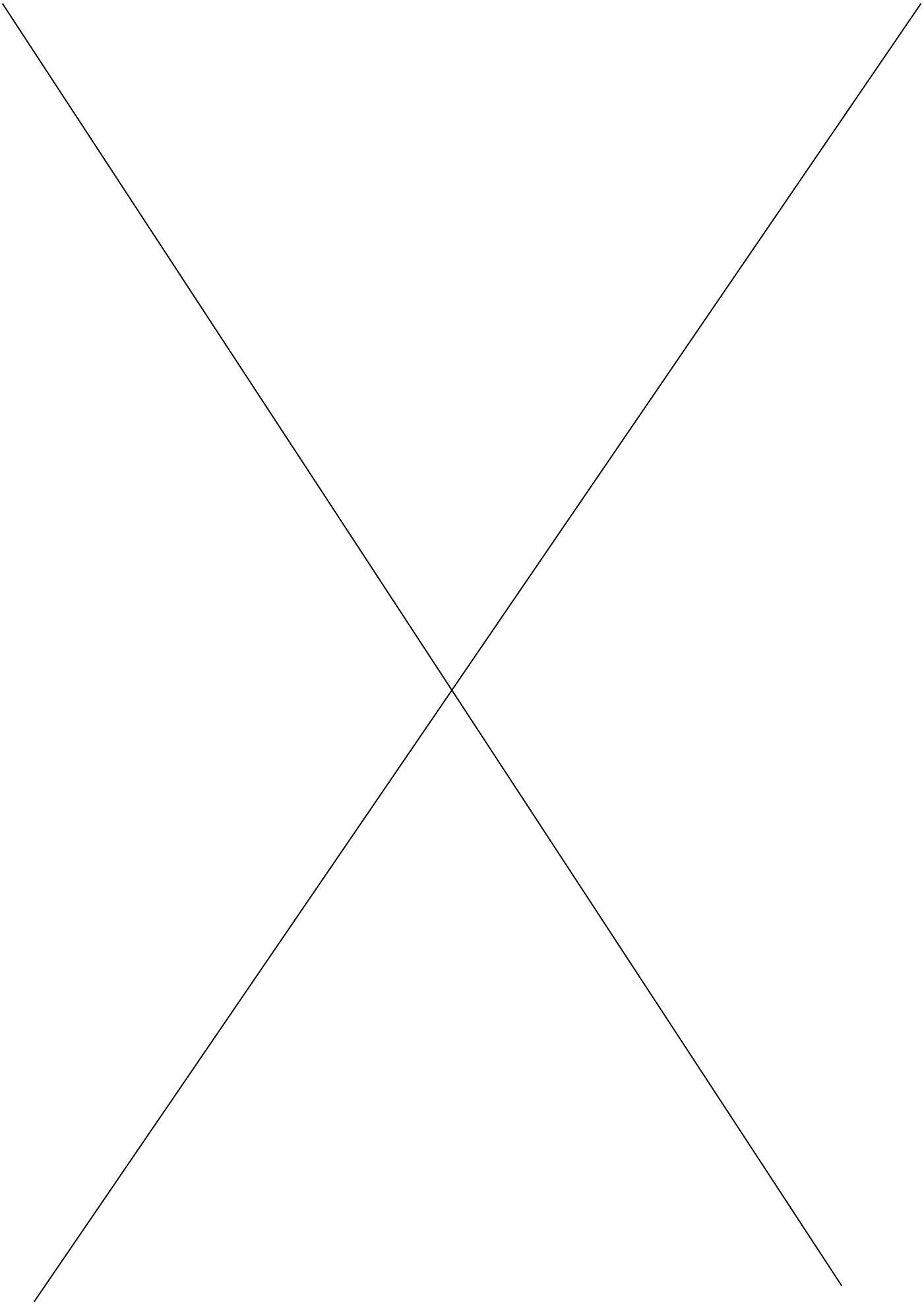
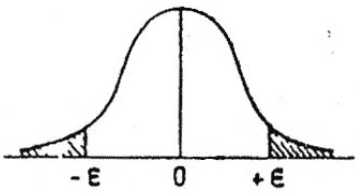


Table de l'écart-réduit (loi normale) (*).

La table donne la probabilité α pour que l'écart-réduit égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée ε, c'est-à-dire la probabilité extérieure à l'intervalle $(-\varepsilon, +\varepsilon)$.



α	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,00	∞	2,576	2,326	2,170	2,054	1,960	1,881	1,812	1,751	1,695
0,10	1,645	1,598	1,555	1,514	1,476	1,440	1,405	1,372	1,341	1,311
0,20	1,282	1,254	1,227	1,200	1,175	1,150	1,126	1,103	1,080	1,058
0,30	1,036	1,015	0,994	0,974	0,954	0,935	0,915	0,896	0,878	0,860
0,40	0,842	0,824	0,806	0,789	0,772	0,755	0,739	0,722	0,706	0,690
0,50	0,674	0,659	0,643	0,628	0,613	0,598	0,583	0,568	0,553	0,539
0,60	0,524	0,510	0,496	0,482	0,468	0,454	0,440	0,426	0,412	0,399
0,70	0,385	0,372	0,358	0,345	0,332	0,319	0,305	0,292	0,279	0,266
0,80	0,253	0,240	0,228	0,215	0,202	0,189	0,176	0,164	0,151	0,138
0,90	0,126	0,113	0,100	0,088	0,075	0,063	0,050	0,038	0,025	0,013

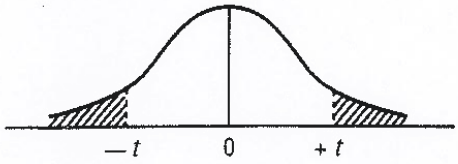
La probabilité α s'obtient par addition des nombres inscrits en marge.
Exemple : pour $\varepsilon = 1{,}960$ la probabilité est $\alpha = 0{,}00 + 0{,}05 = 0{,}05$.

Table pour les petites valeurs de la probabilité.

α	0,001	0,000 1	0,000 01	0,000 001	0,000 000 1	0,000 000 01	0,000 000 001
ε	3,29053	3,89059	4,41717	4,89164	5,32672	5,73073	6,10941

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de *t* (*).



La table donne la probabilité α pour que *t* égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).

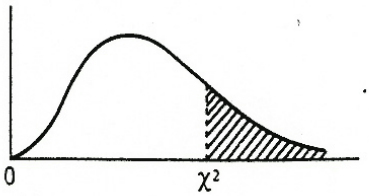
d.d.l. \ α	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
∞	0,126	0,674	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

Exemple : avec d.d.l. = 10, pour $t = 2{,}228$ la probabilité est $\alpha = 0{,}05$.

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de χ^2 (*).

La table donne la probabilité α pour que χ^2 égale ou dépasse une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (d.d.l.).



d.d.l. \ α	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,0158	0,455	1,074	1,642	2,706	3,841	5,412	6,635	10,827
2	0,211	1,386	2,408	3,219	4,605	5,991	7,824	9,210	13,815
3	0,584	2,366	3,665	4,642	6,251	7,815	9,837	11,345	16,266
4	1,064	3,357	4,878	5,989	7,779	9,488	11,668	13,277	18,467
5	1,610	4,351	6,064	7,289	9,236	11,070	13,388	15,086	20,515
6	2,204	5,348	7,231	8,558	10,645	12,592	15,033	16,812	22,457
7	2,833	6,346	8,383	9,803	12,017	14,067	16,622	18,475	24,322
8	3,490	7,344	9,524	11,030	13,362	15,507	18,168	20,090	26,125
9	4,168	8,343	10,656	12,242	14,684	16,919	19,679	21,666	27,877
10	4,865	9,342	11,781	13,442	15,987	18,307	21,161	23,209	29,588
11	5,578	10,341	12,899	14,631	17,275	19,675	22,618	24,725	31,264
12	6,304	11,340	14,011	15,812	18,549	21,026	24,054	26,217	32,909
13	7,042	12,340	15,119	16,985	19,812	22,362	25,472	27,688	34,528
14	7,790	13,339	16,222	18,151	21,064	23,685	26,873	29,141	36,123
15	8,547	14,339	17,322	19,311	22,307	24,996	28,259	30,578	37,697
16	9,312	15,338	18,418	20,465	23,542	26,296	29,633	32,000	39,252
17	10,085	16,338	19,511	21,615	24,769	27,587	30,995	33,409	40,790
18	10,865	17,338	20,601	22,760	25,989	28,869	32,346	34,805	42,312
19	11,651	18,338	21,689	23,900	27,204	30,144	33,687	36,191	43,820
20	12,443	19,337	22,775	25,038	28,412	31,410	35,020	37,566	45,315
21	13,240	20,337	23,858	26,171	29,615	32,671	36,343	38,932	46,797
22	14,041	21,337	24,939	27,301	30,813	33,924	37,659	40,289	48,268
23	14,848	22,337	26,018	28,429	32,007	35,172	38,968	41,638	49,728
24	15,659	23,337	27,096	29,553	33,196	36,415	40,270	42,980	51,179
25	16,473	24,337	28,172	30,675	34,382	37,652	41,566	44,314	52,620
26	17,292	25,336	29,246	31,795	35,563	38,885	42,856	45,642	54,052
27	18,114	26,336	30,319	32,912	36,741	40,113	44,140	46,963	55,476
28	18,939	27,336	31,391	34,027	37,916	41,337	45,419	48,278	56,893
29	19,768	28,336	32,461	35,139	39,087	42,557	46,693	49,588	58,302
30	20,599	29,336	33,530	36,250	40,256	43,773	47,962	50,892	59,703

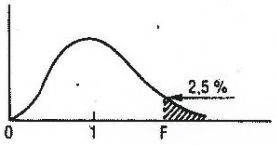
Exemple : avec d.d.l. = 3, pour $\chi^2 = 0{,}584$ la probabilité est $\alpha = 0{,}90$.

Quand le nombre de degrés de liberté est élevé, $\sqrt{2\,\chi^2}$ est à peu près distribué normalement autour de $\sqrt{2\,(\text{d.d.l.}) - 1}$ avec une variance égale à 1.

(*) D'après Fisher et Yates, Statistical tables for biological, agricultural, and medical research (Oliver and Boyd, Edinburgh).

Table de F (point 2,5 %) (*)

La table donne la limite supérieure de $F = \frac{s_A^2}{s_B^2}$, pour le risque 2,5 % (valeur ayant 2,5 chances sur 100 d'être égalée ou dépassée), en fonction des nombres de degrés de liberté l_A et l_B.



l_B \ l_A	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	647,8	799,5	864,2	899,6	921,8	937,1	948,2	956,7	963,3
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39
3	17,44	16,04	15,44	15,10	14,88	14,73	14,62	14,54	14,47
4	12,22	10,65	9,98	9,60	9,36	9,20	9,07	8,98	8,90
5	10,01	8,43	7,76	7,39	7,15	6,98	6,85	6,76	6,68
6	8,81	7,26	6,60	6,23	5,99	5,82	5,70	5,60	5,52
7	8,07	6,54	5,89	5,52	5,29	5,12	4,99	4,90	4,82
8	7,57	6,06	5,42	5,05	4,82	4,65	4,53	4,43	4,36
9	7,21	5,71	5,08	4,72	4,48	4,32	4,20	4,10	4,03
10	6,94	5,46	4,83	4,47	4,24	4,07	3,95	3,85	3,78
11	6,72	5,26	4,63	4,28	4,04	3,88	3,76	3,66	3,59
12	6,55	5,10	4,47	4,12	3,89	3,73	3,61	3,51	3,44
13	6,41	4,97	4,35	4,00	3,77	3,60	3,48	3,39	3,31
14	6,30	4,86	4,24	3,89	3,66	3,50	3,38	3,29	3,21
15	6,20	4,77	4,15	3,80	3,58	3,41	3,29	3,20	3,12
16	6,12	4,69	4,08	3,73	3,50	3,34	3,22	3,12	3,05
17	6,04	4,62	4,01	3,66	3,44	3,28	3,16	3,06	2,98
18	5,98	4,56	3,95	3,61	3,38	3,22	3,10	3,01	2,93
19	5,92	4,51	3,90	3,56	3,33	3,17	3,05	2,96	2,88
20	5,87	4,46	3,86	3,51	3,29	3,13	3,01	2,91	2,84
21	5,83	4,42	3,82	3,48	3,25	3,09	2,97	2,87	2,80
22	5,79	4,38	3,78	3,44	3,22	3,05	2,93	2,84	2,76
23	5,75	4,35	3,75	3,41	3,18	3,02	2,90	2,81	2,73
24	5,72	4,32	3,72	3,38	3,15	2,99	2,87	2,78	2,70
25	5,69	4,29	3,69	3,35	3,13	2,97	2,85	2,75	2,68
26	5,66	4,27	3,67	3,33	3,10	2,94	2,82	2,73	2,65
27	5,63	4,24	3,65	3,31	3,08	2,92	2,80	2,71	2,63
28	5,61	4,22	3,63	3,29	3,06	2,90	2,78	2,69	2,61
29	5,59	4,20	3,61	3,27	3,04	2,88	2,76	2,67	2,59
30	5,57	4,18	3,59	3,25	3,03	2,87	2,75	2,65	2,57
40	5,42	4,05	3,46	3,13	2,90	2,74	2,62	2,53	2,45
60	5,29	3,93	3,34	3,01	2,79	2,63	2,51	2,41	2,33
120	5,15	3,80	3,23	2,89	2,67	2,52	2,39	2,30	2,22
∞	5,02	3,69	3,12	2,79	2,57	2,41	2,29	2,19	2,11

l_B \ l_A	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	968,6	976,7	984,9	993,1	997,2	1001	1006	1010	1014	1018
2	39,40	39,41	39,43	39,45	39,46	39,46	39,47	39,48	39,49	39,50
3	14,42	14,34	14,25	14,17	14,12	14,08	14,04	13,99	13,95	13,90
4	8,84	8,75	8,66	8,56	8,51	8,46	8,41	8,36	8,31	8,26
5	6,62	6,52	6,43	6,33	6,28	6,23	6,18	6,12	6,07	6,02
6	5,46	5,37	5,27	5,17	5,12	5,07	5,01	4,96	4,90	4,85
7	4,76	4,67	4,57	4,47	4,42	4,36	4,31	4,25	4,20	4,14
8	4,30	4,20	4,10	4,00	3,95	3,89	3,84	3,78	3,73	3,67
9	3,96	3,87	3,77	3,67	3,61	3,56	3,51	3,45	3,39	3,33
10	3,72	3,62	3,52	3,42	3,37	3,31	3,26	3,20	3,14	3,08
11	3,53	3,43	3,33	3,23	3,17	3,12	3,06	3,00	2,94	2,88
12	3,37	3,28	3,18	3,07	3,02	2,96	2,91	2,85	2,79	2,72
13	3,25	3,15	3,05	2,95	2,89	2,84	2,78	2,72	2,66	2,60
14	3,15	3,05	2,95	2,84	2,79	2,73	2,67	2,61	2,55	2,49
15	3,06	2,96	2,86	2,76	2,70	2,64	2,59	2,52	2,46	2,40
16	2,99	2,89	2,79	2,68	2,63	2,57	2,51	2,45	2,38	2,32
17	2,92	2,82	2,72	2,62	2,56	2,50	2,44	2,38	2,32	2,25
18	2,87	2,77	2,67	2,56	2,50	2,44	2,38	2,32	2,26	2,19
19	2,82	2,72	2,62	2,51	2,45	2,39	2,33	2,27	2,20	2,13
20	2,77	2,68	2,57	2,46	2,41	2,35	2,29	2,22	2,16	2,09
21	2,73	2,64	2,53	2,42	2,37	2,31	2,25	2,18	2,11	2,04
22	2,70	2,60	2,50	2,39	2,33	2,27	2,21	2,14	2,08	2,00
23	2,67	2,57	2,47	2,36	2,30	2,24	2,18	2,11	2,04	1,97
24	2,64	2,54	2,44	2,33	2,27	2,21	2,15	2,08	2,01	1,94
25	2,61	2,51	2,41	2,30	2,24	2,18	2,12	2,05	1,98	1,91
26	2,59	2,49	2,39	2,28	2,22	2,16	2,09	2,03	1,95	1,88
27	2,57	2,47	2,36	2,25	2,19	2,13	2,07	2,00	1,93	1,85
28	2,55	2,45	2,34	2,23	2,17	2,11	2,05	1,98	1,91	1,83
29	2,53	2,43	2,32	2,21	2,15	2,09	2,03	1,96	1,89	1,81
30	2,51	2,41	2,31	2,20	2,14	2,07	2,01	1,94	1,87	1,79
40	2,39	2,29	2,18	2,07	2,01	1,94	1,88	1,80	1,72	1,64
60	2,27	2,17	2,06	1,94	1,88	1,82	1,74	1,67	1,58	1,48
120	2,16	2,05	1,94	1,82	1,76	1,69	1,61	1,53	1,43	1,31
∞	2,05	1,94	1,83	1,71	1,64	1,57	1,48	1,39	1,27	1,00

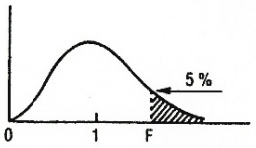
La valeur cherchée $F^{l_A}_{l_B}$ est lue à l'intersection de la colonne l_A et de la ligne l_B.

Exemple : pour les degrés de liberté $l_A = 6$, $l_B = 10$, la limite supérieure de F est $F^{6}_{10} = 4,07$.

(*) D'après E. S. Pearson et H. O. Hartley, Biometrika tables for statisticians, vol. 1, University Press, Cambridge.

Table de F (point 5 %) (*).

La table donne la limite supérieure de $F = \frac{{s_A}^2}{{s_B}^2}$, pour le risque 5 % (valeur ayant 5 chances sur 100 d'être égalée ou dépassée), en fonction des nombres de degrés de liberté l_A et l_B.



l_B \ l_A	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88

l_B \ l_A	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3
2	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
∞	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

La valeur cherchée $F^{l_A}_{l_B}$ est lue à l'intersection de la colonne l_A et de la ligne l_B.

Exemple : pour les degrés de liberté $l_A = 6$, $l_B = 10$, la limite supérieure de F est $F^{6}_{10} = 3{,}22$.

(*) D'après E.S. Pearson et H.O. Hartley, Biometrika tables for statisticians, vol. 1, University Press, Cambridge.

Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Pathologies Tropicales*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Pathologies Tropicales*

Année 2023/ 2024

Session de rattrapage

FASCICULE n° 1

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°1 comprend :

- 3 questions rédactionnelles

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 4 *pages numérotées de 1 à 4*

Nom de l'UELC Pathologies Tropicales
Nom(s) du(des) responsables : Anne Doléans-Jordheim

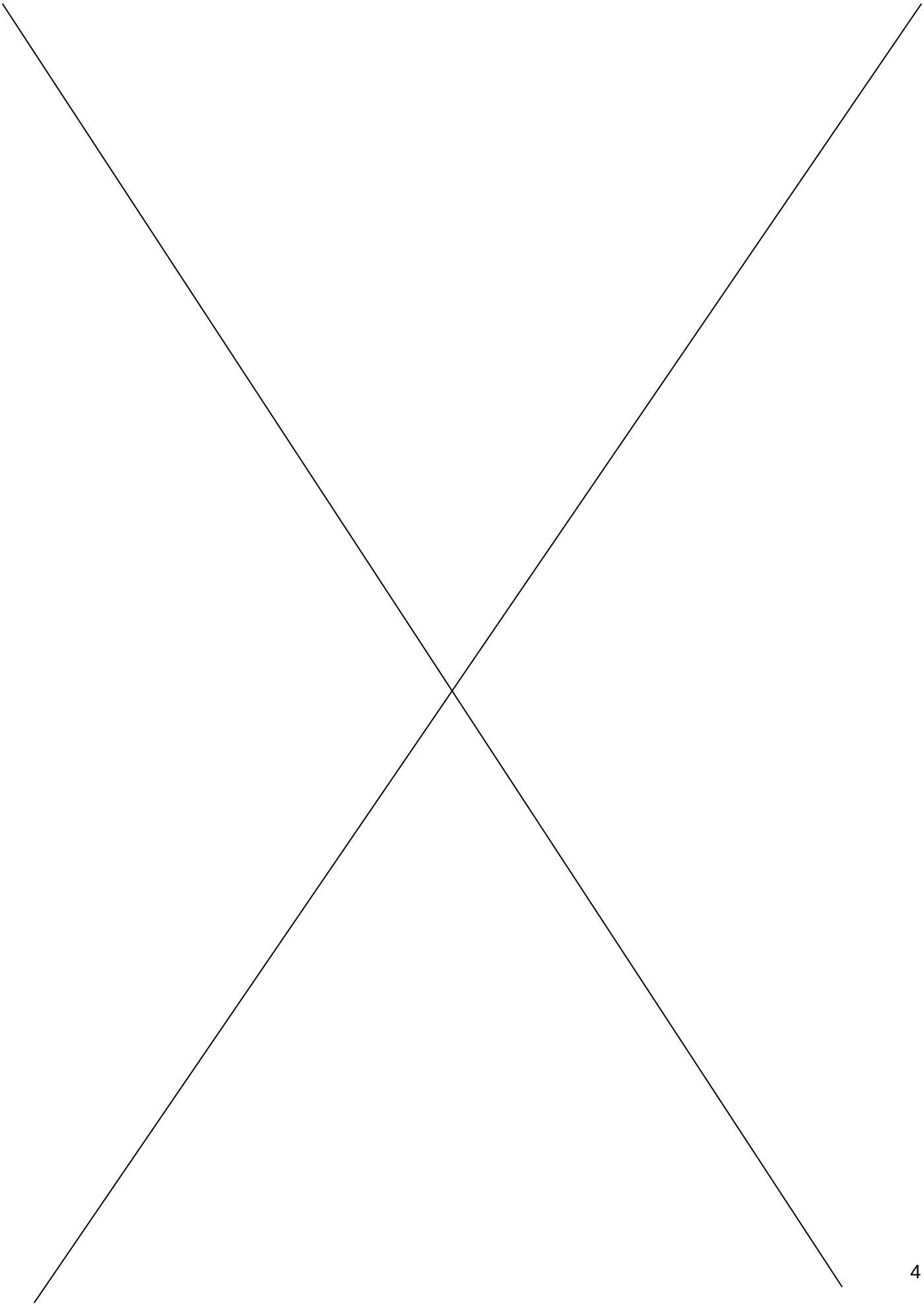
Sujet de M. Blaha (30 min) 10 points

Question N°1 : 10 min
Sites d'infection, habitats et diagnostic de la cryptococcose ?

Question n°2 : 10 min
Indiquez le traitement en cas de méningite à *Cryptococcus neoformans* selon le statut VIH du patient

Question n°3. 10 min

La Chromoblastomycose : Modes de contamination, population touchée, diagnostic de certitude et traitement



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : ***UELC Pathologies Tropicales*** **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *UELC Pathologies Tropicales*

Année 2023/ 2024

Session de rattrapage

FASCICULE n° 2

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure, comprenant 2 fascicules

Ce fascicule n°2 comprend :

- 4 questions rédactionnelles et un cas clinique

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 5 *pages numérotées de 1 à 5*

Nom de l'UELC Pathologies Tropicales
Nom(s) du(des) responsables : Anne Doléans-Jordheim

Sujet de Me FROBERT (30 min) 10 points

Q1. Citez 3 fièvres hémorragiques

-

-

-

Q2. Citez 5 critères cliniques communs aux virus zika, dengue, chikungunya

-

-

-

-

-

Q3. Expliquez pourquoi il est conseillé de se faire vacciner contre la rage lors d'un voyage où elle est endémique

Q4. Remplir le tableau suivant

Virus	Acide nucléique (ADN/ARN)	Enveloppe (oui/non)	Virémie	Résistant en milieu extérieur	Mode de transmission principal	Vaccin (oui/non) Si oui, préciser le type
VHA						
VHB						
VHC						

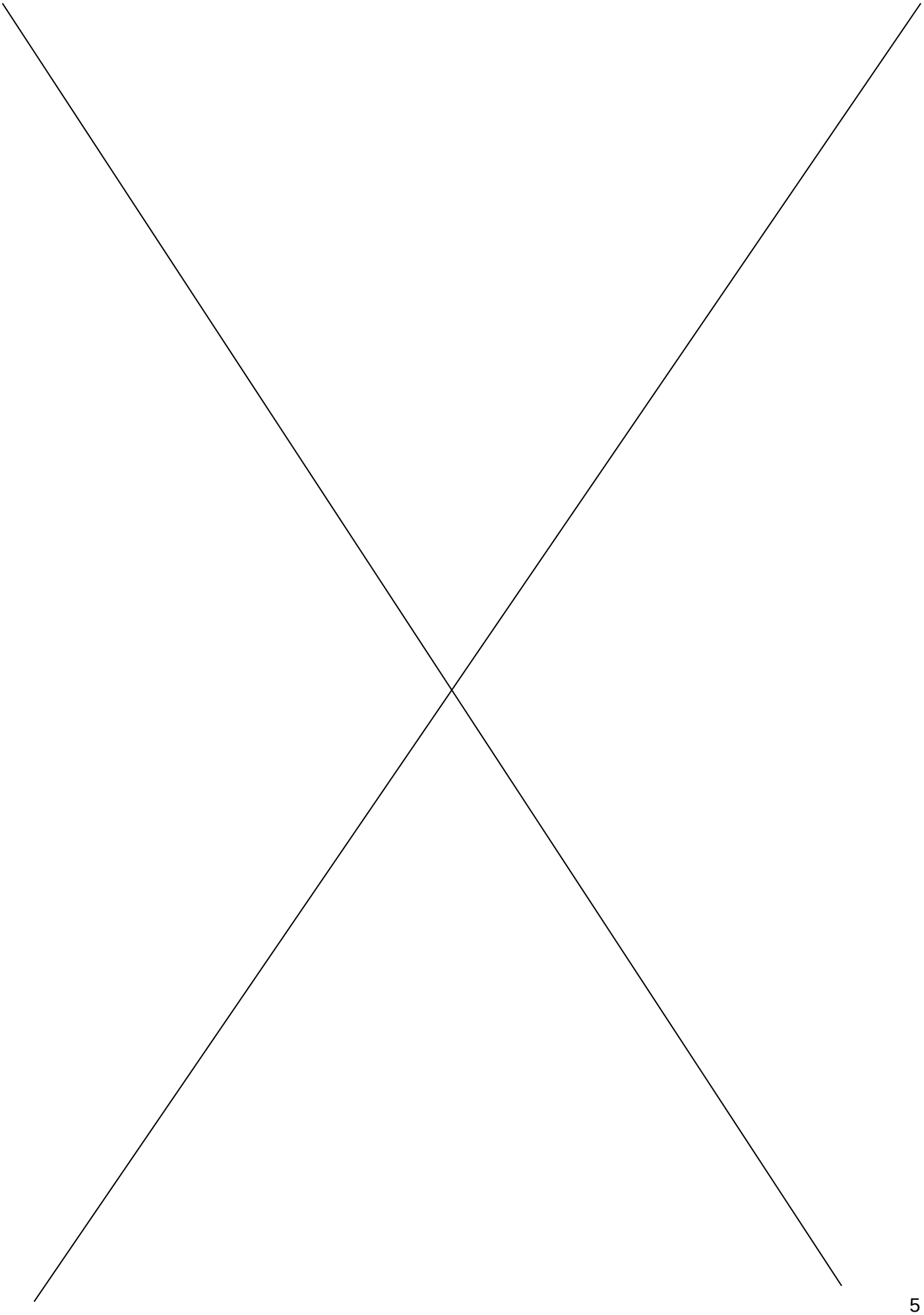
Cas clinique.
Une jeune étudiante en architecture se présente au comptoir car elle souhaite préparer au mieux son départ pour le Brésil où elle a réussi à décrocher un stage dans une agence à Sao Paulo. Elle a des questions spécifiques sur la poliomyélite et la fièvre jaune. (10 min)

1. Que pouvez-vous lui dire à propos des modes de contamination et de prévention de ces 2 pathogènes ?

2. Que pouvez-vous lui dire sur la clinique de ces 2 pathogènes ?

3. Au niveau mondial, quelle est leur situation épidémiologique ?

4. Quels éléments rassurants pouvez-vous donc lui fournir quant à ces 2 pathogènes ? Quels conseils pouvez-vous lui donner en fonction de l'agent pathogène.



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de UE gestion : **N° de PLACE** :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE UE gestion

Année 2023/2024

Semestre de printemps
Session de rattrapage

DUREE DE L'EPREUVE : 1 heure

Ce fascicule comprend :

Un sujet rédactionnel

Note

Calculatrice : autorisée
Aucun document autorisé

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 8 pages numérotées de 1 à 8

UE gestion 5 année
Nom du responsable enseignant de l'UE : Pauline Loubert BAJAS

UE gestion 5 année seconde session

Pauline Loubert BAJAS

Il faudra tronquer les résultats finaux et intermédiaires des calculs à 2 chiffres après la virgule.

Exercice

Vous avez vu sur les réseaux sociaux une nouvelle marque de cosmétiques enfant. Vous avez donc contacté le commercial et vous avez rendez-vous aujourd'hui. Voici la présentation qu'il vous fait de la marque et des produits

« Nous sommes une marque très jeune, puisque l'entreprise a été créée l'an dernier. Pourquoi ? Nos fondateurs cherchaient des produits efficaces et sans ingrédients controversés pour leurs enfants. N'ayant pas trouvé ce qu'ils souhaitaient et ayant une formation en formulation cosmétique, ils ont décidé de créer leurs produits utilisables dès la naissance et durant la grossesse.

L'objectif c'est d'avoir des produits naturels, biologiques et efficaces. Tous nos produits sont fabriqués en France, dans la Creuse. Vous pouvez d'ailleurs venir voir les ateliers si vous le souhaitez. Sachez que les produits ont d'excellentes notes sur les applications de comparaison et comme souvent vous pouvez être confrontés à des clients qui se rassurent grâce à ces applications. En effet, il n'y a aucun conservateur dans nos produits. A la place nous utilisons des huiles végétales ce qui nous permet de diminuer le nombre d'ingrédients pour une efficacité aussi bonne que d'autres marques. Tous nos packaging sont en verre et en bois pour avoir une empreinte écologique la plus faible possible.

Parlons maintenant des produits. Les voici (avec prix public conseillés, prix d'achat). TVA 20%

Produit	***PPTTC***	***PAHT***
Huile de massage (50 mL)	*17,90€*	*9,20€*
Huile de soins cicatrisante (30 mL)	*12,90€*	*6,60€*
Baume visage (30 mL)	*14,90€*	*8,30€*
Huile apaisante premières dents (10 mL)	*9,90€*	*5,80€*
Huile protectrice pour le siège (30 mL)	*11,90€*	*5,10€*
Savon surgras (95g)	*6,90€*	*2,90€*
Huile apaisante pour piqures (10 mL)	*8,90€*	*3,95€*
Huile apaisante à l'arnica (10 mL)	*8,90€*	*3,95€*

Pour l'implantation de la gamme, nous avons deux offres à vous proposer

- *24 unités de chaque produit avec 25% de remise. Nous pouvons livrer en plusieurs fois si vous le souhaitez*
- *36 unités de chaque produit avec 25% de remise et 6 coffrets offerts (boite en fer comprenant une huile pour le siège, un savon surgras et un baume visage)*

Pour vous aider à faire démarrer la gamme voici ce que nous proposons

- *Formation de l'équipe le jour de l'implantation avec test des différents produits*
- *Proposition de journée animation pour dynamiser les ventes (sans cout supplémentaire pour vous)*
- *Testeurs disponibles pour chaque produit*
- *Visite médicale auprès des sage femmes et kiné spécialisés en pédiatrie*

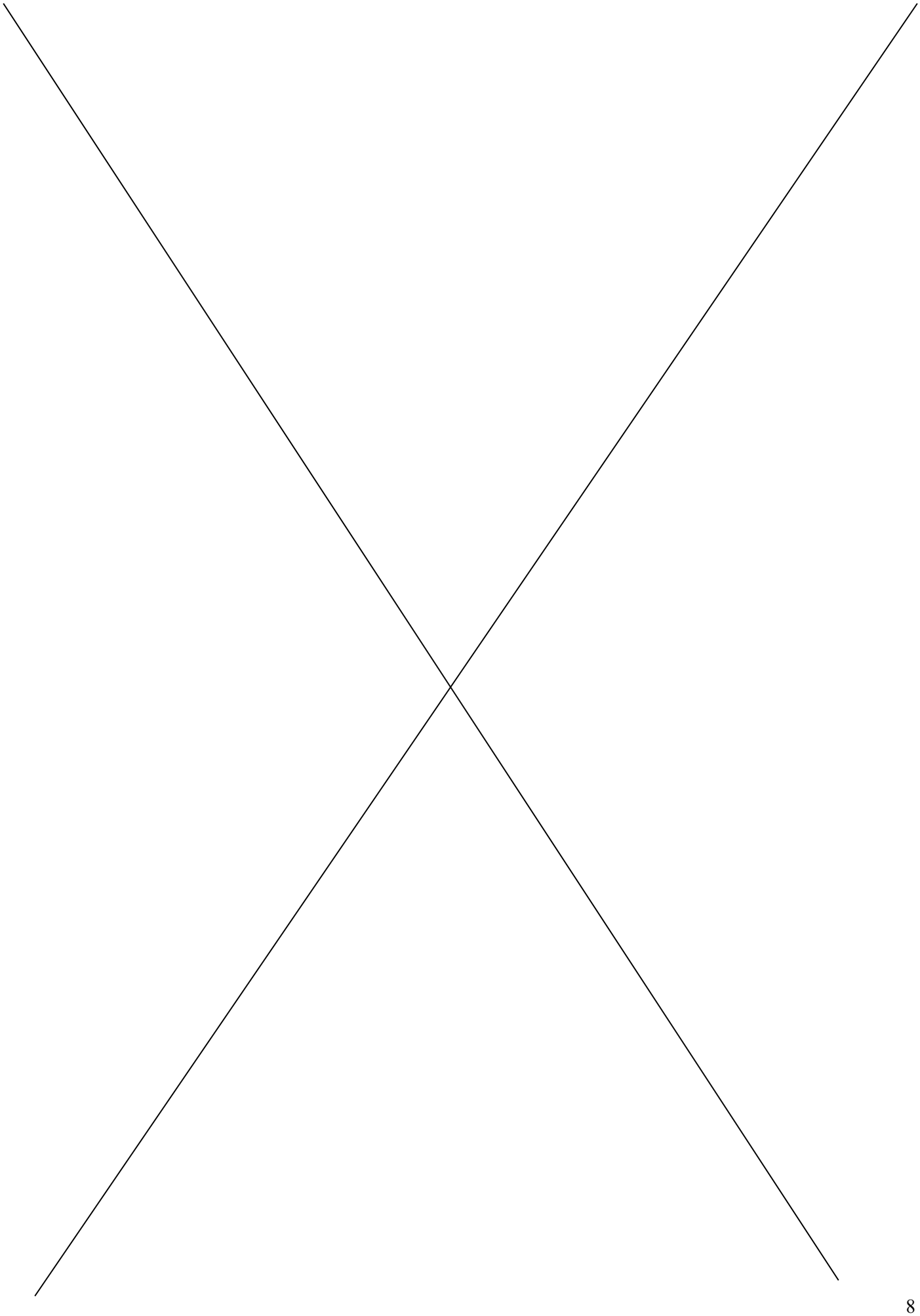
Je terminerai en vous précisant qu'il n'y a pas d'échantillons car ce n'est pas dans la philosophie de la marque, ce ne serait pas écologique. »

Question 1 : Êtes-vous intéressé par la proposition de cette marque ? Quels sont les points positifs et les points négatifs pour vous ? Vous manque-t-il des informations pour prendre votre décision ?

Question 2 : Vous avez implanté la gamme avec la première proposition (*24 unités de chaque produit avec 25% de remise.)*

Calculez la marge effectuée sur l'ensemble des ventes de ces produits

Produit	***PPTTC***	***PAHT***	***Quantité vendue à l'année***
Huile de massage (50 mL)	*17,90€*	*9,20€*	*20*
Huile de soins cicatrisante (30 mL)	*12,90€*	*6,60€*	*24*
Baume visage (30 mL)	*14,90€*	*8,30€*	*23*
Huile apaisante premières dents (10 mL)	*9,90€*	*5,80€*	*24*
Huile protectrice pour le siège (30 mL)	*11,90€*	*5,10€*	*19*
Savon surgras (95g)	*6,90€*	*2,90€*	*4*
Huile apaisante pour piqures (10 mL)	*8,90€*	*3,95€*	*17*
Huile apaisante à l'arnica (10 mL)	*8,90€*	*3,95€*	*22*



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(en caractère d'imprimerie)

Epreuve de : *Conseil pharmaceutique et prise en charge globale du patient*
N° de PLACE :

Réservé au Secrétariat

EPREUVE DE *Conseil pharmaceutique et prise en charge globale du patient*

DFASP2
Année 2023 / 2024

Semestre printemps
Session de rattrapage

DUREE DE L'EPREUVE : **2 heures**, comprenant **1 seul fascicule**

Ce fascicule comprend 6 cas cliniques avec des QROC (questions à réponse ouverte courte)

Note

Calculatrice : non autorisée

J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait 15 pages numérotées de 1 à 15.

UE Conseil pharmaceutique et prise en charge globale du patient
Responsable : Céline Prunet-Spano
Correcteurs : Pauline Loubert Bajas, Vincent Lescure

Cas n°1 :

Monsieur A, 31 ans, sans antécédent connu de vous, vous présente cette ordonnance :

Dr D, dentiste
69007 LYON

Mr A, 31 ans

Spiramycine/métronidazole 1,5 MUI/250 mg : 1 comprimé 3 fois par jour pendant 7 jours après l'intervention

Chlorhexidine 0,12% : 1 bain de bouche à commencer après l'intervention prévue le 28 juin

Brosse à dents souple

Question 1 : **Quels conseils associés au bon usage des médicaments de cette ordonnance donnez-vous à Monsieur A ?**

Question 2 : Quels conseils associés à la pathologie probable de Monsieur A donnez-vous ?

Cas n°2 :

Monsieur B se plaint depuis plusieurs mois d'insomnies causées par des démangeaisons intenses et inexpliquées sur tout le corps. Un dermatologue lui a diagnostiqué un urticaire chronique spontané. Il vous présente l'ordonnance suivante :

Dr V, Dermatologue
69100 Villeurbanne

Le 20 juin 2024
Mr B, 45 ans

Ebastine 10 mg : 3 à 5 cp par jour

OAR 3 mois

Le dossier pharmaceutique de Monsieur B est fermé.

Question 1 : Quels conseils donnez-vous au patient pour limiter l'irritation causée par les démangeaisons ?

Question 2 : Indiquez la place de l'ébastine dans la stratégie thérapeutique médicamenteuse de l'urticaire chronique. Précisez les médicaments à écarter dans cette indication.

Question 3 : Quelle est votre démarche dispensatoire ?

Question 4 : Citer au moins deux exemples de substances allergisantes ou irritantes contenues dans les émollients qui sont à éviter chez ce patient.

Cas n°3 :

Monsieur C 59 ans, se présente à la pharmacie. Voici l'échange que vous avez avec lui :

Monsieur C : « Bonjour, j'aimerais savoir ce que vous auriez pour la voiture ? »
Vous : « Bonjour, pourriez-vous m'expliquer exactement ce qui vous arrive ? »
Monsieur C : « Je dois faire un grand trajet demain, ce n'est pas moi qui vais conduire et je me sens systématiquement brassé. J'aimerais quelque chose qui n'endort pas si possible. »
Vous : « Oui, je peux vous conseiller à ce sujet. Mais avant cela, prenez-vous des médicaments ? Et avez-vous des pathologies ? »
Monsieur C : « Non rien du tout. Ah si ! Juste quelque chose pour la prostate. »

Question 1 : Que conseillez-vous à ce patient concernant sa demande ? (conseils + produits de santé)

Suite cas n°3 :

Monsieur C : « J'ai également quelque chose à vous demander qui n'a rien à voir avec la voiture. Je tousse depuis plusieurs jours et je commence à en avoir marre ! »

Vous : « Quel type de toux avez-vous ? »

Monsieur C : « J'ai envie de cracher tout le temps, c'est pénible… »

Question 2 : Quelles questions complémentaires posez-vous à Monsieur C ?

Question 3 : Quels conseils associés lui donnez-vous ?

Question 4 : Quels produits de santé lui conseillez-vous pour soulager sa toux ?

Cas n°4 :

Mme D, patiente de 74 ans que vous connaissez bien, se présente à l'officine. Voici l'échange que vous avez avec elle :

Mme D : « Bonjour ! Je suis bien embêtée… Vous savez, je suis partie en voyage, c'était super ! Les paysages, les gens d'une gentillesse… presque autant que vous ! Mais ce n'est pas le sujet. Comme j'étais en voyage, j'ai fait attention à tout ce que vous m'aviez dit. Mais maintenant je suis constipée ! Vous allez bien avoir quelque chose pour moi ? »
Vous : « Bonjour Madame D. Nous allons voir cela, mais avant j'ai quelques questions à vous poser si cela ne vous ennuie pas. »
Mme D : « Allez y, faites ! »

Question 1 : Qu'avez-vous pu donner comme conseils à Mme D dans le cadre de son voyage au Vietnam ?

Question 2 : Désormais, quelle(s) question(s) posez-vous pour écarter tout risque urgent ?

Question 3 : D'après l'échange que vous avez eu avec Mme D suite à la (aux) question(s) posée(s), il n'y a rien d'alarmant. Quels conseils donnez-vous alors à Mme D ? (conseils et produits de santé)

Cas n°5 :

Madame E se présente à l'officine avec une nouvelle ordonnance :

Dr E, urologue
69004 LYON

Madame E, 71 ans

Ajouter au traitement chronique
Solifénacine 5 mg : 1 par jour pendant 15 jours
SI insuffisant au bout de 15 jours augmenter à 10mg par jour pendant 15 jours

Me revoir sous un mois

DP de Mme E : amoxicilline 1g, paracétamol 1g, metformine 500 mg, simvastatine 10 mg

Question 1 : Quelle est la pathologie probable de Mme E prise en charge par l'urologue ? Précisez vos arguments.

Question 2 : Quels conseils associés à cette pathologie donnez-vous à Mme E ?

Question 3 : Quels conseils liés à la solifénacine donnez-vous à Mme E ?

<u>Cas n°6</u> :

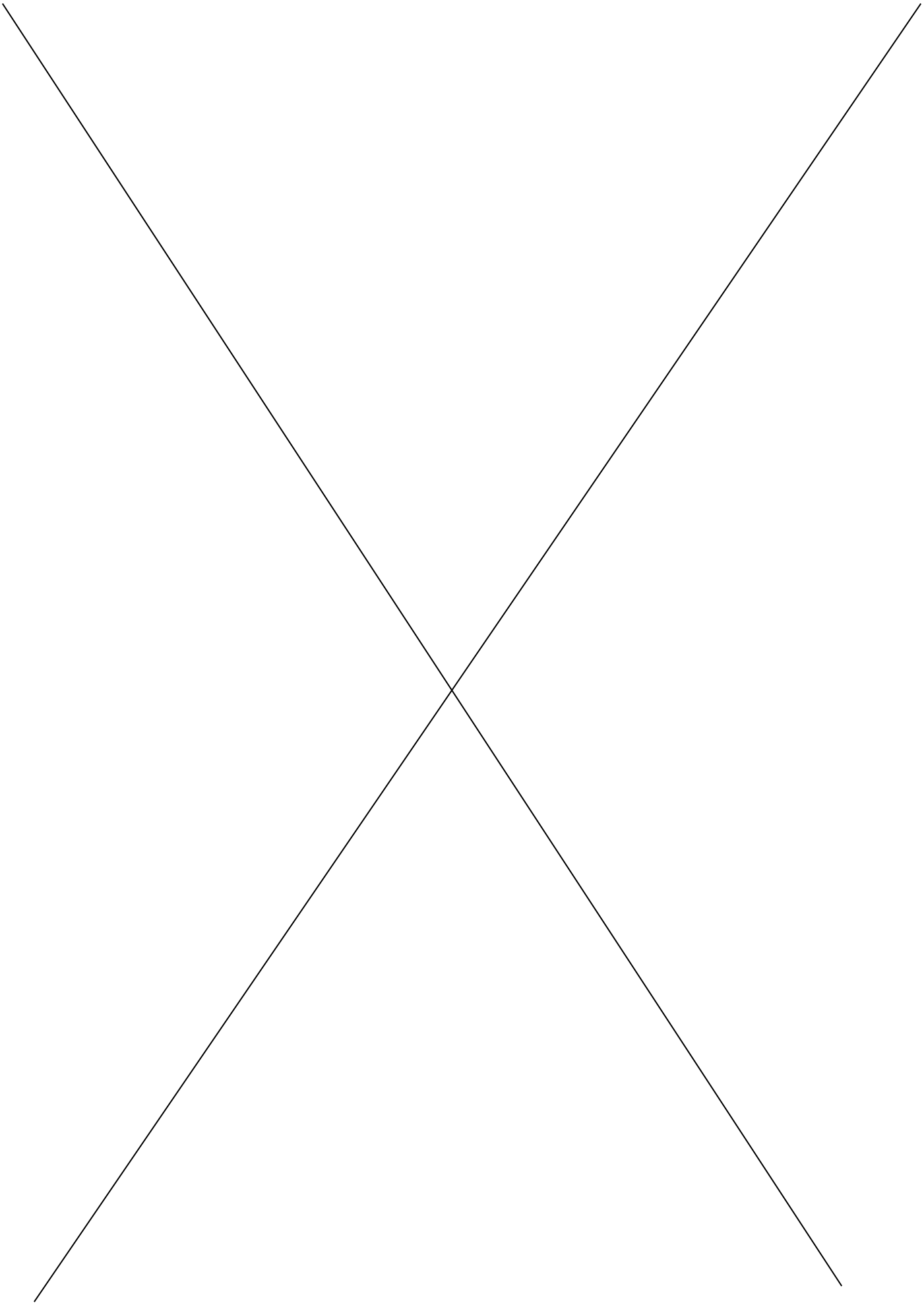
Madame F se présente à l'officine pour son fils Firmin de 2 ans. Il présente des vésicules partout sur le corps qui le démange beaucoup. Il a également de la fièvre.

Question 1 : Quelle pathologie Firmin peut-il avoir contractée ? Vous préciserez vos arguments.

Question 2 : Quels médicaments ou produits de santé pourriez-vous délivrer dans ce cas ?

Question 3 : Quels conseils associés à cette pathologie donnez-vous à Mme F ?

Question 4 : Quels sont les risques de cette pathologie pour Firmin ?



Réservé au secrétariat

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

EPREUVE DE UELC Passerelle

Année 2023/2024

Semestre de printemps
2ème Session

UN SEUL FASCICULE

DUREE DE L'EPREUVE : **1h30**

Ce fascicule comprend :
- 7 QROC de la partie Thérapeutique (coef 0,6)
- 1 question de la partie Législation pharmaceutique (coef 0,2)
- 1 question de la partie Aromathérapie / Phytothérapie (coef 0,1)
- 1 question de la partie Nutrition (coef 0,1)

Note

Calculatrice : **non autorisée**
Aucun document autorisé

*J'ai bien vérifié que ce fascicule comportait **16 pages** numérotées de 1 à 16*

Nom du responsable enseignant de l'UELC : Céline Prunet-Spano

Correcteurs de la partie Thérapeutique : Pauline Loubert Bajas et Vincent Lescure
Correctrice de la partie Législation pharmaceutique : Valérie Siranyan
Correctrice de la partie Nutrition : Emilie Blond
Correcteur de la partie Phytothérapie / Aromathérapie : Serge Michalet

Partie Thérapeutique

Cas 1: Mme A, 83 ans se présente à l'officine avec une nouvelle ordonnance :

Dr O, ophtalmologue
Hôpital des yeux
69008 LYON

Mme A, 83 ans
Le 20 juin 2024

Borax/Acide borique unidoses : nettoyer avec compresses
Ocufen 0,3% (flurbiprofène) : 1 goutte 3 fois par jour pendant 2 mois
Tobradex (dexaméthasone/tobramycine) 1mg/mL + 3mg/mL : 1 goutte 3 fois par jour pendant 1 mois
Dulcilarmes (Povidone 5%) : 1 goutte en cas de besoin, maximum 6 fois/jour

Protéger l'œil avec coque + lunettes de protection solaire + rondelle oculaire

Le dossier pharmaceutique de Mme A comprend : simvastatine 10 mg, paracétamol 500 mg

Question 1 : **Quelles sont les classes pharmacologiques de chaque molécule (ordonnance + DP) ?**

Question 2 : **Quels sont les objectifs thérapeutiques de l'ordonnance ? Justifier votre réponse.**

Question 3 : Justifiez l'ordre précis d'instillation des collyres que vous conseillez à Mme A.

Question 4 : **Quels conseils principaux donnez-vous à Mme A concernant sa ou ses pathologies ?**

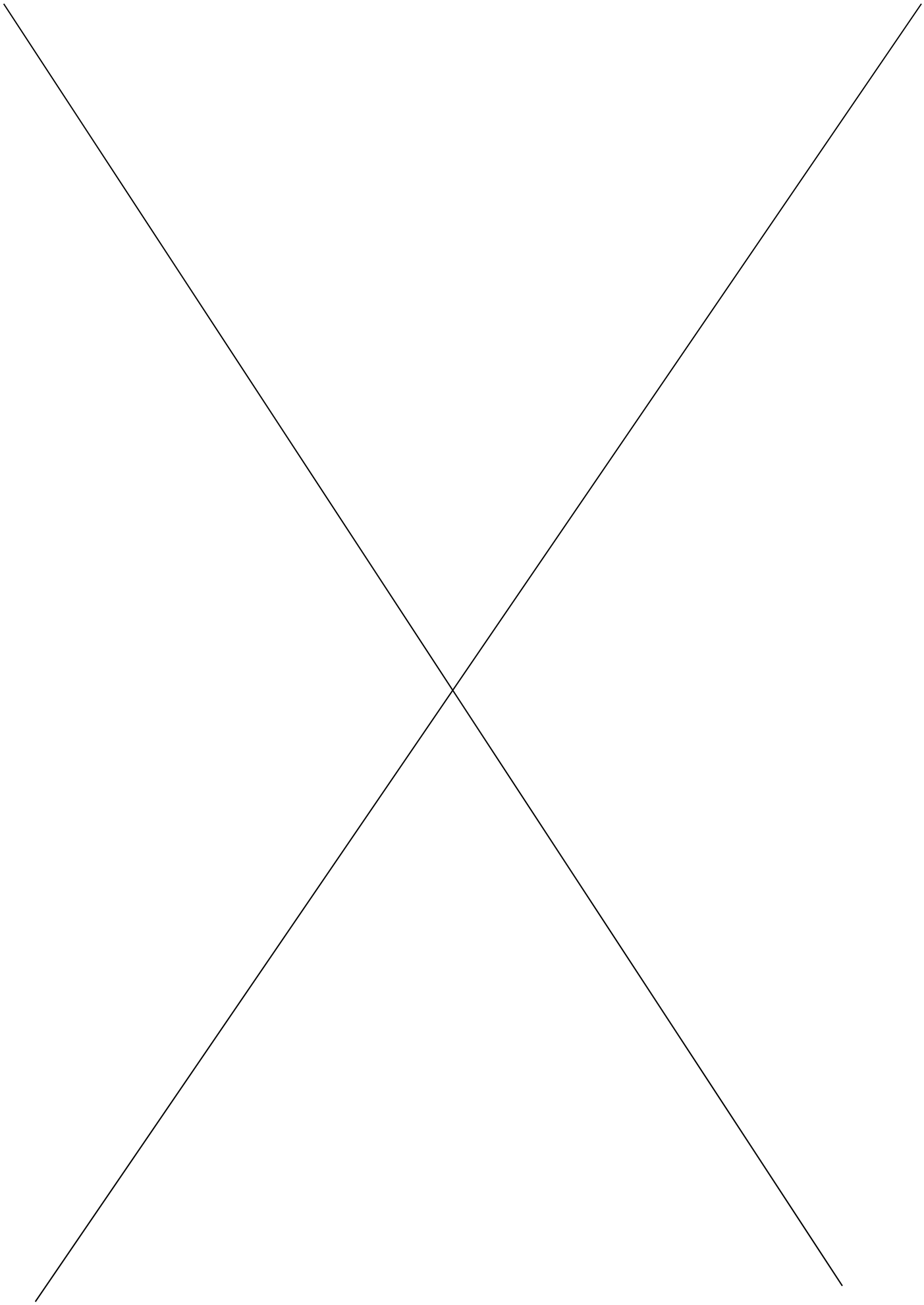
Note

<u>Cas 2</u>: Questions diverses

Question 1 : Quelles vaccinations sont conseillées à un patient de 75 ans traité pour un diabète de type 2 ?

Question 2 : Quelles molécules (classe thérapeutique et dci) sont indiquées dans les migraines ?

Question 3 : Quelles sont les étapes lors de l'utilisation d'un inhalateur type Ventoline® ?



NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Législation Pharmaceutique

Quelles sont les conditions réglementaires à vérifier lors de la dispensation pharmaceutique de méthadone, sous forme de gélule et sous forme de sirop ?

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Partie Phytothérapie

Une femme de 50 ans vient vous voir car elle dit avoir du mal à s'endormir le soir et se plaint de palpitations et également de fortes sueurs nocturnes dues à des bouffées de chaleur qui l'empêchent de trouver le sommeil.
Elle vous demande conseil car elle a lu dans les journaux que les plantes pourraient l'aider. Que lui conseillez-vous ?

Note

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Aromathérapie

Quelles sont les informations essentielles que l'on doit retrouver sur un flacon d'huile essentielle pour pouvoir correctement utiliser celle-ci en officine ?

NOM et Prénoms : ……
(En caractère d'imprimerie)

Epreuve de **UELC Passerelle** : **N° de PLACE** :

Note

Partie Nutrition

Quelles recommandations nutritionnelles pour la personne âgée ? Apporter 4 conseils nutritionnels à destination de la personne âgée ; justifier ces conseils en vous basant sur les modifications physiologiques liées à l'âge.

FIN du fascicule