

الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique
Université Constantine III
Faculté De Médecine
Département De Pharmacie

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قسنطينة III
كلية الطب
قسم الصيدلة



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Docteur en
Pharmacie

Thème

Toxicologie Préclinique

Réalisé par :

BENKOBI MOHCEN

DJOUDI DJAMEL EDDINE

LAHIRA BASSEM

SABBA ILIES

Encadré par :

Dr. ABDENNOUR.S

Session : Juillet 2018

Sommaire

Introduction	1
Partie I : Bibliographie	4
Chapitre I. Développement des médicaments	5
I.1. Sélection et choix d'une molécule	5
I.2. Etudes précliniques	7
I.3. Etudes cliniques.....	7
I.3.1. Phase I.....	7
I.3.2. Phase II	8
I.3.3. Phase III.....	8
I.3.4. Phase IV.....	8
Chapitre II. Les études précliniques	11
II.1. Etudes d'efficacité	11
II.1.1. Essais in vitro	11
II.1.2. Essais in vivo.....	12
II.2. Etude de la distribution, du métabolisme et de la pharmacocinétique (DMPK) de nouvelles substances.....	13
II.2.1. Caractéristiques physico-chimiques et propriétés physiologiques.....	13
II.2.2. Détermination des propriétés pharmacocinétiques in vivo	15
II.3. Etudes de sécurité	16
Chapitre III. Toxicologie préclinique	20
III.1. Toxicologie générale	20
III.1.1 Toxicité à dose unique	21
III.1.1.1. Les tests de toxicité aiguë selon l'OCDE.....	21
III.1.1.2. Les tests de toxicité orale aigue.....	21
III.1.2. Toxicité à doses répétées	23
III.1.2.1. Les tests de toxicité à doses répétés selon l'OCDE	23
III.2. Génotoxicité.....	25
III.2.1. La batterie d'essais standards pour la génotoxicité.....	26
III.2.1.1 Description des deux options de la batterie standard	27
III.2.2. Evaluation des résultats des tests	28
III.2.5.3. Les tests de génotoxicité selon l'OCDE	28
III.2.5.1. Essai n°485 : test de toxicologie génétique: Essai de translocation héréditaire chez la souris	28

III.2.5.2. Essai n°487 : test in vitro de micronoyaux sur cellules de mammifère	29
III.2.5.3. Essai n°490 : test in vitro de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant le gène de la Thymidine Kinase	30
III.3. Cancérogénicité	30
III.3. 1. FACTEURS À CONSIDÉRER POUR LES TESTS DE CANCÉROGÉNÉCITÉ	31
III.3. 1.1 Durée et exposition	31
III.3.1.2 Cause d'inquiétude	31
III.3.1.3 Génotoxicité	32
III.3.1.4 Indication et population de patients	32
III.3.1.5 Voie d'exposition	32
III.3.1.6 Ampleur de l'exposition systémique	32
III.3.1.7 Peptides endogènes et substances protéiques ou leurs analogues	33
III.3.2. Approches expérimentales pour tester le potentiel cancérigène	33
III.3.2.1. Choix des espèces pour une étude de cancérogénicité à long terme	34
III.3.2.2. Choix des tests de cancérogénicité à court ou moyen terme	34
III.3.2.3. Besoin des tests supplémentaires	34
III.3.2.4. Tests in vivo supplémentaires de cancérogénicité	35
III.3.3. Évaluation du potentiel cancérigène	35
III.3.3.1. Les tests de cancérogénicité selon l'OCDE	35
III.4. Toxicité pour la reproduction et le développement	37
III.4.1. Evaluation de la toxicité reproductive	38
III.4.1.1 Principes	38
III.4.1.2 Stratégie pour aborder la fertilité et le développement embryonnaire précoce	39
III.4.1.3 Stratégies pour aborder le développement embryonnaire fœtal (EFD)	40
III.4.1.4 Stratégie pour aborder les effets sur le PPND (pré and post natale development studies)	40
III.4.1.5 Toxicocinétique (TK)	40
III.4.2. Conception et évaluation in vivo pour les mammifères	41
III.4.2.1 Trois études distinctes pour évaluer toutes les étapes (A, F)	41
III.4.2.2 Modèle d'étude unique	41
III.4.2.3 Deux études de conception	41
III.4.2.4 Conception combinée d'études de doses répétées et de fécondité	41
III.4.2.5 Évaluation des données	42

III.4.3. Principes d'évaluation des risques.....	42
III.4.4. Quelques tests de toxicité pour la reproduction et le développement selon l'OCDE	43
III.4.4.1 Essai n°414 : Etude de la toxicité pour le développement prénatal	43
III.4.4.2 Essai n°415 : Étude de toxicité pour la reproduction sur une génération	44
III.4.4.3 Essai n°416 : Étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations	44
III.4.4.4. Essai n°421 : Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement	45
III.5. Études de l'immunotoxicité.....	46
III.5.1 Facteurs à considérer dans l'évaluation de l'immunotoxicité potentielle.....	47
III.5.1.1 Études de toxicité standard.....	47
III.5.1.2 Propriétés pharmacologiques	48
III.5.1.3 Population de patients prévue	48
III.5.1.4 Similarité structurelle	48
III.5.1.5 Disposition du médicament.....	48
III.5.1.6 Signes observés lors d'essais cliniques ou d'utilisation clinique	48
III.5.2 Examen du poids de la preuve	49
III.5.3. Moment du test d'immunotoxicité par rapport aux études cliniques.....	49
III.5.4.Méthodes d'évaluation de l'immunotoxicité	49
III.5.4.1. Études de toxicité standard.....	49
III.5.4.2. Études d'immunotoxicité supplémentaires	50
Chapitre IV. Les tests de toxicité suivant les lignes directrices de l'OCDE	54
Partie II : Partie Pratique	58
I. Objectifs.....	59
II. Matériel et méthodes	59
II.1. Matériel.....	59
II.1.1. Matériel animal	59
II.1.2. Appareillage et verrerie.....	60
II.1.3.Réactifs et produits chimiques	60
II.2. Méthodes.....	61
II.2.1. Choix de la substance d'essai.....	61
II.2.2. Evaluation de la toxicité orale aigue de l'extrait hydroalcoolique de <i>Tilia cordata</i> chez la souris	61

II.2.1.1. Choix des doses	62
II.2.1.2. Préparation de la solution à administrer	62
II.2.1.3. Constitution des lots :	62
II.2.1.4. administration des doses	63
II.2.1.5. Observation des souris :	63
II.2.1.6. Sacrifice :	63
II.2.2. Evaluation de la toxicité à dose répétée de l'extrait hydroalcoolique de <i>Tilia cordata</i> chez la souris	64
II.2.2.1. Choix des doses	65
II.2.2.2. Constitution du lot	65
II.2.2.3. Préparation de la solution à administrer :	65
II.2.2.4. Administration des doses	66
II.2.2.5. Observation des souris	67
II.2.2.6. Prélèvement du sang	67
II.2.2.7. Sacrifice	67
II.2.2.8. Effet sur quelques paramètres biochimiques	68
III. Résultats	69
III.1. Résultats de toxicité aiguë	69
III.1.1. Variation du poids des souris	69
III.1.2. observations générales	69
III.1.3. Constations autopsiques	70
III.2. Résultat toxicité subchronique	70
III.2.1. Variation du poids moyen	70
III.2.2. Observations générales	71
III.2.3. Constations autopsiques	73
III.2.4. Effet sur quelques paramètres biochimiques	73
IV. Discussion	74
Conclusion	75
Références	76
Annexes	80
Annexe 1	81
Annexe 2	96

Résumé

Le développement de médicaments passe par la sélection d'une molécule suivi par une batterie de tests précliniques avant de passer aux études cliniques. Les études précliniques permettent d'acquérir les premières connaissances sur le comportement d'un médicament candidat indispensable avant les essais chez l'homme. Les expérimentations sont essentiellement menées sur l'animal.

L'objectif de ce travail est l'évaluation de la toxicité orale aiguë à dose unique chez les souris de l'extrait hydro alcoolique de la plante *Tilia cordata* selon la ligne directrice n°423 de l'OCDE ainsi qu'une étude de toxicité à dose répétée sur 28 jours chez les souris de l'extrait hydro alcoolique de la plante *Tilia cordata*, qui a permis la détection des effets toxiques potentiels après administration répétée.

Des doses limite de 2000mg/kg et 1000mg/kg de l'extrait de *Tilia cordata* ont été administré aux souris en raison de l'absence de toxicité connue de la substance à tester, suivant les protocoles des lignes directrices n°423 et n°407 de l'OCDE.

Les résultats obtenus ont permis de classifier la plante *Tilia cordata* dans la catégorie 5 (SGH) et de déduire que la substance d'essai n'a pas d'effets toxiques notables après une administration répétée.

Mots clés : essais précliniques, OCDE, toxicité aiguë, toxicité subchronique, expérimentation animale, *Tilia cordata*.

Abstract

Drug development involves the selection of a molecule followed by a battery of preclinical tests before proceeding to clinical studies; preclinical studies provide the first knowledge on the behavior of an essential drug candidate before the trials at humans. The experiments are essentially conducted on the animal.

The aim of this work is to study a single-dose acute oral toxicity in mice of the hydroalcoholic extract of the plant *Tilia cordata* according to the OECD guideline 423 and a 28-day repeated-dose toxicity study in mice of the hydroalcoholic extract of the *Tilia cordata* plant, which allowed the detection of potential toxic effects after repeated administration.

Limit doses of 2000mg / kg and 1000mg / kg of *Tilia cordata* extract were administered to the mice due to the lack of known toxicity of the test substance, following the protocols of guidelines no. 423 and no. 407 of the OECD.

The results obtained made it possible to classify the *Tilia cordata* plant in category 5 (GHS) and to deduce that the test substance has no significant toxic effects after repeated administration.

Key words: precilincal trials, OECD, acute toxicity, subchronic toxicity, animal experimentation, *Tilia cordata*.