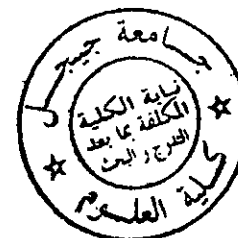


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL - FACULTE DES SCIENCES

Département de chimie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en chimie

Option : Chimie pharmaceutique

Présenté par

CHIBANI AKILA

EVALUATION PHARMACOLOGIQUE D'ANALOGUES OUVERTS
DE DIHYDROBENZOPYRANES COMPORTANT DES FONCTIONS
AMIDE ET UREE SUR LA DIURESE

Soutenu le : 06 / 11 / 2008

Jury :

| | | | |
|------------------|-----|----------------------|-------------|
| Dr. E. LEGHOUCHI | Pr | Université de Jijel | Président |
| Dr. S. KHELILI | Pr | Université de Jijel | Rapporteur |
| Dr. M. BELGHOBSI | M.C | Université de Jijel | Examinateur |
| Dr. A. YAHIA | M.C | C.U d'Oum El Bouaghi | Examinateur |



جامعة جيجل
المكتبة المركزية
رقم الجرد: 11/230

615/9

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE

LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL - FACULTE DES SCIENCES

Département de chimie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en chimie



Option : **Chimie pharmaceutique**

Présenté par

CHIBANI AKILA

EVALUATION PHARMACOLOGIQUE D'ANALOGUES OUVERTS
DE DIHYDROBENZOPYRANES COMPORTANT DES FONCTIONS
AMIDE ET UREE SUR LA DIURESE

Soutenu le : 06 / 11 / 2008

Jury :

| | | | |
|-------------------------|------------|-----------------------------|-------------------|
| Dr. E. LEGHOUCHI | Pr | Université de Jijel | Président |
| Dr. S. KHELILI | Pr | Université de Jijel | Rapporteur |
| Dr. M. BELGHOBSI | M.C | Université de Jijel | Examineur |
| Dr. A. YAHIA | M.C | C.U d'Oum El Bouaghi | Examineur |

Remerciements :

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a aidé à réaliser ce travail.

Ce travail a été effectué au laboratoire de Pharmacologie et de Phytochimie de la faculté des sciences de l'université de Jijel.

Je remercie très sincèrement le Dr. KHELILI Smail, Professeur à l'Université de Jijel, d'avoir accepté de diriger ce travail. Je suis très reconnaissante envers lui pour son aide, ses conseils, sa compétence et sa présence en tout moment, mais aussi pour sa bonne humeur et sa modestie.

Je remercie très chaleureusement le Dr. LEGHOUCHE Essaid, Professeur à l'Université de Jijel et directeur de laboratoire de Pharmacologie et de Phytochimie, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et d'avoir accepté de présider le jury.

Je remercie infiniment le Dr. BELGHOSI Mabrouk, maître de conférence à l'université de Jijel, chef de département de chimie, d'avoir accepté d'être membre de jury.

Je remercie vivement le Dr. YAHIA Abdelouahab, maître de conférences au Centre Universitaire d'Oum El Bouaghi, d'avoir accepté de juger mon travail.

Un immense merci à tous mes très chers enseignants chimistes qui ont été toujours à notre disposition, avec joie et compétence.

Un grand merci à mes très chères amies et collègues d'étude le long du cycle universitaire de graduation et de post-graduation.

Enfin, je remercie profondément ma précieuse famille et mes chères amies à la fois pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle.

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Introduction et objectif de la recherche..... | 1 |
| 1^{ère} partie : Etude bibliographique | |
| A- Etude pharmacologique | |
| I- Les canaux potassiques..... | 2 |
| I-1- Généralités..... | 2 |
| I-2- Classification des canaux potassiques..... | 2 |
| I-3- Modulation des canaux potassiques..... | 3 |
| I-3-1- Modulation endogène..... | 3 |
| I-3-2- Modulation exogène..... | 4 |
| II- Les canaux potassiques sensibles à l'ATP..... | 5 |
| II-1- Généralités..... | 5 |
| II-2- Structure moléculaire des K_{ATP} | 5 |
| II-2-1- Structure des Kir6.x..... | 5 |
| II-2-2- Structure des SUR..... | 6 |
| III- Fonctionnement d'un canal K_{ATP} | 7 |
| IV- Régulation des canaux K_{ATP} | 8 |
| IV-1- Régulation endogènes des K_{ATP} | 8 |
| - régulation par les nucléotides..... | 8 |
| - régulation par d'autres facteurs métaboliques..... | 9 |
| - régulation par les hormones et les neurotransmetteurs..... | 9 |
| IV-2- Régulation exogènes des K_{ATP} | 10 |
| 2-1- les ouvreurs..... | 10 |
| A- Introduction..... | 10 |
| B- Structure chimique et classification..... | 11 |
| B-1- Les benzopyranes..... | 11 |
| B-2- Les nicotinamides..... | 13 |
| B-3- Les pyrimidines..... | 14 |
| B-4- Les cyanoguanidines..... | 14 |
| B-5- Les benzothiadiazines..... | 15 |
| B-6- Les thioformamides..... | 15 |
| C- Mécanisme d'action des ouvreurs potassiques..... | 16 |
| D- Effet des ouvreurs sur les canaux K_{ATP} dans les différents tissus..... | 17 |
| D-1- les cellules β -pancréatiques..... | 17 |

| | |
|---|----|
| D-2- le muscle cardiaque..... | 17 |
| D-3- le muscle lisse vasculaire..... | 19 |
| D-4- le muscle squelettique..... | 20 |
| D-5- les neurones..... | 20 |
| 2-2- Les bloqueurs..... | 21 |
| A- Les d'ammonium quaternaires..... | 22 |
| B- Les aminopyridines..... | 22 |
| C- Les toxines naturelles..... | 22 |
| D- Les antiarythmiques de classe III..... | 22 |
| E- Les sulfonyles..... | 23 |
| a- Historique..... | 24 |
| b- Nomenclature..... | 24 |
| c- Structure générale et relation structure-activité | 24 |
| d- Effet des sulfonyles dans les différents tissus..... | 26 |
| V- Les diurétiques..... | 28 |
| V-1- Introduction..... | 28 |
| V-2- Rappel physiologique..... | 28 |
| V-3- Classification et modes d'action des diurétiques..... | 30 |
| 3-1- Diurétiques agissant au niveau du tube proximal | 36 |
| 3-2- Diurétiques de l'anse..... | 31 |
| 3-3- Diurétiques agissant au niveau du tube contourné distal..... | 31 |
| 3-4- Diurétiques agissant au niveau du canal collecteur..... | 32 |
| B- Etude chimique | |
| I- Méthodes de synthèse des amides et des urées | 34 |
| I-1- Les amides | |
| 1-1- définition..... | 34 |
| 1-2- méthodes de synthèse des amides..... | 34 |
| 2-1- synthèse à partir des chlorures d'acyle..... | 34 |
| 2-2- synthèse à partir des esters..... | 35 |
| 2-3- synthèse à partir des anhydrides d'acide..... | 35 |
| 2-4- synthèse à partir des acides carboxyliques et des carboxylates | |
| D'ammonium..... | 37 |
| 2-5- synthèse à partir des nitriles..... | 37 |
| 2-6- synthèse à partir des oximes de Beckmann..... | 38 |
| I-2- Les urées | |

| | |
|--|----|
| 2-1- définition et généralités..... | 38 |
| 2-2- méthodes de synthèse des urées..... | 38 |
| 2-1- synthèse à partir des isocyanates..... | 38 |
| 2-2- synthèse à partir des N,N'carbonyldibenzotriazole..... | 39 |
| 2-3- synthèse à partir d'acétoacétate éthylique..... | 39 |
| 2-4- synthèse à partir de dioxyde de carbone..... | 40 |
| 2-5- synthèse à partir du phosgène..... | 40 |
| II- synthèse des molécules testées..... | 41 |
| II-1- synthèse des molécules portant la fonction amide..... | 41 |
| II-1-1- schéma générale de la synthèse..... | 41 |
| II-1-2- composés finaux avec les différents groupements R ₁ et R ₂ | 41 |
| II-2- synthèse des molécules portant la fonction urée..... | 42 |
| II-2-1- schéma générale de la synthèse..... | 42 |
| II-2-2- composés finaux avec les différents groupements R ₁ et R ₂ | 42 |

2^{ème} partie : Partie expérimentale

I- Etude pharmacologique *in vivo*

| | |
|---|----|
| I-1- Matériels et méthodes..... | 44 |
| I-1-1- Matériel..... | 44 |
| a- Animaux..... | 44 |
| b- produits chimiques..... | 44 |
| I-1-2- Méthodes..... | 44 |
| 2-1- préparation des solutions administrées..... | 45 |
| 2-2- Tests pharmacologiques : traitement des animaux..... | 45 |
| 2-3- Evaluation de l'effet des composés sur la diurèse..... | 45 |
| a- administration par voie orale..... | 45 |
| b-administration par voie intrapéritonéale..... | 45 |
| I-2- Les dosages..... | 46 |
| 2-1- pH urinaire..... | 46 |
| 2-2- Dosage de l'acide urique..... | 46 |
| 2-3- Dosage du calcium..... | 47 |
| 2-4- Dosage du sodium et du potassium..... | 47 |
| II- Résultat et discussion | |
| II-1- Variation de la diurèse en fonction du temps..... | 48 |
| 1-1- Dose de 25 mg/kg..... | 48 |
| 1-1-1- Voie orale..... | 48 |

| | |
|--|----|
| 1-1-2- voie intrapéritonéale..... | 49 |
| 1-2- Dose de 75 mg/kg..... | 51 |
| 1-2-1- voie orale..... | 51 |
| 1-2-2- voie intrapéritonéale..... | 52 |
| II-2- Effet des composés synthétisés sur les taux urinaires d'acide urique | 54 |
| 2-1- voie orale..... | 54 |
| 2-2- voie intrapéritonéale..... | 54 |
| II-3- pH- urinaire..... | 56 |
| 3-1- voie orale..... | 56 |
| 3-2- voie intrapéritonéale..... | 57 |
| II-4- Dosage du sodium et potassium..... | 58 |
| 4-1- Dosage du sodium urinaire..... | 58 |
| 4-1-1- voie orale..... | 58 |
| 4-1-2- voie intrapéritonéale..... | 59 |
| 4-2- Dosage du potassium urinaire..... | 60 |
| 4-2-1- voie orale..... | 60 |
| 4-2-2- voie intrapéritonéale..... | 61 |
| II-5- Dosage du calcium urinaire..... | 62 |
| 5-1- voie orale..... | 62 |
| 5-2- voie intrapéritonéale..... | 63 |
| Conclusion et perspectives..... | 64 |
| Références bibliographiques..... | 69 |
| Annexe des tableaux..... | 80 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : structure générale des analoges ouverts de dihydrobenzopyranes..... | 1 |
| Figure 2 : structure chimique de la sérotonine, la 5-hydroxy- tryptamine..... | 3 |
| Figure 3 : structure chimique de quelques antiarhythmiques de classe III..... | 4 |
| Figure 4 : structure moléculaire des canaux K_{ATP} | 6 |
| Figure 5 : fonctionnement et régulation d'un canal K_{ATP} | 7 |
| Figure 6 : mécanisme d'action de la somatostatine..... | 10 |
| Figure 7 : structure chimique du cromakalim..... | 11 |
| Figure 8 : structure chimique de quelques benzopyranes..... | 12 |
| Figure 9 : structure chimique d'analogues de dihydrobenzopyranes comportant Une fonction sulfonylurée..... | 12 |
| Figure 10 : structure chimique d'analogues ouverts non cyclique de Dihydrobenzopyranes..... | 13 |
| Figure 11 : structure chimique du nicorandil..... | 13 |
| Figure 12 : structure chimique du sulfate de minoxidil | 14 |
| Figure 13 : structure chimique du pinacidil..... | 14 |
| Figure 14 : structure chimique du P1075. | 15 |
| Figure 15 : structure chimique du dizoxide..... | 15 |
| Figure 16 : structure chimique de l'aprikalim..... | 16 |
| Figure 17 : modèle de la séquence des événements impliqués dans la relaxation du muscle lisse induite par les ouvreurs des canaux K_{ATP} | 16 |
| Figure 18 : séquence des événements impliquées dans la cardioprotection induite par les ouvreurs des canaux K_{ATP} | 19 |
| Figure 19 : structure chimique de l'amiodarone..... | 23 |
| Figure 20 : structure chimique du brétylium..... | 23 |
| Figure 21 : structure générale des sulfonylurées..... | 24 |
| Figure 22 : La voie principale de la sécrétion d'insuline, induite par le glucose et Les Sulfonylurées..... | 27 |
| Figure 23 : structure et division fonctionnelle du néphron..... | 29 |
| Figure 24 : Structures chimiques de quelques diurétiques agissant au niveau de du tube proximal..... | 31 |
| Figure 25 : structure chimique de quelques diurétiques agissant au niveau de l'anse de Hanlé..... | 31 |
| Figure 26 : Structures chimiques des inhibiteurs du co-transporteur Na^+/Cl^- disponibles en pharmacie..... | 32 |

| | |
|---|----|
| Figure 27 : structure chimique de quelques diurétiques agissant au niveau du tube collecteur..... | 32 |
| Figure 28 : Structure chimique de la spironolactone..... | 33 |
| Figure 29 : structure générale d'un amide..... | 34 |
| Figure 30 : structure chimique des molécules cibles..... | 41 |
| Figure 31 : structure générale d'une molécule portant une fonction urée | 42 |
| Figure 32 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie orale..... | 49 |
| Figure 33 : variation de l'élimination de l'urine chaque heure (ml/kg) en fonction du temps après traitement par les différents composés à la dose 25 mg/kg..... | 49 |
| Figure 34 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec différents produits à 25 mg/kg par voie intrantrapéritonéale..... | 50 |
| Figure 35 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec différents produits à la dose 25 mg/kg par voie intrapéritonéale..... | 51 |
| Figure 36 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie orale..... | 52 |
| Figure 37 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec différents produits à la dose 75 mg/kg par voie orale..... | 52 |
| Figure 38 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75mg/kg par voie intrapéritonéale..... | 53 |
| Figure 39 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec les différents produits à la dose 75 mg/kg par voie intrapéritoniale..... | 53 |
| Figure 40 : variation de l'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg. | 40 |
| Figure 41 : variation de l'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des produits par voie intrapéritonéale à différentes doses..... | 56 |
| Figure 42 : pH des urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 57 |
| Figure 43 : pH des urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie intrapéritoniale aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 58 |

| | |
|---|----|
| Figure 44 : variation de la [Na ⁺] urinaire après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 59 |
| Figure 45 : variation de la [Na ⁺] urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 60 |
| Figure 46 : variation de la [K ⁺] urinaire après administration par voie orale des différents produits aux deux doses..... | 61 |
| Figure 47 : variation de la [K ⁺] urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits à différentes doses..... | 62 |
| Figure 48 : variation de la [Ca ²⁺] urinaire après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 63 |
| Figure 49 : variation de la [Ca ²⁺] urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits à différentes doses..... | 64 |

Listes des schémas

| | |
|---|----|
| Schéma 1 : Synthèse à partir des chlorures d'acyle..... | 34 |
| Schéma 2 : mécanisme réactionnel | 35 |
| Schéma 3 : Synthèse à partir des esters..... | 35 |
| Schéma 4 : mécanisme réactionnel | 35 |
| Schéma 5 : Synthèse à partir des anhydrides d'acide..... | 36 |
| Schéma 6 : mécanisme réactionnel | 36 |
| Schéma 7 : mécanisme réactionnel | 36 |
| Schéma 8 : mécanisme réactionnel | 36 |
| Schéma 9 : mécanisme réactionnel | 37 |
| Schéma 10 : Synthèse à partir des nitriles | 37 |
| Schéma 11 : mécanisme réactionnel | 37 |
| Schéma 12 : Synthèse à partir des des oximes de Beckman..... | 38 |
| Schéma 13 : mécanisme réactionnel | 38 |
| Schéma 14 : Synthèse à partir des isocyanates..... | 39 |
| Schéma 15 : Synthèse à partir des N,N'carbonyledibenzotriazole..... | 39 |
| Schéma 16 : Synthèse à partir d'acétoacétate éthylique..... | 40 |
| Schéma 17 : Synthèse à partir de dioxyde de carbone..... | 40 |
| Schéma 18 : Synthèse à partir du phosgène..... | 40 |
| Schéma 19 : Structure générale d'ortho alkoxybenzylamine..... | 41 |
| Schéma 20 : Synthèse d'amide..... | 41 |
| Schéma 21 : Synthèse d'une urée..... | 42 |

Listes des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Principales classes et sous- classes des canaux potassiques..... | 3 |
| Tableau 2 : Bloqueurs potassiques..... | 21 |
| Tableau 3 : Structure des principales sulfonylurées..... | 25 |
| Tableau 4 : Les composés finaux portant la fonction amide et leur différents substituant R ₁ et R ₂ | 42 |
| Tableau 5 : La structure générale des produits testés portant la fonction urée..... | 43 |
| Tableau 6 : Tableau regroupant les molécules testées et leurs structures..... | 44 |
| Tableau 7 : Variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie orale..... | 48 |
| Tableau 8 : Variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie intrapéritonéale..... | 50 |
| Tableau 9 : Variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie orale..... | 51 |
| Tableau 10 : Variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie intrapéritonéale..... | 53 |
| Tableau 11 : Quantité d'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage par rapport aux T1 et T2..... | 54 |
| Tableau 12 : Quantité d'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage par rapport aux T1 et T2..... | 55 |
| Tableau 13 : pH des urines collectées 4 heures après administration des produits par voie orale à différentes doses..... | 56 |
| Tableau 14 : pH des urines collectées 4 heures après administration des produits par voie intrapéritonéale à différentes doses..... | 57 |
| Tableau 15 : Quantité des ions Na ⁺ dans les urines collectées 4 heures après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 58 |
| Tableau 16 : Quantité des ions Na ⁺ dans les urines collectées 4 heures après administration par voie intrapéritonéale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg..... | 59 |
| Tableau 17 : Variation de la concentration des ions K ⁺ urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2..... | 60 |

| | |
|--|----|
| Tableau 18 : Variation de la concentration des ions K^+ urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2..... | 61 |
| Tableau 19 : Variation de la concentration des ions Ca^{2+} urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2..... | 62 |
| Tableau 20 : Variation de la concentration des ions Ca^{2+} urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par intrapéritoniale orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2..... | 63 |

Liste des abréviations :

| | |
|----------------------------|--|
| AA | : Antagoniste de l'aldostérone |
| ABC | : ATP- Binominal Cassette Protein (protéine liant l'ATP) |
| ADP | : Adénosine diphosphate |
| ATP | : Adénosine triphosphate |
| [ATP]_{int} | : Concentration d'ATP intracellulaire |
| BCS | : Bloqueur(s) du canal sodique |
| CC | : Canal collecteur |
| DA | : Diurétique(s) de l'anse |
| DMSO | : Diméthylsulfoxyde |
| DNID | : Diabète non insulino-dépendant |
| DTM | : Domaine transmembranaire |
| ENaC | : Epithelial sodium Channel (canal sodique épithélial) |
| G | : Glomérule |
| HCTZ | : Hydrochlorothiazide |
| IC | : Insert (interleaf) cell (cellule intercalaire) |
| K_{ATP} | : Canal potassiques ATP-dépendant |
| K_{ir} | : Inward rectifier channel (canal potassiques à rectification entrante) |
| Mg²⁺ | : Complexe Magnésium-ATP |
| μM | : Micromolaire |
| mM | : Millimolaire |
| mV | : Millivolt |
| NBF | : Nucleotide Binding Fold (site de fixation des nucléotides) |
| Ps | : Picosiemens |
| STM | : Segment transmembranaire |
| SUR | : Sulfonylurea receptor (récepteur des sulfonurées) |
| TAL | : Thick ascending limb (la branche large ascendante de l'anse de Henle) |
| TCD | : Tubule contourné distal |
| TP | : Tubule proximal |
| VDCC | : Voltage-dependent calcium channels (canaux calciques voltage-dépendants) |

INTRODUCTION
ET OBJECTIF
DE LA RECHERCHE

Introduction et objectif de la recherche

Les canaux potassiques sensibles à l'ATP (canaux K_{ATP}) jouent un rôle fonctionnel important dans les cellules de nombreux tissus incluant la cellule β -pancréatique, le neurone, le muscle cardiaque, le muscle squelettique, le muscle lisse, les reins,...etc. Le nombre d'agents chimiques synthétisés, qui modulent l'activité de ces canaux est en augmentation continue ces dernières années. Ces molécules sont capables, par les potentialités qu'elles possèdent, de devenir des agents thérapeutiques efficaces dans le traitement de nombreuses affections, notamment, l'hypertension artérielle, l'arythmie cardiaque, l'asthme, et qui sont en relation avec les canaux K_{ATP} . Parmi ces molécules, des analogues ouverts de dihydrobenzopyranes, comportant un reste amide ou une fonction urée (figure1), ont retenu notre attention à cause de leur effet vasodilatateur des cellules lisses vasculaires *in vitro*, qui aurait une relation avec l'activation des canaux K_{ATP} [1]. Ces mêmes composés ont donné un effet diurétique intéressant *in vivo* à 50 mg/kg [2, 3].

Dans le présent travail Nous avons effectué cette étude pharmacologique sur des rats de type Wistar Albinos afin d'évaluer l'effet des composés étudiés sur la diurèse, à 25 et 75 mg/kg, en les administrant par deux voies différentes (orale et intrapéritonéale), aussi pour analyser leur effet sur les concentrations de sodium, de potassium, de calcium et de l'acide urique dans les urines sécrétées.

En effet, les canaux K_{ATP} existent au niveau des reins, et nous espérons, grâce à l'effet activateur de ces composés sur les canaux K_{ATP} vasculaires et déjà décrit, qu'ils interagissent avec ceux des reins. Cette interaction affecterait la diurèse et les taux de certains électrolytes urinaires (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , acide urique), ce qui en ferait potentiellement de puissants agents antihypertenseurs.



Figure1 : structure générale des analogues ouverts de dihydrobenzopyranes comportant une : A) fonction urée ; B) fonction amide.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

A- ETUDE
PHARMACOLOGIQUE

I- Les canaux potassiques

I-1- Généralités

La présence ubiquitaire des canaux ioniques suggère leur importance dans l'intégrité du fonctionnement cellulaire. Ils exploitent le gradient ionique entre le côté cytosolique et le côté extracellulaire pour transférer les ions essentiels tels que Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Cl^- d'un côté à l'autre de la membrane excitable et maintenir les processus cellulaires vitaux [4]. Les canaux ioniques, sont généralement classés à partir du principal ion qu'ils transportent, et le mécanisme par lequel ils sont ouverts ou fermés. Parmi ces canaux, la classe la plus abondante est la classe des canaux potassiques, qui présente au moins 16 types plusieurs sous-types déjà décrits. Ils sont responsables de beaucoup de fonctions biologiques des différents tissus cellulaires [4, 5,6].

Les canaux potassiques, une famille ubiquitaire de protéines membranaires, jouent des rôles critiques dans une grande variété de processus physiologiques, à savoir : le contrôle de la contraction musculaire, la génération du rythme cardiaque, l'excitabilité neuronale, la sécrétion de l'insuline, la libération des neurotransmetteurs, le transport épithélial des électrolytes [7-12]. La progression des connaissances sur les canaux potassiques est due à la mise au point de nouvelles méthodes électrophysiologiques (patch-clamp, voltage dépendant) et de substances pharmacologiques spécifiques, ayant des effets activateurs ou inhibiteurs de ces canaux.

1-2-classification des canaux potassiques

La classification la plus récente des canaux potassiques, résumée dans le tableau 1, est basée sur le mécanisme d'ouverture ou d'activation de ces canaux.

Tableau 1: Principales classes et sous- classes des canaux potassiques [13,14].

| | | |
|--|--|--|
| Canaux potassiques voltage- dépendants | | Canaux à rectification retardée K_v (delayed rectifier) |
| | | Canaux à rectification entrante K_{IR} (inward rectifier) |
| | | Canaux à rectification sortante transitoire K_A (transient outward rectifier) |
| Canaux potassiques Ligands- Dépendants | Activés par le calcium (calcium-dépendant) | Canaux à grande conductance BK_{Ca} |
| | | Canaux à moyenne conductance IK_{Ca} |
| | | Canaux à faible conductance SK_{Ca} |
| Canaux potassiques Ligands- Dépendants | Activés par le métabolisme | Canaux potassiques ATP- dépendant (K_{ATP}) |
| | | Canaux potassiques modulées par l'acide arachidonique et les acides gras K_{AA} |
| | | Canaux potassiques activés par l'acétylcholine K_{ACh} |

1-3-modulation des canaux potassiques

D'après les techniques électrophysiologiques, il existe trois voies générales qui modulent les canaux potassiques [15] : par des ligands tels que la sérotonine (figure 2), le récepteur GABA, et le calcium et l'ATP ; par le voltage ; et par les protéines G [16, 17]. Il a été montré que la sérotonine, régule essentiellement les canaux potassiques neuronaux. Des neuromédiateurs variés (acétylcholine, adénosine, somatostatine, GABA et 5HT) activent des récepteurs spécifiques, qui modulent, à leur tour l'activité des canaux potassiques par des protéines G [16].

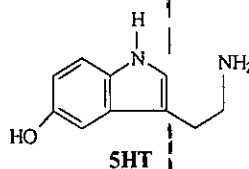


Figure 2: structure chimique de la sérotonine, la 5- hydroxy-tryptamine.

1-3-1-Modulation endogène

Le flux des ions potassium est affecté par certaines substances endogènes, telles que les catécholamines dans le muscle cardiaque et le muscle lisse, et l'acétylcholine dans le tissu cardiaque. L'ATP affecte les canaux potassiques glandulaires, cardiaques et ceux des muscles lisses. Ils sont modulés aussi par les ions calcium qui sont très importants dans les muscles lisses.

Les canaux voltage-dépendants sont très étudiés sur des préparations de muscles lisses cardiaques, et il semble que les ions potassium transportent la majeure partie du courant dans ces canaux.

1-3-2-Modulation exogène

L'activité des canaux potassiques peut être modulée par un certain nombre de substances naturelles ou synthétiques, qui bloquent ou ouvrent ces canaux, offrant ainsi des possibilités à des applications thérapeutiques intéressantes. Certains composés bloquent les canaux potassiques à rectification retardée (K_V) (delayed rectified channels) du muscle cardiaque.

L'apamine, une toxine polypeptidique isolée à partir de venin d'abeille, bloque les canaux potassiques (à basse conductance) régulés par le calcium (SK_{Ca}).

La charybdotoxine, isolée à partir de venin de scorpion, bloque les canaux potassiques (à haute conductance) liés au calcium (BK_{Ca}) dans les cellules squelettiques et du muscle lisse, et les cellules antérieures de l'hypophyse.

La dendrotoxine du venin de serpent, bloque les canaux potassiques transitoires extérieurs (K_A) impliqués dans la phase rapide de répolarisation des neurones du système nerveux central [18].

Un certain nombre de composés synthétiques sont plus sélectifs pour certains canaux sont apparus comme le clofilium, le sotalol et d'autres composés qui sont des prototypes d'une nouvelle classe d'agents antiarythmiques (la classe III), dont le mécanisme d'action passe par une activation des canaux potassiques (figure 3).

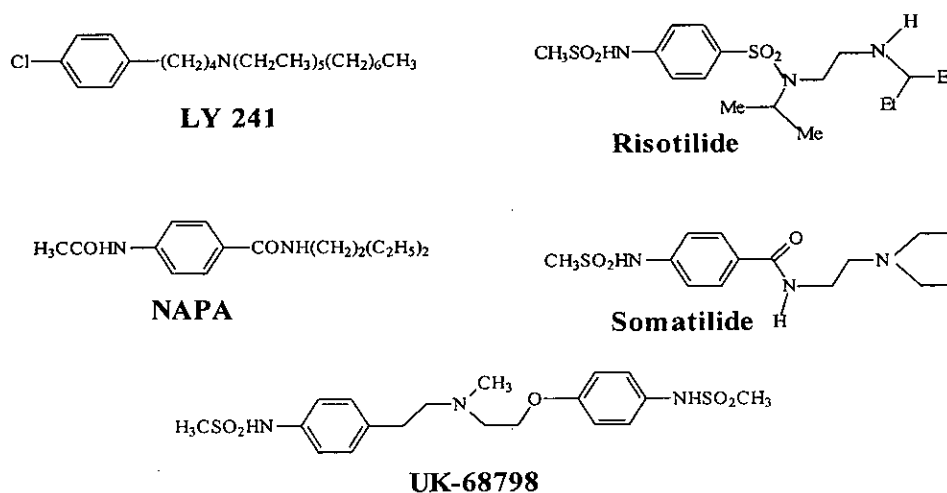


Figure 3: structures chimiques de quelques antiarythmiques de classe III.

II- Les canaux potassiques sensibles à l'ATP

II-1-Généralités

La découverte des canaux potassiques sensibles à l'ATP (K_{ATP}), date des années 80, quand un courant potassique se manifesta lorsque la concentration intracellulaire d'adénosine -5'-triphosphate (ATP) diminuait au niveau du canal unitaire [19]. Ces canaux sont présent dans différents tissus comme le pancréas (dans les îlots de Langerhans) [20], le cœur [21], les muscles squelettiques [22], le muscle lisse vasculaire [23], et dans le cerveau [24]. Ils assurent un couplage entre l'excitabilité et le métabolisme énergétique de la cellule, et jouent un rôle crucial dans différentes fonctions cellulaires.

II -2-Structure moléculaire des canaux K_{ATP}

Les canaux K_{ATP} sont formés de deux tétrahomomères, chaque tétramère comprenant deux types de sous-unités : les sous-unités Kir 6.x (Kir 6.1 ou Kir 6.2) qui forment le pore, et les sous-unités régulatrices SUR (SUR 1, SUR 2A, SUR 2B) qui portent les sites de liaisons des agents ouvreurs ou bloqueurs du canal (figure 4) [25].

II-2-1-Structure des Kir 6.x

Un canal rectifiant entrant (Kir) favorise le flux d'ions entrant par rapport au flux d'ions K^+ sortant. Dans la sous-famille Kir 6.x, il existe deux isoformes : Kir6.1 et Kir6.2 [4-7]. Les deux isoformes ont des extrémités N- et C-terminales cytoplasmiques, deux segments transmembranaires reliés par une boucle H5 qui possède la séquence signature des canaux potassiques (Gly-Tyr-Gly ou Gly-Phe-Gly). Le gène codant Kir 6.2 semble apparié à celui de SUR1, puisqu'il le suit immédiatement sur le chromosome 11 [8]. Les gènes de Kir 6.1 et de SUR 2 sont localisés sur le chromosome 12 [9] (figure 4). La protéine Kir6.2 est principalement exprimée dans les cellules β pancréatiques, le cerveau, le cœur et le muscle squelettique ; la protéine 6.1 s'exprime dans le muscle lisse.

D'autre part, des protéines Kir6.2 tronquées en C-terminal exprimées dans des ovocytes de Xénope, produisent des canaux K_{ATP} fonctionnels en l'absence de SUR [10]. Ces protéines tronquées restent sensibles à l'ATP et possèdent donc un site de liaison à l'ATP. Tucker et al [10] ont localisé les régions liant l'ATP, au niveau des parties intracellulaires de Kir 6.2 jouxtant les 2 hélices transmembranaires. Il est désormais admis que l'ATP se lie sur des sites formés de la partie C-terminale d'une sous-unité Kir 6.2 et la partie N-terminale de la sous-unité adjacente 9.

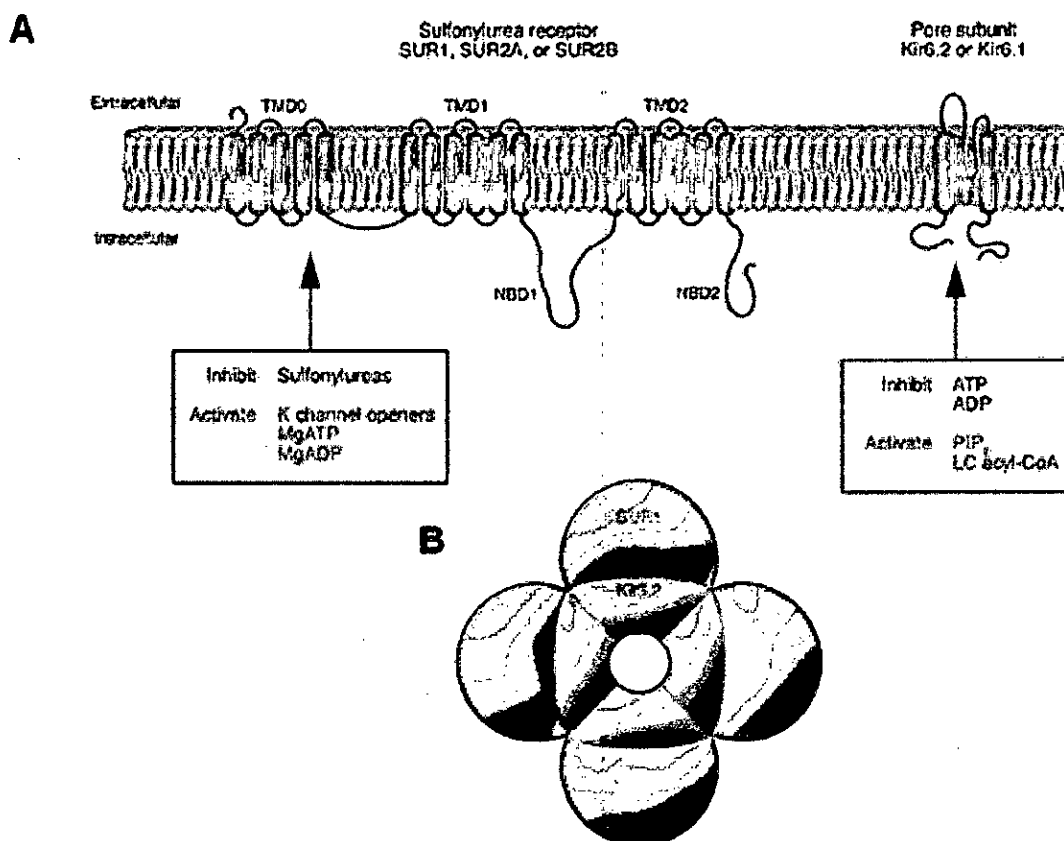


Figure 4 : structure moléculaire des canaux K_{ATP} [26] ; A) représentation de la topologie transmembranaire des sous-unités SUR et Kir ; B) modèle de la combinaison des quatre sous-unités SUR 1 entourant le pore du canal formé de quatre sous-unités Kir 6.2.

II-2-2-Structure des SUR

Les sous-unités SUR « Sulfonylurea Receptor », sont des membres de la superfamille des protéines ABC, c'est-à-dire qu'elles possèdent au moins un domaine de liaison aux Mg nucléotides (ATP-Banding Cassette). La protéine humaine SUR1 est composée de 1582 acides aminés avec un poids moléculaire de 176 kDa (figure 4). La sous-unité SUR du canal β -pancréatique contient 17 segments transmembranaires (STM) formant trois domaines transmembranaires (DTM). Le DTM 0 est le domaine initial et contient l'extrémité amino-terminale extracellulaire et les STM 1-5. Les DTM1 et DTM2 sont composés de 6 segments transmembranaires chacun (6-11 et 12-17 respectivement) ainsi que de deux domaines de liaison aux nucléotides, appelés NBD1 et NBD2 (nucleotide binding domain1 et 2). NBD1 et NBD2 sont des sites de liaison pour le Mg-ATP, avec une préférence pour le NBD1 [4]. Le site de liaison des sulfonylurées se trouve, d'après des études récentes, sur la surface intracellulaire du DTM2 et notamment sur les STM14-15 ainsi que sur la boucle intracellulaire du STM16.

Chez les mammifères, deux gènes encodent la sous-unité SUR. Le premier code pour le SUR pancréatique (SUR1), qui est très sensible aux sulfonylurées et peu sensible aux ouvreurs (à part le diazoxide) [5]. Le deuxième code pour le SUR des muscles (SUR2), dont l'épissage alternatif donne deux isoformes (SUR2A et SUR2B) qui ne diffèrent que dans les 40 derniers acides aminés [6]. SUR2A est le récepteur des myocytes cardiaques et squelettiques [6], SUR2B celui des muscles lisses [7]. Les récepteurs SUR2 diffèrent du SUR1 par leur grande sensibilité aux ouvreurs et leur sensibilité basse pour les sulfonylurées [8].

III - Fonctionnement d'un canal K_{ATP}

Les canaux potassiques ATP-dépendants doivent fonctionner normalement pour assurer le maintien de l'intégrité et la fonction cellulaire. Ces canaux remplissent une fonction cellulaire unique : ils couplent le métabolisme énergétique à l'activité électrique des cellules. Ce couplage fournit des mécanismes régulateurs qui adaptent l'activité de divers types cellulaires à la demande métabolique de l'organe. La propriété déterminante des canaux K_{ATP} est l'inhibition par l'ATP intracellulaire. Le MgADP et le MgGDP agissent comme des antagonistes de cette inhibition [27].

Les canaux K_{ATP} sont ouverts lorsque le rapport ATP/ADP intracellulaire diminue, par exemple durant le stress métabolique, durant l'augmentation de la demande énergétique cellulaire, durant l'hypoxie ou durant une ischémie locale [28- 31] (Figure 5). L'ouverture de ces canaux génère un efflux des ions K^+ , qui s'accompagne d'une réduction du potentiel membranaire (hyperpolarisation), limitant ainsi l'entrée du Ca^{++} à travers les canaux calciques voltage-dépendants et entraînant des modifications des fonctions cellulaires telles que l'insulinosécrétion et la contraction cardiaque [27, 29, 33].

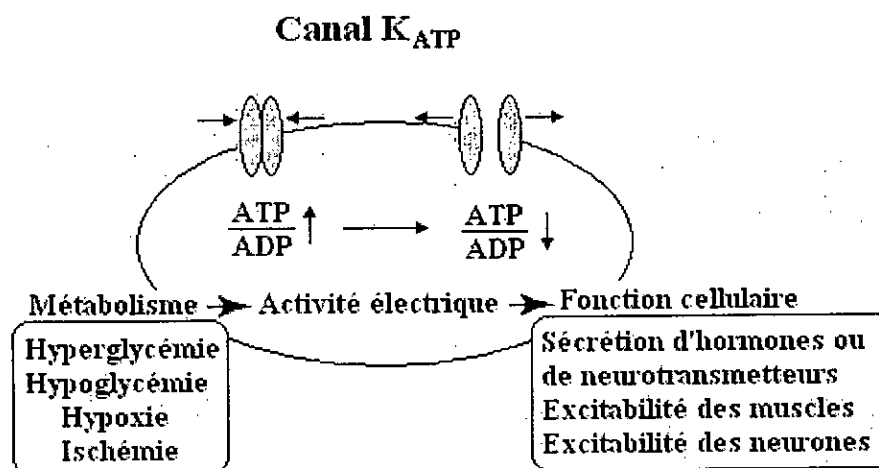


Figure 5 : Fonctionnement et régulation d'un canal K_{ATP} [27].

IV- Régulation des canaux K_{ATP}

IV-1- Régulation endogène des canaux K_{ATP}

-Régulation par les nucléotides

La sensibilité des canaux K_{ATP} vis-à-vis de la concentration des nucléotides cytosoliques signifie clairement que les nucléotides sont impliqués dans la régulation de l'activité du canal. Des enregistrements électriques à partir des cellules β pancréatiques intactes perfusées avec des concentrations croissantes de glucose ont montré une diminution de l'ouverture des canaux K_{ATP} avec une augmentation de la libération d'insuline [34, 35].

Il a été supposé que la régulation métabolique des canaux potassiques ATP-dépendants est assurée, au moins d'une part, par la variation du rapport entre la concentration intracellulaire de l'ATP et de celle de l'ADP. Ces nucléotides influencent l'activité des canaux K_{ATP} par l'interaction avec deux sites distincts sur le canal : l'interaction avec l'un de ces deux sites conduit à l'inhibition du canal alors que l'interaction avec l'autre site entraîne une augmentation de l'activité du canal [36, 37]. L'ADP réagit avec les deux sites, en étant stimulateur à basses concentrations et inhibiteur à fortes concentrations [37]. Il est bien établi que l'ATP réagit avec le site inhibiteur, mais il n'est pas connu s'il est aussi efficace sur le site stimulateur [38].

L'ATP et l'ADP ont trois effets principaux sur l'activité du canal K_{ATP} : le rafraîchissement, l'inhibition et la stimulation [20].

* **P'inhibition** : l'application de l'ATP, avec ou sans Mg^{2+} , sur la face intracellulaire d'une membrane inhibe les canaux K_{ATP} . Les valeurs de IC_{50} ou K_i de cette inhibition sont tout à fait basses, estimées de 5-10 μM pour les canaux des cellules β pancréatiques [39] et dans l'intervalle de 8 à > 500 μM pour ceux des cellules cardiaques [40, 41, 42]. Mais la fluctuation de la $[ATP]_i$ n'est pas suffisante à elle seule pour déclencher la sécrétion d'insuline, l'ADP semble être un facteur critique [43].

* **la stimulation** : tandis que l'ATP inhibe l'activité du canal, l'application de MgADP a montré une stimulation de l'ouverture des canaux en l'absence de l'ATP d'une part, et une possibilité d'activer les canaux inhibés par l'ATP d'une autre part. La présence de Mg^{2+} est critique : l'ADP et les autres nucléotides diphosphates inhibent le canal K_{ATP} en l'absence de Mg^{2+} . Ces observations conduisirent à l'idée qui suppose que le rapport ADP/ATP est critique pour la régulation de l'activité du canal K_{ATP} [44, 45].

Des études récentes ont démontré que l'augmentation du MgADP est le facteur principal qui induit l'ouverture du canal en présence de concentrations bloquantes d'ATP. On peut donc considérer le MgADP comme l'ouvreur physiologique du canal K_{ATP} [46, 47].

- Régulation par d'autres facteurs métaboliques

Bien que les canaux K_{ATP} étaient originalement supposés être essentiellement régulés par les nucléotides intracellulaires ATP et ADP, il est maintenant clair que la régulation de ces canaux est beaucoup plus compliquée. En fait, les canaux K_{ATP} sont régulés par le pH intracellulaire [48 -51], la protéine kinase A [52, 53] et la protéine kinase C [54, 55]. En outre, le phosphatidylinositol-4,5-diphosphate (PIP2), un phospholipide lié à la membrane et impliqué dans la transduction des signaux médiée par la protéine G, peut aussi activer les canaux K_{ATP} [56- 58]. Puisque la concentration du PIP2 est fortement influencée par l'action de la phospholipase C et de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-kinase), la modulation du PIP2 peut jouer un rôle important dans la régulation des canaux K_{ATP} [59, 60]. Les canaux K_{ATP} sont également régulés par l'acide phosphatidique, qui est produit suite à l'activation de la phospholipase D [61].

Récemment, il a été trouvé que l'ouverture des canaux K_{ATP} est modulée par la disponibilité des acides gras à longues chaînes, qui constituent le substrat métabolique principal du cœur. De ce fait, les effets des esters d'acyl CoA sur les canaux K_{ATP} des cellules musculaires cardiaques peuvent être fonctionnellement importants. Il a été montré que les esters d'acyl CoA à longues chaînes tels que l'oléoyl CoA peuvent fortement diminuer la sensibilité des canaux K_{ATP} envers l'inhibition par l'ATP intracellulaire. Ceci implique qu'en présence de concentrations physiologiques d'esters d'acyl CoA à longues chaînes, les canaux K_{ATP} sont probablement ouverts [62].

-Régulation par les hormones et les neurotransmetteurs

Une autre propriété bien connue des canaux potassiques ATP-dépendants est leur régulation tissu-spécifique par les hormones et les neurotransmetteurs, régulation différente de celle exercée par l'interaction des nucléotides avec les NBDs de la sous-unité SUR. Cette régulation fait intervenir la protéine G qui, d'après des études récentes, peut directement moduler les canaux Kir 6.2/SUR 1 et Kir 6.2/SUR 2A [63].

La somatostatine, dont le rôle dans l'aggravation des conséquences du diabète sucré est bien connu, inhibe la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques. L'hormone se fixe sur son récepteur et active une protéine G, provoquant l'activation des canaux K_{ATP} (Figure 6). Cette

L'industrie pharmaceutique a essayé, et essaie encore, de développer de nouveaux ouvreurs qui soient suffisamment sélectifs de l'organe cible.

B- Structure chimique et classification

Bien qu'ils exercent une action commune, les ouvreurs des canaux K_{ATP} ont des structures considérablement variées [78]. D'une façon générale, les ouvreurs des canaux K_{ATP} se divisent en 6 classes de structures chimiques différentes : les benzopyranes tel que le cromakalim ou le levromakalim, les nicotinamides tel que le nicorandil, les pyrimidines tel que minoxidil, les cyanoguanidines tel que le pinacidil, les benzothiazines comme le diazoxide et les thioformamides comme l'aprikalim [79, 80].

B.1- Les benzopyranes

Le prototype de ces activateurs est le cromakalim ou BRL 34915 (Figure 7). Le cromakalim semble agir exclusivement par activation des canaux potassiques ATP-dépendants induisant une relaxation du muscle lisse [78], il est cependant moins actif sur l'inhibition de la sécrétion d'insuline [81, 82]. Le cromakalim a subi des expériences sur les affections coronariennes et l'hypertension, mais son développement est limité en faveur de son isomère actif levromakalim, qui est maintenant sous essais cliniques au Japon et aux Etats unies [83].

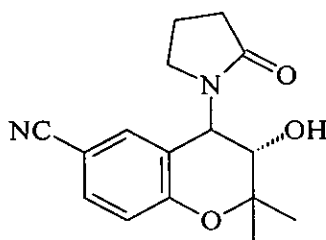


Figure 7 : Structure chimique du cromakalim.

Plusieurs analogues du cromakalim ont été synthétisés tels que le SDZ PCO 400 et le EMD 52692 (Figure 8). Beaucoup d'autres composés sont en développement [75, 84].

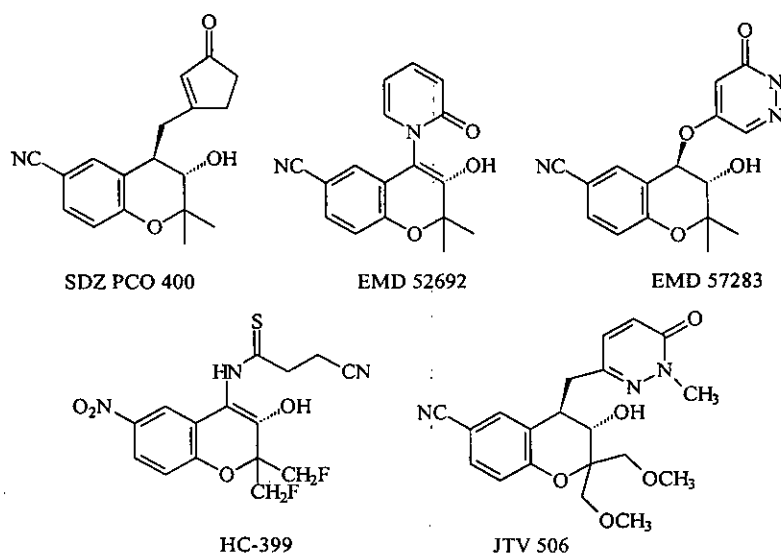


Figure 8 : Structure chimique de quelques benzopyranes.

Des séries de dérivés de benzopyranes ; des *N*-arylsulfonyl-*N'*-(2,2'-diméthyl-2*H*-1-benzopyrane-4-yl) urées (I) et des *N*-arylsulfonyl-*N*-méthyl-*N'*-(2,2'-diméthyl-2*H*-1-benzopyrane-4-yl) urées (II) structurellement apparentés au cromakalim ont été synthétisés récemment et évalués *in vitro* sur deux tissus différents : les îlots pancréatiques et les anneaux aortiques de rat (figure 9) [85, 86].

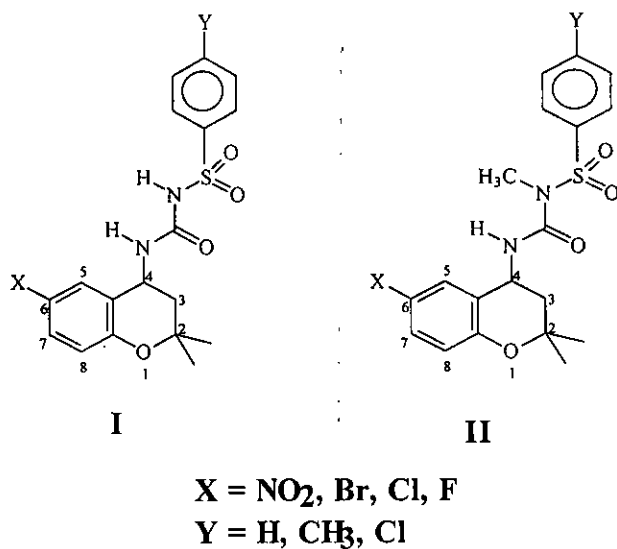
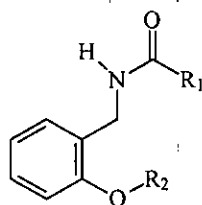


Figure 9 : Structure chimique d'analogues de dihydrobenzopyranes comportant une fonction sulfonylurée.

Les données biologiques indiquent que la majorité de ces composés étaient, comme la molécule de référence (le cromakalim), plus actifs sur le muscle lisse vasculaire (effet myorelaxant des anneaux aortiques du rat précontractés par 30 mM de KCl) que sur le tissu pancréatique (inhibition de la sécrétion d'insuline induite par 16.7 mM de glucose). Cependant, certains composés ont montré une

inhibition remarquable de l'insulinosécrétion [85]. Ce sont en fait les molécules que nous sur lesquelles nous allons réaliser les différents tests *in vivo*.

Il est intéressant de citer le cas de nouveaux analogues non cycliques de dihydrobenzopyranes décrits récemment (figure10) ayant des effets inhibants la sécrétion de l'insuline et des effets myorelaxants vis-à-vis du muscle lisse vasculaire [1]. Il semble que ces nouveaux composés exercent leurs effets par activation des canaux K_{ATP} .



R_1 : alkyl ou aryl (amide), NHR' (urée), $NHSO_2Ar$ (sulfonyluréé)
 R_2 : Me, Et

Figure 10 : structure chimique d'analogues ouverts non cycliques de dihydrobenzopyranes.

B-2- Les nicotinamides

Le chef de fil de cette classe est le nicorandil (Figure 11), un vasodilatateur coronarien qui a été la première molécule identifiée en 1984 comme activatrice des canaux potassiques [87]. Le nicorandil n'a aucune place dans le traitement de l'hypertension, mais il est développé dans plusieurs pays dans le monde pour le traitement de l'angine de poitrine. En fait, il est aussi actif que les autres antiangoreux communs, utilisés pour réduire les symptômes tels que les bêtabloquants, les nitrates et les composés nitrés, et les antagonistes du calcium. La tolérance n'a pas été observée durant les expériences à long terme (jusqu'à 12 semaines). La pression sanguine et les battements du cœur étaient presque constants durant l'utilisation du nicorandil. Les céphalées dues à une dilatation des vaisseaux cérébraux étaient le principal effet secondaire, surtout au début du traitement [88].

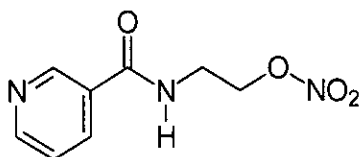


Figure 11 : Structure chimique du nicorandil

B-3- les pyrimidines

Les activateurs potassiques appartenants à cette famille ont un double effet : un effet antihypertenseur par vasodilatation des muscles lisses vasculaire et utérin, et un effet hyperglycémiant par inhibition de la sécrétion d'insuline par les cellules β -pancréatiques [89].

Le représentant de cette classe des activateurs des canaux potassiques est le minoxidil sulfate (Figure 12). Le minoxidil sulfate est un médicament très puissant, mais son usage doit être réservé pour les formes sévères de l'hypertension en cas de l'échec du traitement par d'autres agents. Son usage est limité par les effets secondaires tels que la cardiotoxicité, la stimulation du réflexe sympathique exigeant l'utilisation concomitante des bêtabloqueurs et des diurétiques, et par l'hirsutisme (syndrome caractérisé par la présence de poils dans des zones qui en sont normalement dépourvues) [83].

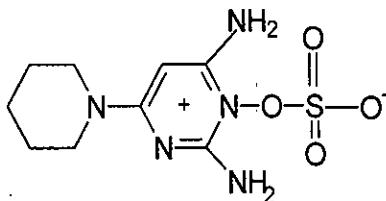


Figure 12 : Structure chimique du sulfate de minoxidil.

B-4- Les cyanoguanidines

Le pinacidil appartient à une autre classe d'activateurs des canaux K_{ATP} qui est la classe des cyanoguanidines (Figure 13). Le pinacidil a été développé dans plusieurs pays européens, et il est le plus largement utilisé de tous les ouvreurs potassiques. Il peut être utilisé seul pour le traitement de l'hypertension légère ou modérée, mais l'élévation réflexe de la fréquence du cœur exige la coadministration d'un bêtabloqueur. Ses effets secondaires sont les mêmes observés avec les vasodilatateurs puissants : céphalées, oedèmes avec prise de poids, rhinites, palpitations et vertiges. Le pinacidil ne doit pas être recommandé comme premier traitement antihypertenseur, car des expériences de long terme manquent encore [83].

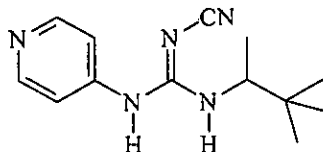


Figure 13 : Structure chimique du pinacidil.

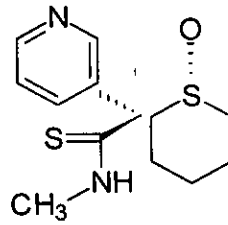


figure 16 : Structure chimique de l'aprikalim.

C- Mécanisme d'action des ouvreurs potassiques :

Bien que chimiquement très différents, les ouvreurs potassiques partagent le même site et le même mécanisme d'action. Ces composés hyperpolarisent la membrane en augmentant la perméabilité des ions K^+ à travers les canaux K_{ATP} , ce qui aboutit à la réduction de l'entrée du Ca^{++} via les canaux calciques voltage-dépendants, modifiant ainsi l'activité cellulaire (Figure 17) [80, 95]. Des expériences électrophysiologiques indiquent que ces drogues peuvent affecter les canaux K_{ATP} des cellules β -pancréatiques [96] et causer un effet similaire à celui observé chez les cellules cardiaques et les muscles lisses vasculaires [97].

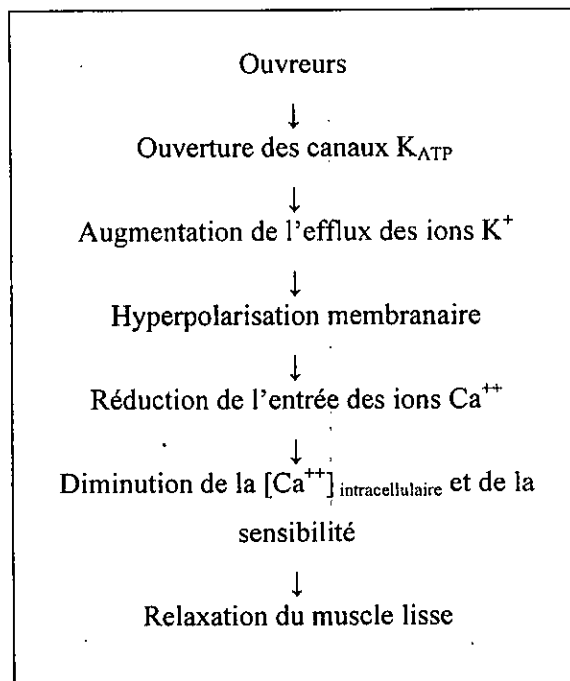


Figure 17 : Modèle de la séquence des événements impliqués dans la relaxation du muscle lisse induite par les ouvreurs des canaux K_{ATP} [75].

En général, les ouvreurs se lient de préférence au SUR 2B (Figure 4) ; leur affinité pour le SUR 2A est 3 à 4 fois plus faible et celle pour le SUR1 l'est encore beaucoup plus (seule exception : le diazoxide) [97- 99]. *In vivo*, l'effet dominant des ouvreurs est une dilatation des vaisseaux artériels sans effet sur les autres muscles lisses ou le cœur [100]. Comment peut-on

comprendre cette sélectivité pour les vaisseaux sanguins, alors que les canaux K_{ATP} de tous les muscles lisses contiennent SUR2B ? Peut-être suffit-il de regarder la composition des canaux : le canal vasculaire contient Kir6.1, qui n'est que faiblement inhibé par l'ATP ; l'ouvreurs peut donc facilement surmonter cette inhibition. Les canaux K_{ATP} des autres muscles lisses et du cœur contiennent Kir6.2, qui est très sensible à l'ATP : dans ces tissus, l'ouvreurs doit donc surmonter une inhibition beaucoup plus forte et n'entre en jeu qu'à des doses plus élevées. En plus, l'activation des canaux par les ouvreurs est uniquement évidente qu'en présence de Mg-ATP, et beaucoup de ces agents (pinacidil, RP 49356, nicorandil et diazoxide) inhibent l'ouverture du canal en absence de Mg-ATP [101, 102]. Le mécanisme principal de cette action inhibitrice reste à déterminer.

D- Effets des ouvreurs sur les canaux K_{ATP} dans les différents tissus

D-1- Les cellules β -pancréatiques

Au niveau des cellules β -pancréatiques, le diazoxide stimule l'ouverture des canaux K_{ATP} , provoquant une hyperpolarisation membranaire et inhibant la sécrétion d'insuline [103-106]. La concentration efficace du diazoxide dans les cellules β -pancréatiques (approximativement $100\mu M$) est similaire à celle qu'il, par laquelle, exerce des effets mécano-inhibiteurs dans le muscle lisse vasculaire. En revanche, d'autres ouvreurs s'avèrent moins puissants sur les canaux K_{ATP} des cellules β -pancréatiques (concentrations efficaces $>100\mu M$) [101,107] que sur les canaux des cellules musculaires lisses des vaisseaux (levcromakalim $\geq 100\text{ nM}$) [108]. Ainsi, le plus puissant des ouvreurs ; le diazoxide, provoque $> 90\%$ d'inhibition de la sécrétion d'insuline à la concentration de $100\mu M$, alors qu'une concentration plus élevée de cromakalim ($500\mu M$) provoque 35% d'inhibition seulement. L'ordre décroissant des ouvreurs selon leur potentiel d'inhiber l'insulinosécrétion est : diazoxide $>$ pinacidil $>$ cromakalim [109].

D-2- Le muscle cardiaque

Le cœur est riche en canaux K_{ATP} . La densité des canaux dans les myocytes cardiaques est estimée à $1-10\mu m^{-2}$ contre $0.1-0.5\mu m^{-2}$ seulement dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux [16,28,110,111]. Les études pharmacologiques ont clairement impliqué les canaux K_{ATP} dans le mécanisme de préconditionnement ischémique (IPC pour *ischemic preconditioning*), mais l'identité et la localisation subcellulaire des canaux impliqués restent incertaines. En effet, les myocytes cardiaques renferment des canaux K_{ATP} dans la membrane cellulaire (surface K_{ATP}) ainsi que dans la mitochondrie (mito K_{ATP}) [112-114]. Les effets cardioprotecteurs ont été initialement attribués aux canaux K_{ATP} de la membrane cellulaire (surface K_{ATP}) [115-117]. Cependant, des études récentes ont prouvé que les canaux K_{ATP} mitochondriaux sont les effecteurs dominants.

Ainsi, le diazoxide, un ouvreur sélectif pour les mito K_{ATP} cardiaques [112], protège les myocytes ventriculaires du lapin dans un modèle ischémique [114], améliore le rétablissement fonctionnel post-ischémique des cœurs des rats et des lapins [113] et réduit le taux de l'infarctus du cœur du lapin [117].

- **le préconditionnement ischémique**

Le préconditionnement ischémique (IPC) est le mécanisme endogène où de brèves périodes d'ischémie protègent paradoxalement le myocarde contre les effets néfastes d'une ischémie ultérieure prolongée [118]. Le préconditionnement ischémique a été démontré chez tous les animaux testés et même chez l'homme, et il est maintenant évident que l'IPC est le plus efficace et reproductible mode de cardioprotection connu à ce jour. Un cœur préconditionné et exposé à un stress ischémique létal et prolongé suivi par une reperfusion possède un taux d'infarctus très réduit, des dommages ultrastructuraux atténués, des réserves d'ATP plus grandes, un rétablissement fonctionnel meilleur avec le moins d'événements arythmiques [119].

Plusieurs expériences effectuées sur des animaux avec le pinacidil, le cromakalim, le bimakalim le nicorandil...etc. ont démontré que ces drogues imitent les effets du préconditionnement physiologique, et on pense qu'ils agissent synergiquement pour préserver l'énergie du myocarde et réduire les dommages de ce tissu [120,121].

Le concept de la cardioprotection, qui semble être l'étape finale de la cascade des événements déclenchés par l'ouverture des canaux K_{ATP} (Figure 18), peut devenir significatif en développant de nouveaux ouvreurs avec une plus grande affinité vis-à-vis du myocarde et des coronaires, tout en évitant l'activité du muscle lisse des autres tissus [122].

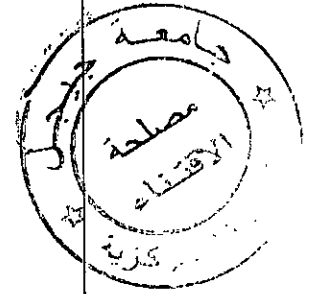
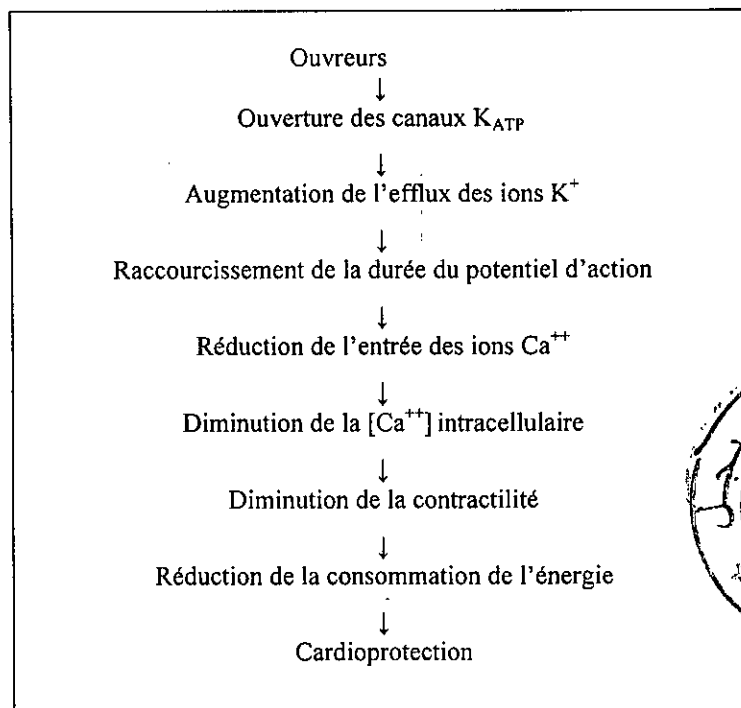


Figure 18 : Séquence des événements impliqués dans la cardioprotection induite par les ouvreurs des canaux K_{ATP} [75].

D- 3- Le muscle lisse vasculaire

Les ouvreurs potassiques sont de puissants vasodilatateurs artériels, ils agissent aussi bien sur la circulation systémique que sur celle pulmonaire ou coronarienne. La relaxation du muscle lisse résulte d'une séquence d'événements communs, comme le montre la figure 17.

La vasodilatation des coronaires a été observée en présence des ouvreurs *in vitro* comme *in vivo*. *In vitro*, les ouvreurs diminuent les contractions de diverses artères : pulmonaires, coronaires, rénales, mésentériques, utérines, l'aorte et d'autres artères, induites par des concentrations élevées de K^+ extracellulaire (20-30 μM) [69, 96, 100].

Les effets du cromakalim et du levromakalim ont été trouvés qu'ils dépendent totalement de l'ouverture des canaux K_{ATP} , alors que les effets du pinacidil semblent être plus compliqués [75]. L'ordre décroissant des ouvreurs selon leur potentiel d'inhiber l'activité spontanée du muscle lisse vasculaire est : cromakalim (effet maximal produit par 1 μM) > pinacidil (effet maximal produit par 3 μM) > diazoxide (concentration maximale efficace 100 μM) [123], contrairement à ce qui s'observe en cas de l'inhibition de la libération d'insuline par le pancréas (diazoxide > pinacidil > cromakalim) [109].

Des études hémodynamiques sur les animaux et les humains ont révélé que les ouvreurs diminuent la pression sanguine d'une manière dose-dépendante chez les hypertendus ainsi que chez les normotensifs [124].

D-4- Le muscle squelettique

Des canaux K_{ATP} d'une conductance unitaire située entre 40-90 pS ont été décrits aussi bien dans les cellules musculaires squelettiques des mammifères que dans celles des amphibiens [125-128]. Les effets des ouvreurs sur les muscles squelettiques ont été investigués dans quelques études. Dans les expériences effectuées sur des cellules musculaires squelettiques saines, Weik et Neumcke trouvèrent que le diazoxide avait peu d'effet, tandis que le pinacidil et le cromakalim ont tous deux augmenté la probabilité de l'ouverture du canal en présence d'une concentration inhibitrice d'ATP. Ces agents étaient sans effet en absence de l'ATP intracellulaire, contrairement au RP 49356 qui a augmenté la possibilité de l'ouverture du canal même en absence de l'ATP intracellulaire [129]. Les auteurs ont conclu que le cromakalim, le pinacidil et le RP 49356 ont tous déplacé l'ATP de son site sur le canal, alors que le RP 49356 était, en plus, capable d'ouvrir les canaux préalablement inactifs. Les effets des ouvreurs sur le muscle squelettique affecté ont été explorés par Wareham [70]. Au niveau du muscle squelettique obtenu à partir des patients atteints de la paralysie hyperkaliémique, le cromakalim a augmenté le courant K^+ et rétabli le potentiel membranaire des fibres dépolarisées [130,131].

D-5- Les neurones

L'évidence en faveur de la présence des canaux K_{ATP} dans les neurones est indirecte et est essentiellement dérivée des études de la liaison des sulfonylurées aux membranes du cerveau, et des effets pharmacologiques des ouvreurs potassiques qui sont réductibles par les inhibiteurs des K_{ATP} . En utilisant l'autoradiographie, Mourre et al. [132,133] ont récemment décrit la localisation des sites de fixation des sulfonylurées. Le taux de liaison le plus élevé était détecté au niveau de la substance grise, le pallidum ventral, le néocortex moteur et des parties du cortex cérébelleux. D'autres études complémentaires ont été effectuées par Gehlert [134] et al. et par Treherne et Ashford [135].

Des investigations initiales [136] ont montré que le cromakalim diminue l'excitabilité neuronale, et dans des expériences ultérieures, une légère hyperpolarisation et une activation d'un courant K^+ à rectification entrante ont été détectées [137,138]. La meilleure preuve (mais encore indirecte) de révélation de l'existence des canaux K_{ATP} au niveau du cerveau est celle menée sur la substance grise. Dans cette région, les sulfonylurées ou une élévation du glucose extracellulaire,

augmentent la libération de la [³H]-GABA, des effets qui sont inhibés par une multitude d'ouvriers potassiques [139,140]. L'ordre de la puissance de ces ouvriers (levcromakalim > nicorandil > cromakalim > diazoxide > pinacidil) est différent de celui constaté au niveau des cellules β -pancréatiques ou encore celui du muscle lisse vasculaire, indiquant probablement une différence entre le canal K_{ATP} cible de cette région cérébrale de celui des autres tissus [140].

IV-2-2- Les bloqueurs

Les agents qui restreignent le mouvement des ions K^+ à travers les canaux K_{ATP} ont été décrits comme bloqueurs, antagonistes ou encore inhibiteurs des canaux potassiques [24]. Ces agents appartiennent à des classes chimiques tout à fait différentes : les cations inorganiques, les composés d'ammoniums quaternaires, les aminopyridines, les sulfonyles, les antiarythmiques de classe III et les toxines naturelles, comme le montre le tableau 2.

Les cations inorganiques, les aminopyridines, les composés d'ammonium quaternaires et les toxines naturelles sont principalement utilisés comme outils pharmacologiques. Leur efficacité et spécificité sont extrêmement variables, et leur site et mode d'action restent peu clairs [83].

Tableau 2 : Bloqueurs potassiques [76].

| Classe | Exemples |
|---------------------------------|---|
| Composés d'ammonium quaternaire | Tetraéthylammonium (TEA) |
| Aminopyridines | 4-aminopyridine 3,4-diaminopyridine |
| Cations inorganiques | Li^+ , Cs^+ , Ba^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} |
| Toxines naturelles | Apamine (abeille), charibdotoxine, leurotoxine, noxiustoxine (scorpion), dendrotoxine (serpent), iberiotoxine, conotoxine (escargot marin), strychnine (plante brésilienne), falloïdine (champignon), capsaïcine (poivre), etc. |
| Antiarythmiques de classe III | Amiodarone, brétylium, béthanidine, clofilium, sotalol, ibutilide, dofétilide, etc. |
| Dérivés des sulfonyles | Glibenclamide, tolbutamide, etc. |

A- Les ammonium quaternaires

Ils sont très largement utilisés comme bloqueurs, cependant, ils ne sont pas sélectifs et bloquent les canaux voltage-dépendants ainsi que ceux ATP-dépendants [83].

B- Les aminopyridines

Elles sont plus sélectives et plus puissantes que l'ammonium quaternaires. Le résultat étant une élévation de la tension résiduelle et la contractilité des muscles lisses vasculaires et non vasculaires, et une augmentation de la libération des neurotransmetteurs à partir des neurones parasympathiques [69, 96].

C- Les toxines naturelles

Elles sont dérivées des plantes exotiques ainsi que des venins de serpents et de scorpions. Elles ne sont que très peu sélectives aux K_{ATP} , mais elles sont, par contre, très sélectives aux autres canaux potassiques, et sont donc plus efficaces comme outils pharmacologiques pour l'identification des divers sous-types des canaux potassiques [96].

D- Les antiarythmiques de classe III

Les antiarythmiques sont des médicaments utilisés pour traiter les troubles du rythme cardiaque. Ils sont généralement répartis en quatre classes, en fonction de leur mécanisme d'action sur les courants ioniques cellulaires. Les antiarythmiques modifient les flux transmembranaires de façon directe, en agissant sur les canaux ioniques des membranes cellulaires, ou indirecte en intervenant au niveau du système nerveux sympathique (qui contrôle le rythme des contractions cardiaques) [91].

Les antiarythmiques de classe III agissent en réduisant le courant potassique. Ils ralentissent la conduction dans les nœuds sino-auriculaires et auriculo-ventriculaire en allongeant la durée de repolarisation et augmentent la durée du potentiel d'action [141]. Le principal représentant de cette classe est l'amiodarone (Figure 19), qui induit un ralentissement du flux ionique de potassium dans les cellules cardiaques. Cette modification se traduit par un allongement du potentiel d'action (de 30 à 50 %), qui conduit à une diminution de l'excitabilité des cellules des fibres musculaires cardiaques et à un ralentissement de la conduction de l'influx nerveux. L'amiodarone est réservée aux arythmies graves, en cas de contre-indications ou de résistance aux autres traitements. Elle possède, par ailleurs, un effet vasodilatateur marqué, entraînant une diminution des résistances

artérielles périphériques, particulièrement nette au niveau des coronaires (d'où une utilisation comme antiangoreux) [142].

Les concentrations plasmatiques thérapeutiques sont de 1 à 4 µg/ml. Sa résorption digestive est lente et incomplète (40 à 50 %). La fixation aux protéines plasmatiques est importante. Après administration orale d'une dose unique, le pic sérique apparaît entre 4 et 7 heures et la demi-vie plasmatique est voisine de 14 à 20 heures.

Du fait de sa grande lipophilie, l'amiodarone s'accumule dans les tissus (adipeux, myocardique et musculaire) et, en réalité, son action ne commence qu'après 5 à 6 jours ; un plateau d'équilibre est atteint après 3 semaines de traitement et l'effet peut persister 40 jours après arrêt du traitement [87].

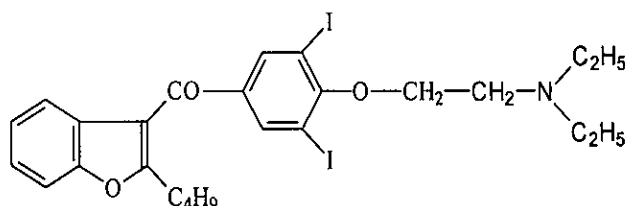


Figure 19: Structure chimique de l'amiodarone.

Une autre molécule de cette famille, le brétylium (Figure 20), est réservée à l'usage hospitalier dans les troubles graves du rythme ventriculaire (phase aiguë de l'infarctus du myocarde) et dans les cas de fibrillation ventriculaire. Le mode d'administration est par perfusion lente, à raison de 10 mg/kg/j et une surveillance particulière est nécessaire [143].

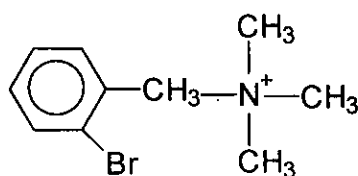


Figure 20 : Structure chimique du brétylium.

E- Les sulfonylurées

Les sulfonylurées utilisées, depuis de longues années, dans les traitements par voie orale du diabète sucré non insulino-dépendant, suscitent un gain d'intérêt depuis les progrès réalisés dans la connaissance de leur mécanisme d'action avec la mise en évidence de leurs propriétés antagonistes des canaux K_{ATP} [144].

a-Historique

Ces médicaments résultent de la conjonction d'une observation clinique et d'une étude pharmacologique menée de pair. A Montpellier, en 1942, Janbon et ses collaborateurs remarquèrent que des patients traités par des sulfamides antibactériens – les seuls anti-infectieux dont on disposait à cette époque – pour combattre des infections à salmonelles subissent une hypoglycémie et même un coma éventuel mortel [145].

L'équipe de Loubatières démontra que chez l'animal ces sulfamides exercent, du moins à court terme, les effets suivants :

- libération d'insuline endogène à partir des cellules β du pancréas,
- potentialisation de l'action de l'insuline,
- action cytostatique permettant la création de cellules β à partir de cellules pancréatiques indifférenciées [146].

Ces résultats ont autorisés les premiers essais cliniques avec les sulfamides directement dérivés des antibactériens, c'est-à-dire présentant l'enchaînement classique : H_2N -aryle- SO_2 -NH-hétérocycle.

b- Nomenclature

Les DCI des sulfonylurées utilisées dans le traitement du DNID ne sont réellement entrées en application que plusieurs années après leur développement. Ainsi les produits les plus récents sont-ils caractérisés par le préfixe gli. On notera que les sulfonamides de structure proche des antibactériens se distinguent par le préfixe gly : glybuthiazole, glymidine. Les dénominations chimiques des sulfonylurées se terminent toujours par le suffixe urée [14].

c- Structure générale et relation structure-activité

C'est après la deuxième guerre mondiale que se sont réellement développées les recherches dans cette direction, surtout en Allemagne, et l'étude des relations structure-activité a très vite montré l'intérêt des sulfonylurées, c'est-à-dire les composés présentant la structure générale illustrée par la figure 21 [147].

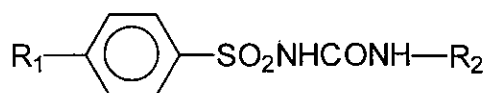

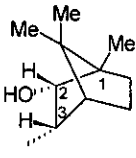
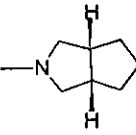

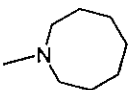
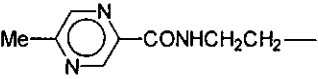
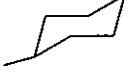
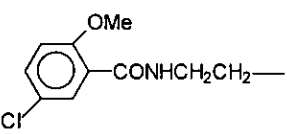

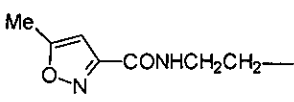
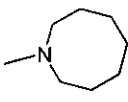
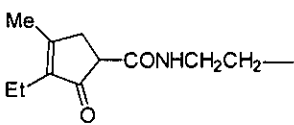
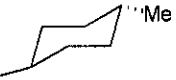
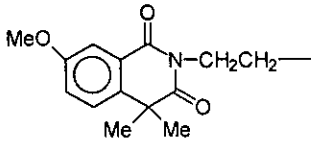



Figure 21 : Structure générale des sulfonylurées.

Le tableau 3 fournit la liste des composés le plus couramment utilisés. Il existe aussi une classification peu justifiée autrement que par la chronologie qui désigne sous l'appellation *sulfonylurées de première génération* : carbutamide, tolbutamide et chlorpropamide et *sulfonylurées de deuxième génération*, les suivants [14].

Tableau 3 : Structure des principales sulfonylurées [26].

| CDI | R ₁ | R ₂ | Dose par comprimé (mg) |
|------------------------------|---|--|---|
| Carbutamide | H ₂ N- | -(CH ₂) ₃ -CH ₃ | 500 |
| Tolbutamide | Me- | -(CH ₂) ₃ -CH ₃ | 500 |
| Chlorpropamide | Cl- | -(CH ₂) ₂ -CH ₃ | 250 |
| Métahexamide | Me- (et H ₂ N- en méta) |  | 50 |
| Glibornuride | Me- |  | 25 |
| Gliclazide | Me- |  | 80 |
| Acétohexamide | Me-CO- |  | 500 sécables |
| Tolazamide | Me- |  | 100 200 |
| Glipizide |  |  | 5 |
| Glibenclamide (glyburide) |  |  | 5 2.5 1.25 |
| Glisopexide |  |  | 4 |
| Glimépiride HOE 490 |  |  | En cours d'évaluation (phase III) aux USA. |

| | | | |
|------------|---|--|----|
| Gliquidone |  |  | 30 |
|------------|---|--|----|

Les relations structure-activité issues de l'examen des très nombreuses structures synthétisées dans la famille des sulfonylurées destinées à traiter les diabétiques, ont permis de mettre en évidence la nécessité de l'intégrité du groupe Ar-SO₂-NH-CO-NH- et tout particulièrement la présence d'un hydrogène sur l'azote voisin du sulfonyle [145].

Il faut, par ailleurs, signaler que le groupe sulfonylurée se révèle posséder d'autres potentialités d'activité biologique. On le rencontre en effet aussi dans les herbicides et les antitumoraux [148, 149].

d- Effets des sulfonylurées sur les différents tissus

Les sulfonylurées sont des bloqueurs très sélectifs des canaux K_{ATP} des cellules β-pancréatiques, elles stimulent la sécrétion d'insuline en inhibant les canaux K_{ATP} de ces cellules [104,150-152]. Les études ont montré que les sulfonylurées sont également des bloqueurs sélectifs aux canaux K_{ATP} des cardiomyocytes [153] et des muscles squelettiques [154].

d-1- Effets pancréatiques

Au niveau pancréatique, l'insuline assure le contrôle de la concentration sanguine du glucose et, à l'inverse, la glycémie contrôle la sécrétion d'insuline des cellules β-pancréatiques. Expérimentalement :

- En l'absence d'exposition au glucose, la cellule β est bien polarisée (-70 à -60 mV) et possède alors un statut de cellule non excitable. Elle n'engendre pas de potentiel d'action et ne sécrète pas ou peu d'insuline. Dans cet état, de nombreux canaux potassiques, dont les ATP-dépendants, sont ouverts.
- Lors de perfusion de glucose (la cellule β répond en élevant son métabolisme et son taux intracellulaire d'ATP), apparaît la dépolarisation accompagnée d'activité électrique ; la cellule est devenue excitable. Après quelque temps, la cellule perd son excitabilité et pourra la recouvrer si la perfusion en glucose persiste [155].

Le glucose a déclenché la production intracellulaire d'ATP qui a entraîné la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants. Cette dernière conditionne une succession d'autres évènements (Figure 22) :

- la dépolarisation amène le potentiel de membrane au seuil d'activation des canaux calciques voltage-dépendants (VDCC pour *Voltage-dependent calcium channels*). Cette activation est responsable de la production de potentiels d'action répétitifs ; l'ouverture de ces canaux provoque l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire indispensable à la sécrétion de l'insuline,
- ensuite, l'augmentation de $[Ca^{2+}]_{int.}$ provoque l'ouverture des canaux potassiques calcium-dépendants, qui à son tour, entraîne la repolarisation cellulaire, ce qui élimine l'activité électrique répétitive [70,155].

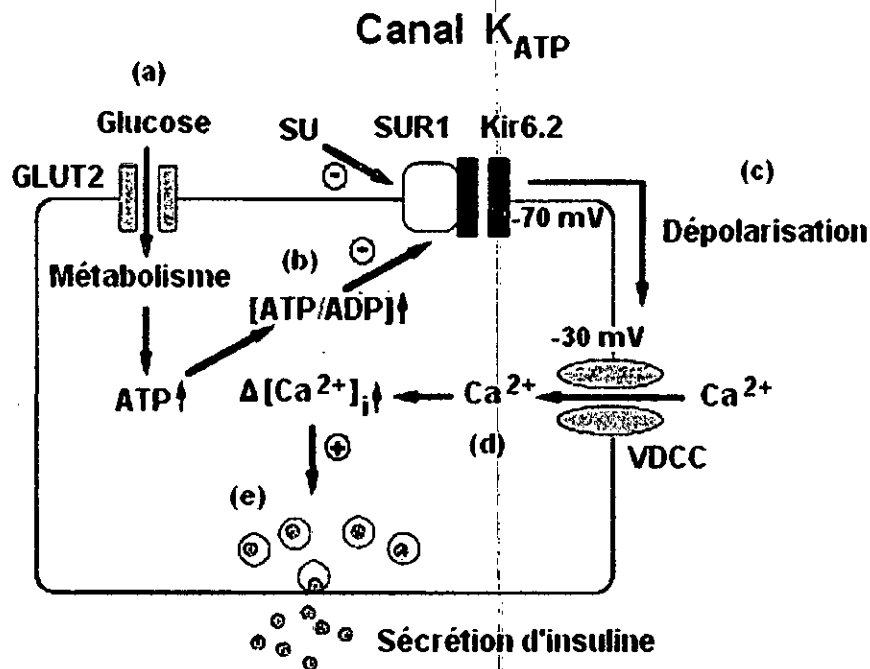


Figure 22 : La voie principale de la sécrétion d'insuline, induite par le glucose et les sulfonylurées.

V- Les diurétiques

V-1- introduction

Famille thérapeutique indispensable, les diurétiques sont utilisés pour ajuster le volume et la composition des liquides de l'organisme. Ils agissent principalement en diminuant la réabsorption de NaCl à différents endroits du néphron, ce qui se traduit par une excrétion urinaire accrue de Na⁺ et d'eau. Cette propriété d'induire une balance hydrosodée négative rend les diurétiques particulièrement utiles dans diverses situations cliniques, notamment l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale, le syndrome néphrétique et la cirrhose [156] et ceci malgré l'avènement successif de trois nouvelles classes d'antihypertenseurs : les β-bloqueurs, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les antagonistes du calcium et les activateurs potassiques [157-159].

Le développement de la prescription des diurétiques s'est accompagné d'une meilleure connaissance du fonctionnement du néphron et des mécanismes très complexes régulant le mouvement des ions à travers les membranes des cellules [160]. La bonne compréhension des mécanismes d'actions des diurétiques nécessite un rappel des principaux mécanismes physiologiques du fonctionnement du néphron.

V-2-Rappel physiologique

Les reins sont constitués par la juxtaposition d'éléments urinaires, les néphrons, et d'un système vasculaire spécialisé formé de deux réseaux de capillaires successifs permettant l'échanges d'eau et des électrolytes entre les deux compartiments.

Le néphron est l'unité fonctionnelle rénale, il est composé d'un glomérule qui est un bouquet de capillaires, d'un tube proximal, de l'anse de Hanlé avec une partie grêle et une partie plus épaisse : la branche ascendante, du tube distal et du tube collecteur (figure 23) [161].

La formation de l'urine est le résultat de trois processus : la filtration glomérulaire, la réabsorption et la sécrétion tubulaire. [157,160].

-Filtration glomérulaire : le volume filtré par les glomérules représente environ 1/5 du volume plasmatique parcourant les reins, soit approximativement 120 ml/min. La filtration glomérulaire s'abaisse quand la pression artérielle est inférieure à 60-70 mmHg , mais du fait d'une auto-régulation du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire , les variations de la filtration glomérulaire restent de très faibles amplitude ; il en est de même lorsque la pression artérielle s'élève de 70 à 180 mmHg . Les glomérules rénaux produisent quotidiennement environ 180 litres

de filtrat (pré-urine). Toutes les substances dissoutes, à l'exception des molécules de poids moléculaires supérieurs à 60000 daltons, franchissent la membrane du glomérule. L'osmolarité de l'ultrafiltrat glomérulaire et sa concentration en électrolyte sont identiques à celles du plasma : 180 litres par 24 heure renferment 600g de NaCl excrété, teneur élevée qui souligne l'importance de la fonction de réabsorption [157-159].

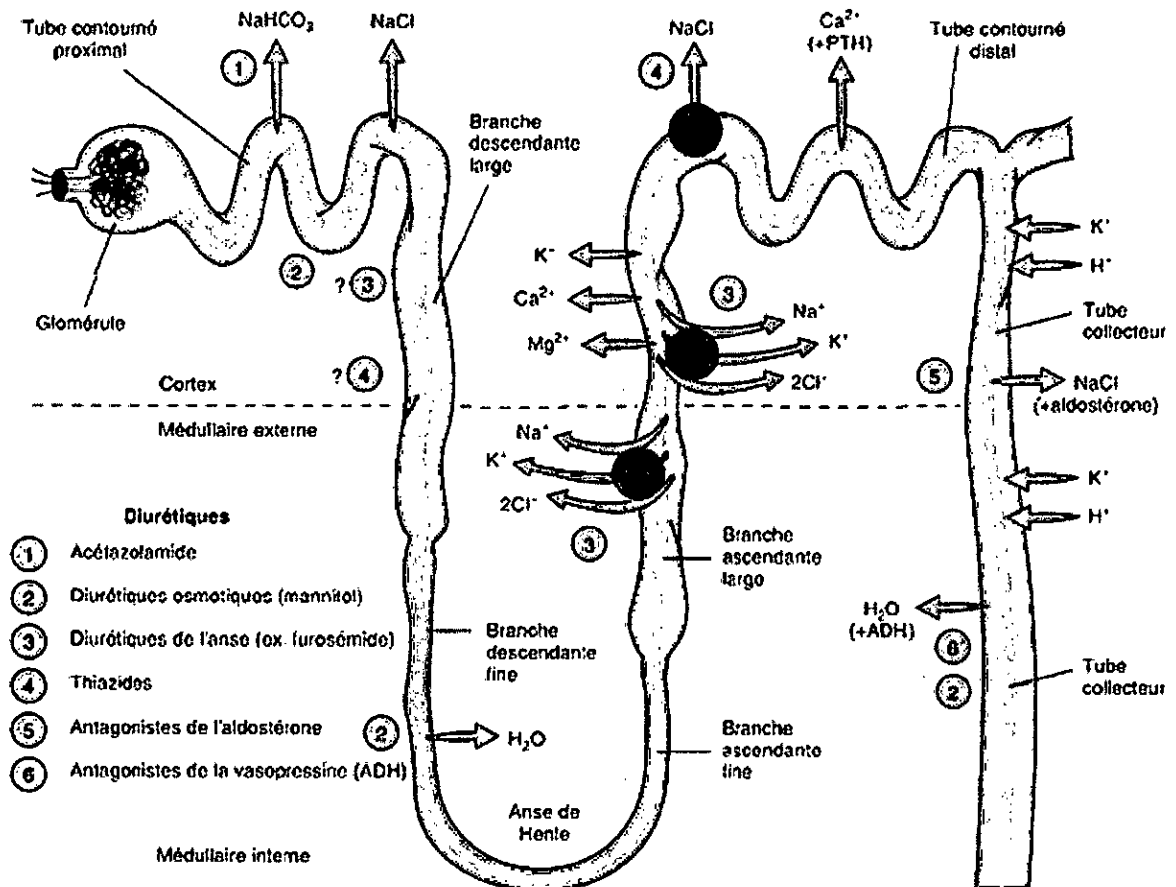


Figure 23 : structure et division fonctionnelle du néphron.

-La réabsorption : elle concerne 99 % de l'eau filtrée et 99,5 % du sodium filtré. Elle est réalisée à près de 90 % pour la plupart des solutés dans le tube contourné proximal et dans l'anse de Hanlé. Au niveau du néphron, le sodium est réabsorbé en 4 points :

* tube contourné proximal : à ce niveau, la plus grande partie du sodium est réabsorbée (environ 65 %). Les deux tiers de l'ultrafiltration glomérulaire sont réabsorbés avec le NaCl et les bicarbonates de façon iso osmotique par rapport au plasma.

* branche ascendante de l'anse de Hanlé: il existe une réabsorption active de chlore et de sodium (25% du sodium), sans réabsorption d'eau. Il existe donc un gradient cortico-papillaire.

* partie haute de la branche ascendante : à ce niveau, une réabsorption de chlore et de sodium rend le contenu tubulaire hypotonique par rapport au plasma. Ce segment est appelé aussi segment de dilution.

* tube contourné distal- tube collecteur : c'est à ce niveau qu'est réalisé l'ajustement final de la quantité de sodium éliminée dans les urines. Il existe une réabsorption passive d'eau et 1 à 2 % du sodium est filtré suivant l'hypertonie médullaire. Il n'existe pas de réabsorption de chlore. Ce déséquilibre de charge est compensé par une élimination d'ions potassium en particulier. Cette perméabilité de l'épithélium tubulaire est régulée par l'aldostérone.

-La sécrétion tubulaire : au niveau du tube proximal, il y a sécrétion d'ions H^+ . Il y a aussi sécrétion de nombreux médicaments à fonction acide : acide p-amino-hippurique, les diurétiques thiazidiques, la pénicilline, l'indométacine, l'acide salicylique, et à fonction basique histamine, thiamine, choline, morphine et l'amiloride.

Au niveau de la partie basse de l'anse de Hanlé, il n'y a pas de sécrétion mais dans la partie haute il y a sécrétion d'urine, alors que dans le tube contourné distal et le tube collecteur il y a sécrétion d'ions H^+ , K^+ , et d'ammoniac [159].

V-3-Classification et mode d'action des diurétiques

La classification des diurétiques a été fondée sur différentes idées telles que le site d'action (diurétiques de l'anse), l'efficacité (diurétiques à posologie maximale élevée), la structure chimique (diurétiques thiazidiques), la similarité d'action avec d'autres diurétiques (diurétiques proches des thiazidiques), les effets sur l'excrétion potassique (diurétiques épargneurs de potassium), etc. Le mécanisme d'action de chacune des grandes classes de diurétiques est assez bien compris, et les cibles cellulaires ont été clonées. Par conséquent, une classification schématique fondée sur le site d'action est maintenue possible et sera utilisée dans notre étude [156].

V-3-1- Diurétiques agissant au niveau du tube proximal

Environ 2/3 du Na^+ et de l'eau filtrés sont réabsorbés au niveau du tube proximal. Un des mécanismes intervenant à ce niveau est l'échangeur Na^+/H^+ qui réabsorbe un Na^+ en échange d'un H^+ qui est sécrété dans la lumière. Ce dernier, en se couplant au HCO_3^- filtré, va former de l'acide carbonique qui sera transformé en CO_2 et en eau sous l'action de l'anhydrase carbonique (AC). Les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (IAC) (Acétazolamide, dichlofénamide, méthazolamide) inhibent l'échange Na^+/H^+ de la membrane apicale (Figure 24). Le résultat de cette inhibition est une excrétion urinaire accrue de Na^+ , Cl^- et HCO_3^- (diurèse alcaline) [160].

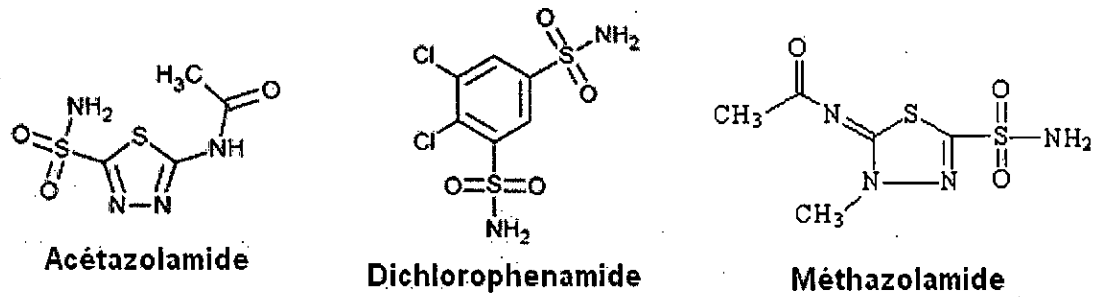


Figure 24 : Structures chimiques de quelques diurétiques agissant au niveau de du tube proximal.

V-3-2- Diurétiques de l'anse

Environ 25% du NaCl filtré est réabsorbé au niveau de l'anse de Hanlé. La réabsorption de NaCl au niveau de la partie épaisse ascendante de l'anse est médiée par un co-transporteur Na⁺/K⁺/2Cl⁻ situé dans la membrane apicale. Le K⁺ réabsorbé par ce transporteur est rapidement recyclé grâce au canal potassique apical, le Na⁺ et le Cl⁻ étant expulsés au niveau basolatéral. Le recyclage apical du K⁺ est crucial, car il va générer une charge positive dans la lumière tubulaire, charge qui va favoriser la réabsorption paracellulaire des cations divalents, essentiellement Ca²⁺ et Mg²⁺. Les diurétiques de l'anse (furosémide, bumétanide et torasémide) inhibent directement le cotransporteur apical (Figure 25). Ces diurétiques anioniques circulent couplés aux protéines, ce qui empêche leur filtration au niveau glomérulaire. En revanche, ils sont sécrétés dans la lumière du tube proximal par un système de transport d'anions organiques, et suivent ensuite le flux tubulaire pour atteindre leur cible au niveau de la partie épaisse ascendante de l'anse. Les diurétiques de l'anse sont des diurétiques puissants qui entraînent l'excrétion urinaire de Na⁺, Cl⁻, et K⁺ [161].

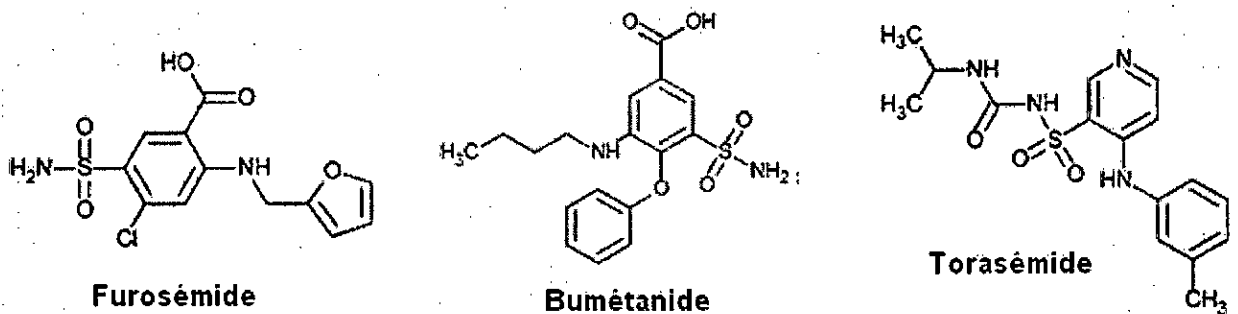


Figure 25 : structure chimique de quelques diurétiques agissant au niveau de l'anse de Hanlé

V-3-3- Diurétiques agissant au niveau du tube contourné distal

Le tube contourné distal réabsorbe 5 à 10% du NaCl filtré. Cette réabsorption est médiée par un cotransporteur Na⁺/Cl⁻ localisé au niveau de la membrane apicale (Figure 23). Ces diurétiques, regroupés sous le nom de thiazides (chlorthalidone, hydrochlorothiazide, chlorothiazide, trichlorométhiazide) (figure 26) sont également des anions sécrétés dans la lumière tubulaire

proximale pour suivre le flux urinaire jusqu'au tube contourné distal. En bloquant la réabsorption de Na^+ à ce niveau, les thiazides entraînent une perte urinaire de Na^+ , et augmentent aussi l'élimination urinaire de Mg^{2+} . Mais contrairement aux diurétiques de l'anse, ils diminuent l'excrétion urinaire de Ca^{2+} . Le mécanisme responsable de cette propriété intéressante reste mal connu. Utilisés seuls, les thiazides sont peu efficaces lorsque la filtration glomérulaire est inférieure à 50 ml/min [162].

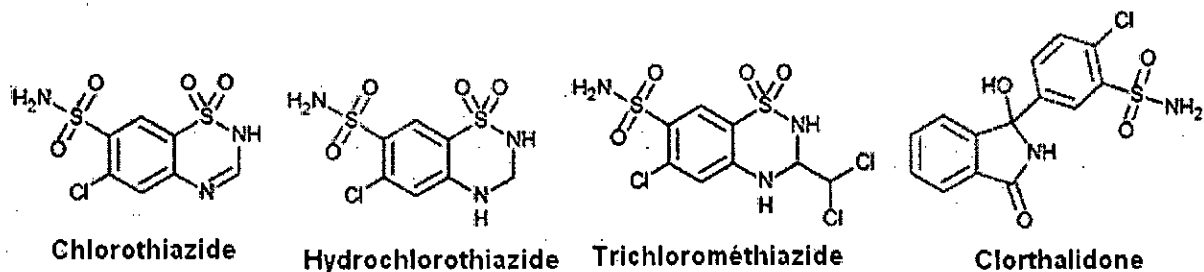


Figure 26 : Structures chimiques des inhibiteurs du co-transporteur Na^+/Cl^- disponibles en pharmacie.

V-3-4- Diurétiques agissant au niveau du canal collecteur

Trois à 5 % seulement du NaCl filtré est réabsorbé au niveau du canal collecteur. Cette réabsorption est médiée, au niveau apical, par le canal sodique (Figure 23). A ce niveau du néphron, la réabsorption d'un Na^+ entraîne automatiquement la perte d'un K^+ ou d'un H^+ dans les urines. Cet échange distal de Na^+ contre un K^+ ou un H^+ explique le risque de déplétion potassique associé à l'utilisation de ces diurétiques. Deux groupes de diurétiques agissent au niveau du canal collecteur. Les bloqueurs du canal sodique (amiloride et triamtérène) (figure 27), agissent au niveau luminal pour bloquer le canal sodique. Ce faisant, ils inhibent la sécrétion urinaire de K^+ , ce qui explique leur propriété d'épargne potassique.

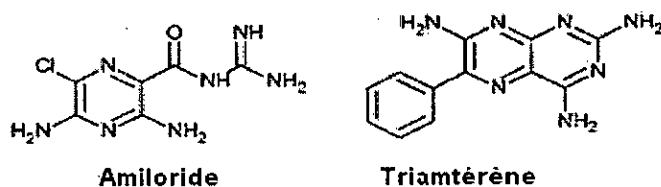


Figure 27 : structure chimique de quelques diurétiques agissant au niveau du tube collecteur.

La seconde classe de diurétiques agissant sur le canal collecteur est représentée par les antagonistes compétitifs de l'aldostérone (spironolactone, canrénoate de K^+). L'aldostérone est une hormone minéralocorticoïde sécrétée par la surrénale en réponse à la rénine ou une hyperkaliémie. Par action sélective sur les cellules principales du canal collecteur, l'aldostérone stimule la réabsorption de Na^+ et donc, la sécrétion de K^+ ou de H^+ dans l'urine. En inhibant l'action de

l'aldostérone, ces diurétiques augmentent l'excrétion urinaire de Na^+ et réduisent celle de K^+ et de H^+ . Ces diurétiques sont donc des épargneurs potassiques (figure 28). Etant donné la faible quantité de Na^+ réabsorbée à ce niveau, les diurétiques du canal collecteur sont relativement peu puissants. L'usage le plus fréquent de ces diurétiques est néanmoins l'atténuation de la perte de K^+ [163].

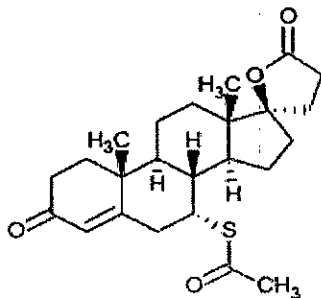


Figure 28 : Structure chimique de la spironolactone.

B-ETUDE
CHIMIQUE

1-Méthodes de synthèse des amides et des urées

Etant que les molécules de notre recherche portent des fonctions amide et urée, nous allons exposer, dans cette partie, quelques méthodes de synthèse pour chaque fonction.

I-1- Les amides

I-1-1- Définition

Un amide est un composé organique de structure générale $RCONR'R''$, dans lequel un groupe carbonyle est lié à un atome d'azote (figure29) :

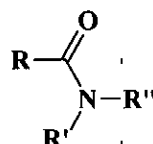


Figure 29 : structure générale d'un amide.

L'atome d'azote est lié par deux autres liaisons simples à des atomes d'hydrogène et/ ou à des groupes alkyles ou aryle.

I-1-2- Méthodes de synthèse des amides

Différentes méthodes de synthèse d'amide nous sont présentées dans la bibliographie chimique, nous en citons quelques unes.

2-1- Synthèse à partir des chlorures d'acyle

Les chlorures d'acyle réagissent avec l'ammoniac ou une amine (primaire ou secondaire) (schéma1) par attaque nucléophile du doublet électronique de l'azote sur le carbone de l'acyle est forment l'amide en éliminant une molécule d'HCl. Cette réaction se déroule selon un mécanisme adition-élimination. L'aminolyse des chlorures d'acyle se déroule à température ambiante avec un excellent rendement [166- 167]. Cette méthode de synthèse est la plus efficace pour obtenir des amides.

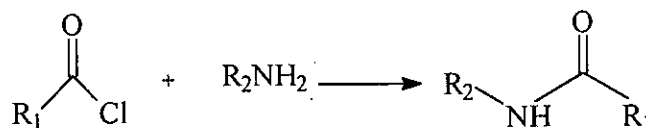


Schéma1

Le mécanisme réactionnel est donné dans le schéma 2.

Mécanisme :

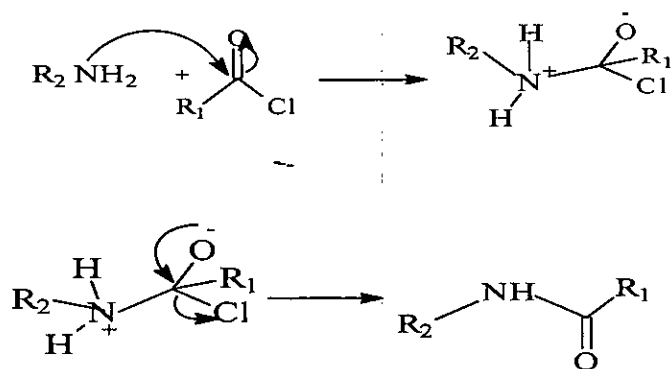


Schéma 2

2-2- Synthèse à partir des esters

Les esters réagissent aisément avec les amines qui sont très nucléophiles, est engendrent des amides, avec un mécanisme addition-élimination (schéma 3). Ces réactions ne nécessitent pas de catalyseurs, mais un chauffage est très impératif [164- 168].

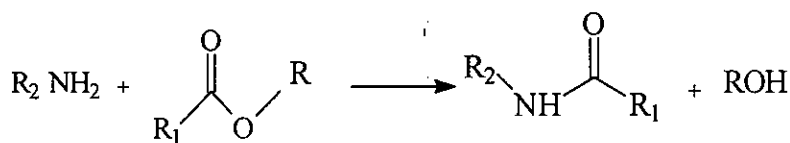


Schéma 3

Le mécanisme de cette réaction est donné dans le schéma 4.

Mécanisme :

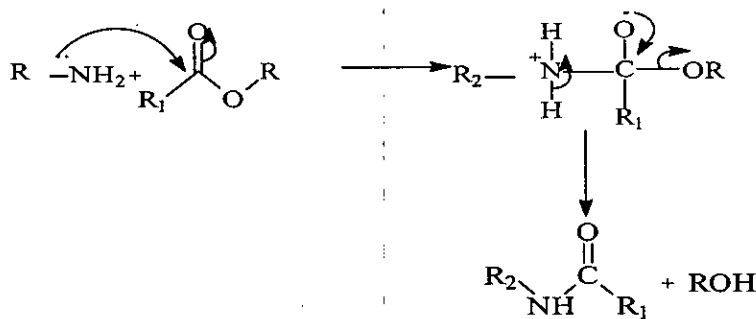


Schéma 4

2-3- Synthèse à partir des anhydrides d'acides

La réaction des anhydrides d'acides avec l'ammoniac et les amines, primaires et secondaires, est similaire à celle des chlorures d'acides (schéma 5)

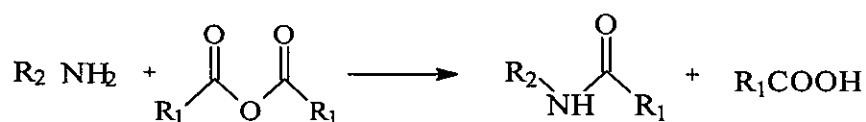


Schéma 5

Le schéma 6 nous donne le mécanisme réactionnel de cette réaction.

Mécanisme :

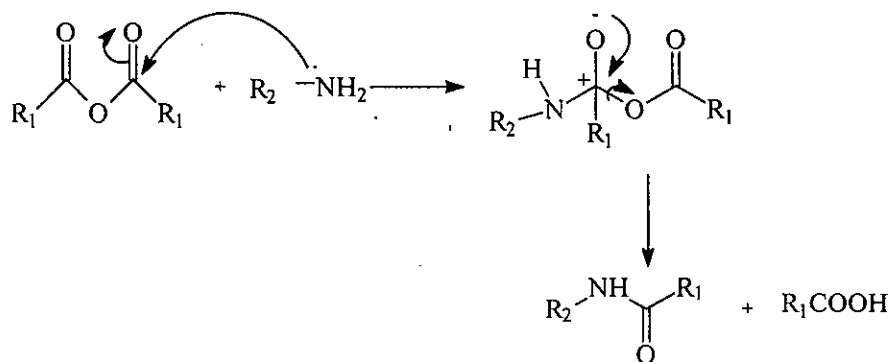


Schéma 6

La réaction des anhydrides cycliques avec l'ammoniac ou une amine se déroule de la même manière qu'avec les anhydrides acyclique [168]. Ces réactions donnent un produit qui est à la fois un amide et un sel d'ammonium (schéma 7), que son acidification produit un composé à la fois amide et acide.

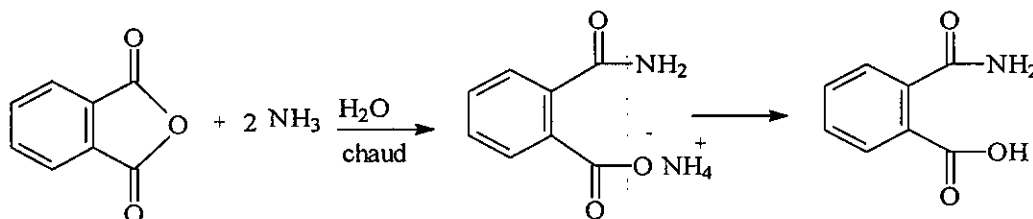


Schéma 7

La réaction peut continuer et donne lieu à un imide (schéma 8)

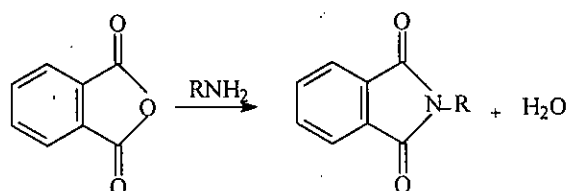


Schéma 8

2-4- Synthèse à partir des acides carboxyliques et des carboxylates d'ammonium :

Cette méthode n'est pas recommandée pour préparer des amides, car l'ion carboxylates a de faible réactivité par rapport à l'addition-élimination [165,166]. Cependant, si nous éliminons l'eau par évaporation et si nous chauffons ensuite le sel d'ammonium obtenu, la déshydratation produit un amide (schéma 9) [169].

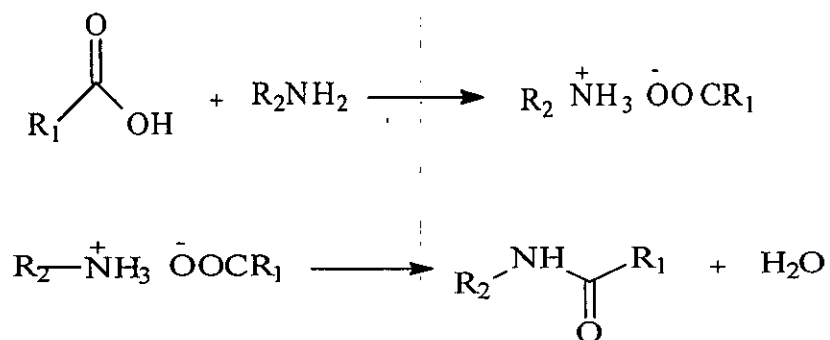


Schéma 9

2-5- Synthèse à partir des nitriles

Les nitriles acétylent les amines (primaires et secondaires) selon le schéma 10, donnant des amides [166,170].

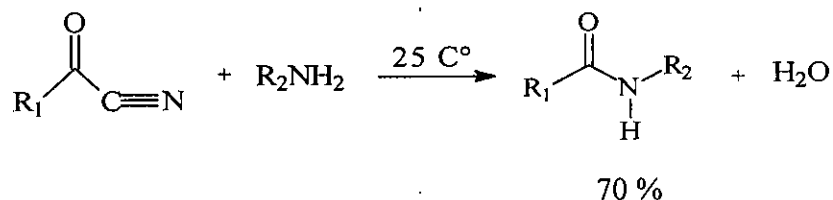


Schéma 10

Le mécanisme réactionnel est donné dans le schéma 11.

Mécanisme :

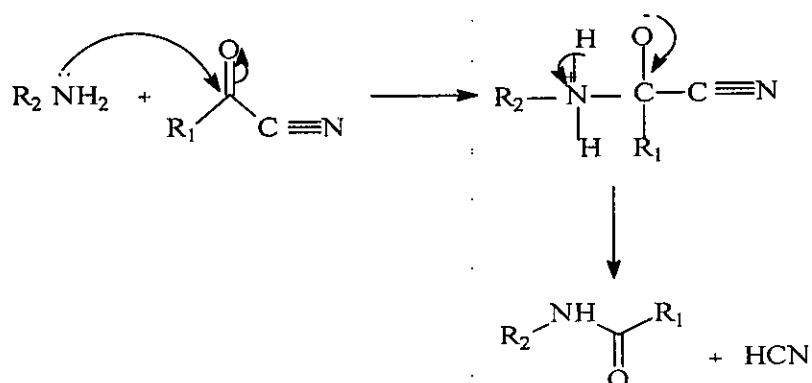


Schéma 11

2-6- Synthèse à partir des oximes de Beckmann

En milieu acide, un oxime se protone sur l'oxygène (schéma 12) :

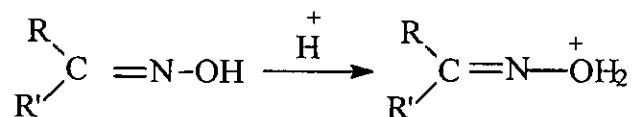


Schéma 12

La déshydratation est concertée avec la migration anti du groupe R' (schéma 13) [166].

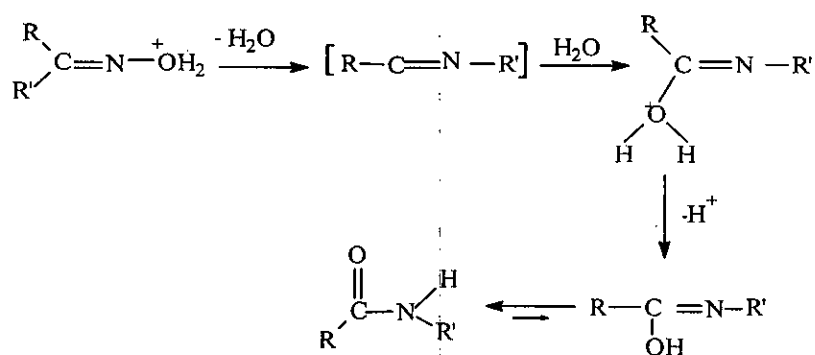


Schéma 13

I-2- Les urées

2-1- Définition et généralités

L'urée est le premier produit organique synthétisé en laboratoire par « Wohler » en 1828, à partir du phosgène (dichlorure de carbonyle) et d'ammoniac par une réaction d'aminolyse [171].

Industriellement, l'urée est produite à des milliards de tonnes par an, en chauffant de l'ammoniac en présence de dioxyde de carbone [172]. Plusieurs méthodes conventionnelles sont rapportées pour synthétiser l'urée et basées essentiellement sur l'action d'une amine avec un isocyanate ou un agent carbonylé.

I-2-2-méthodes de synthèse des urées

2-1- Synthèse à partir des isocyanates

La réaction se déroule par un mécanisme d'addition nucléophile d'eau sur le carbone de la molécule $\text{N}=\text{C}=\text{O}$, donnant l'acide carbamique, qui réagira avec une seconde molécule d'isocyanate pour donner l'urée finale avec décarboxylation (schéma 14) [173, 174].

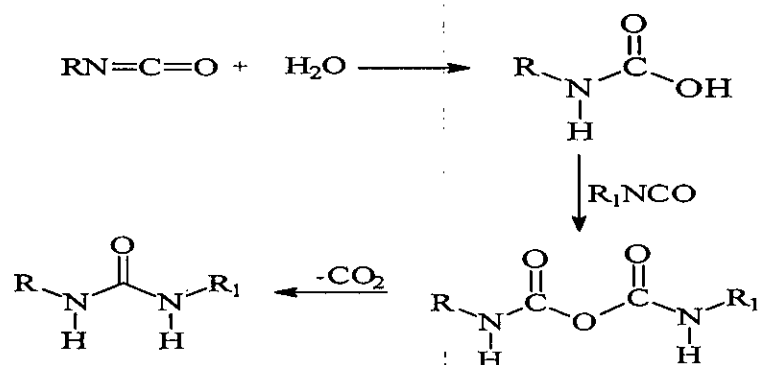


Schéma 14

2-2- Synthèse à partir des N, N'carbonyldibenzotriazole

Le N, N'carbonyldibenzotriazole est utilisé dans la synthèse des urées tétrasubstituées par une première amine pour donner l'intermédiaire carbamoylbenzotriazole qui réagira avec une deuxième amine donnant l'urée finale avec un bon rendement 24-85% (schéma 15) [175].

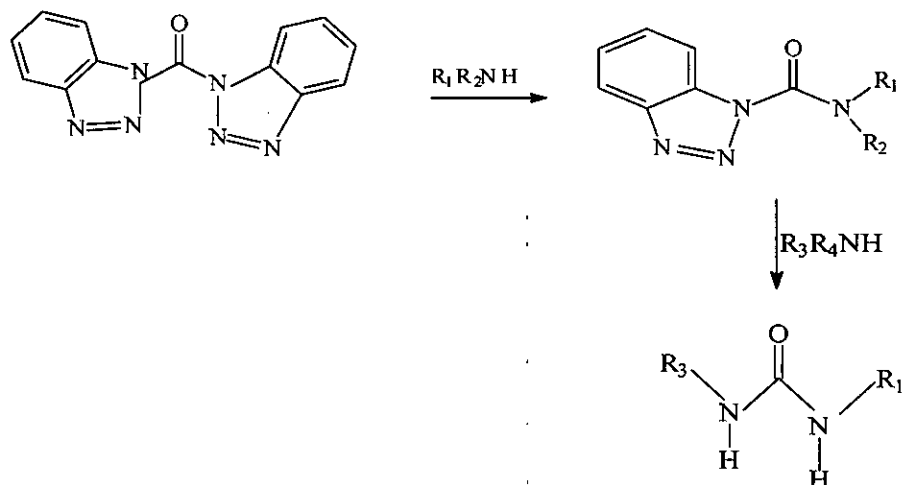


Schéma 15

Le procédé réussit à température ambiante dans une solution de THF pendant 2 jours avec de bons rendements 40-71% pour les amines cycliques, aliphatiques et aromatiques, alors que des conditions plus dures sont exigées et des rendements inférieurs sont obtenus à partir des amines secondaires encombrées [176].

2-3- Synthèse à partir d'acétoacétate éthylique

La réaction des amines avec l'acétoacétate éthylique est une bonne méthode d'obtention des urées substituées [177]. La réaction se déroule en présence d'un catalyseur qui est une Zéolite acide (schéma 16).

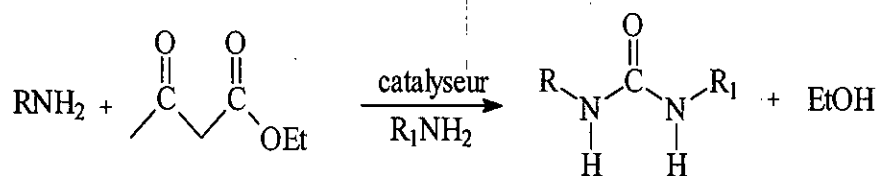


Schéma 16

La réaction des amines aromatiques avec l'acétoacétate éthylique en présence du HY Zéolite HSZ-360, donne les diarylurées avec un bon rendement (58-77%) et excellente sélectivité (93-96%) par un procédé facile et simple.

Ce type de synthèse ne peut pas s'appliquer aux amines aliphatiques, car ces composés attaquent la fonction cétone puisqu'elles sont plus nucléophiles que les amines aromatiques produisant les esters éthyliques des acides β -alkylaminocrotoniques comme produits principaux [178].

2-4- Synthèse à partir de dioxyde de carbone

Cette méthode de synthèse exige des températures élevées (près de 200°C) pour le chauffage du dioxyde de carbone et sous- pression du CO_2 , qui réagit avec une amine ou l'ammoniac fournissant des carbamates d'ammonium, qui par chauffage se déshydratent en donnant l'urée (schéma17) [179].

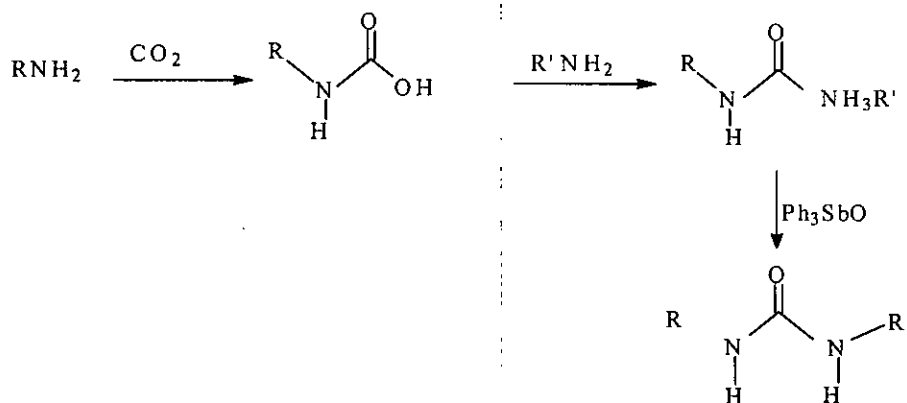


Schéma 17

2-5- Synthèse à partir du phosgène

Le phosgène (COCl_2) peut être transformé par action du chlore sur le monoxyde de carbone (CO), l'action de l'ammoniac peut ensuite donner naissance à l'urée (schéma18).

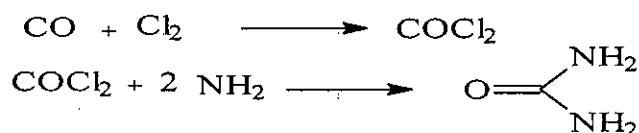
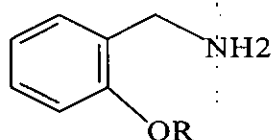


Schéma 18

II- Synthèse des molécules testées

Les molécules cibles (testées) ont été synthétisé dans le laboratoire de chimie organique (UNIVERSITE DE JIJEL) [2,3].

Nous exposons ainsi, les méthodes de synthèse chimique utilisées pour atteindre ces molécules. Ces méthodes consistent à greffer des fonctions amides et urées sur le cycle benzénique aminé, de structure générale :



R : CH₃

Schéma 19

II-I- Synthèse des molécules portant la fonction amide

Pour atteindre la molécule cible, dont la structure générale est présentée dans la figure 30, la synthèse à été amorcée en acylant un amine primaire commerciales qui est l'ortho-méthoxy benzylamine avec différents chlorures d'acyles aromatiques [2].

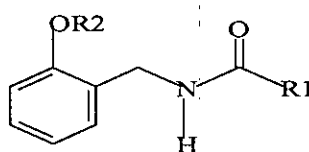


Figure 30 : structure chimique des molécules cibles.

II-1-1- schéma générale de la synthèse

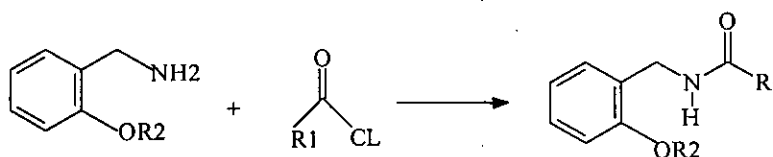


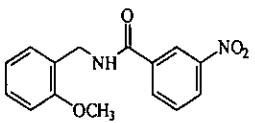
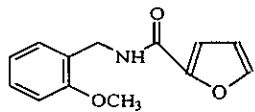
Schéma 20

Cette méthode de synthèse est la meilleure, vu la facilité d'obtention des produits finaux, et leur grande pureté et avec d'excellents rendements (92-95 %).

II-1-2- composés finaux avec les différents groupes R₁ et R₂

Les composés testés portant la fonction amide (A1, A2) sont présentés dans le tableau 4, avec leurs différents substituants R1 et R2.

Tableau 4 : les composés finaux portant la fonction amide et leur différents substituant R₁ et R₂.

| composé | R1 | R2 | Structure générale |
|---------|----------------|-----------------|---|
| A1 | m-nitro-phényl | CH ₃ |  |
| A2 | 2-furoyl | CH ₃ |  |

II-2- Synthèse des molécules portant la fonction urée

Les molécules finales ont une structure générale présentée dans la figure 31 :

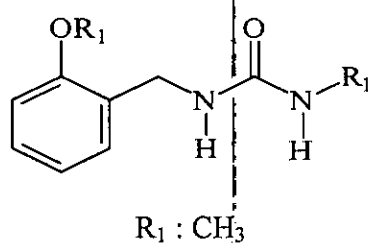


Figure 31 : structure générale d'une molécule portant une fonction urée.

Elles sont obtenues à partir de la condensation de l'amine : *o*-méthoxybenzylamine avec un isocyanate d'alkyle dans le dichlorométhane [3].

II-2-1- Schéma générale de la synthèse

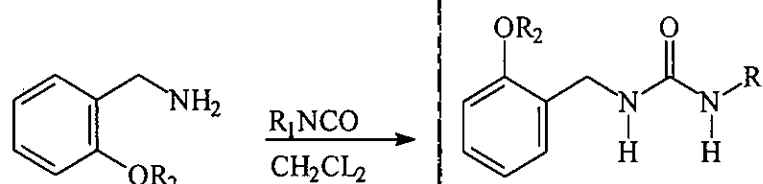


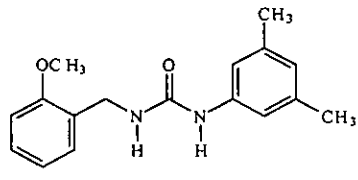
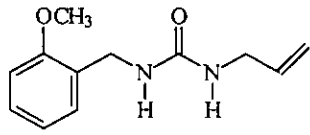
Schéma 21

Cette condensation donne des urées substituées avec d'excellents rendements (92-95 %) [3].

II-2-2- composés finaux avec les différents groupements R₁ et R₂

Les composés testés portant la fonction urée (U1, U2) sont présentés dans le tableau 5, avec leurs différents substituants R1 et R2.

Tableau 5 : la structure générale des produits testés portant la fonction urée.

| Composé | R1 | R2 | Structure générale |
|---------|-----------------|---|---|
| U1 | CH ₃ | 3,5-diméthyl C ₆ H ₅ |  |
| U2 | CH ₃ | CH ₂ =CH-CH ₂ |  |

PARTIE
EXPERIMENTALE

I- Etude pharmacologique *in vivo*

I-1- Matériel et méthodes

I-1-1- Matériel

a- Animaux

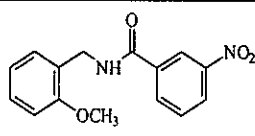
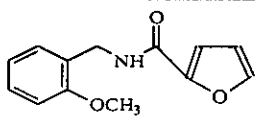
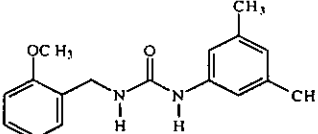
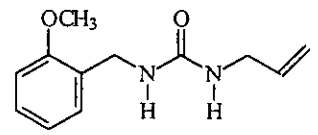
Les tests pharmacologiques *in vivo*, ont été réalisés sur des rats albinos, de souche Wistar, femelles, pesant entre 180-250 grammes. Les rats ont été répartis en plusieurs lots, de 3 rats chacun, dans des cages à métabolisme en plastique transparents.

La température de l'animalerie a été maintenue à 22°C.

b- Produits chimiques

Nous avons testé 4 molécules, issues par synthèse chimique, effectuée au niveau du laboratoire de phytochimie et de pharmacologie à l'université de Jijel [2,3]. Deux molécules portent la fonction amide (A1, A2), et les deux autres portent la fonction urée (U1, U2). Les molécules sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : tableau regroupant les molécules testées et leurs structures.

| MOLECULE | STRUCTURE GENERALE |
|----------|---|
| A1 |  Detailed description: The structure shows a benzene ring with a methoxy group (-OCH ₃) at the 2-position. A methylene group (-CH ₂ -) is attached to the ring, which is further connected to a nitrogen atom (-NH-). This nitrogen is part of an amide linkage (-C(=O)-) to another benzene ring that has a nitro group (-NO ₂) at the 3-position. |
| A2 |  Detailed description: The structure shows a benzene ring with a methoxy group (-OCH ₃) at the 2-position. A methylene group (-CH ₂ -) is attached to the ring, which is further connected to a nitrogen atom (-NH-). This nitrogen is part of an amide linkage (-C(=O)-) to a furfuryl group (a furan ring with a methylene group at the 2-position). |
| U1 |  Detailed description: The structure shows a benzene ring with a methoxy group (-OCH ₃) at the 2-position. A methylene group (-CH ₂ -) is attached to the ring, which is connected to a nitrogen atom (-NH-). This nitrogen is part of a urea linkage (-C(=O)-NH-) to another nitrogen atom (-NH-), which is further connected to a benzene ring with methyl groups (-CH ₃) at the 2 and 4 positions. |
| U2 |  Detailed description: The structure shows a benzene ring with a methoxy group (-OCH ₃) at the 2-position. A methylene group (-CH ₂ -) is attached to the ring, which is connected to a nitrogen atom (-NH-). This nitrogen is part of a urea linkage (-C(=O)-NH-) to another nitrogen atom (-NH-), which is further connected to a propenyl group (-CH ₂ -CH=CH ₂). |

Nous avons utilisé comme médicament de référence le Dihydrochlorothiazide.

I-1-2- Méthodes

Pour chaque produit, nous avons administré 2 doses différentes : 25 et 75mg/kg du poids corporel de l'animal. Chacun des 4 produits, a été administré par deux voies différentes : orale et intrapéritonéale.

2-1-Préparation des solutions administrées

Généralement, les solutions administrées sont préparées avec l'eau distillée, mais comme nos produits à tester sont des amides et des urées insolubles dans l'eau, nous les avons solubilisé dans le minimum de DMSO (200 µl). Les solutions administrées ont été préparées juste avant l'administration. La solution de l'hydrochlorothiazide a été préparée selon la même méthode de préparation des solutions administrées aux doses 25et 75mg/kg.

2-2- Tests pharmacologiques : traitement des animaux

-Evaluation de l'effet des composés sur la diurèse

L'évaluation de l'effet diurétique des composés synthétisés consiste à mesurer le volume d'urine excrété par les rats mis en surcharge hydrique, suivit immédiatement par l'administration des composés à tester aux doses 25 et 75 mg/kg, par voies orale et intrapéritonéale.

Les urines émises par les rats sont collectées dans des bocalles en plexiglas des cages à métabolisme dont le volume est mesuré chaque heure pendant 4 heures.

a- Administration par voie orale (per os)

Les composés sont administrés en solution par gavage à l'aide d'une sonde métallique :

Groupe 1 : (témoin T1) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 % par voie orale.

Groupe 2 : (témoinT2) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 %, suivit immédiatement de 200 µl de DMSO, par voie orale.

Groupe 3 : (témoin T3) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 %, suivit immédiatement d'une dose de l'hydrochlorothiazide.

Groupe 4 : (produits à tester) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 %, suivit immédiatement d'une dose du produit à tester.

b- Administration par voie intrapéritonéale

Les solutions sont administrées par voie intrapéritonéale. La répartition des groupes se fait comme suit :

Groupe 1 : (témoin T1) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 % par voie orale.

Groupe 2 : (témoin T2) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 % per os, suivit d'une injection intrapéritoniale de 200 µl de DMSO.

Groupe 3 : (témoin T3) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 % per os, suivit d'une injection intrapéritoniale d'une dose de l'hydrochlorothiazide.

Groupe 4 : (produits à tester) animaux recevant 40 ml/kg d'eau physiologique de NaCl à 0.9 % per os, suivit d'une injection intrapéritoniale d'une dose du produit.

I-2- Les dosages

I-2-1- Le pH urinaire

Le pH urinaire est mesuré par un pH-mètre prétaioné, pour évaluer l'effet des composés testés sur l'acidité des urines, et leur influence sur les échanges ioniques au niveau rénal.

1-2-2- Dosage de l'acide urique

L'acide urique est dosé par une méthode colorimétrique, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VISIBLE (SHIMADZU 1240). Les urines dosées sont diluées avant dosage.

-Principe du dosage

L'acide urique est oxydé, en présence de l'enzyme uricase, en allantoïne et peroxyde d'hydrogène qui à son tour se transforme donnant la quinonéimine (de couleur rouge), sous l'influence de la peroxydase (POD), le 2,4-dichlorophénol –sulfonate (DCPS) et le 4-amino-phénazone (4-AP) selon le schéma :

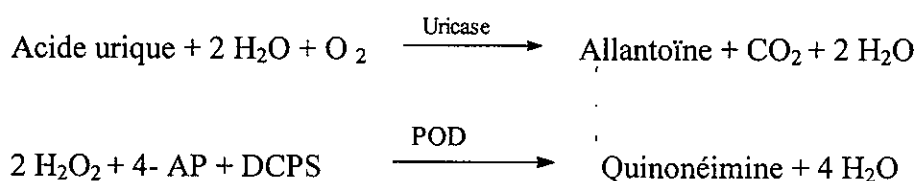


Schéma 22

-Mode opératoire

Dans des tubes à essai, nous avons préparé les solutions suivantes :

| | Blanc | Etalon | Echantillon |
|---------------------|-------|--------|-------------|
| Acide urique | - | 25 µl | - |
| Urine | - | - | 25 µl |
| Solution de travail | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

Les mélanges ont été incubés pendant 10 mn à 37°C. La lecture des densités optiques (DO) se fait par un spectrophotomètre UV-Visible, par rapport au blanc, à une onde fixée à 520 nm.

I-2-3- Dosage du Calcium

Le dosage de Ca^{2+} est effectué par une méthode colorimétrique avec un spectrophotomètre UV-VISIBLE (SHIMADZU 1240).

- Principe

La détermination du calcium dans l'échantillon est basée sur la formation d'un complexe coloré entre le calcium et l'ortho-cresolphthaléine en milieu alcalin (schéma 23) :



Schéma 23

L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la concentration du calcium dans l'échantillon.

-Mode opératoire

Les urines sont acidifiées par l'acide nitrique (50%), puis diluées à 1/2 dans l'eau distillée. Dans des tubes à essai, nous avons préparé les mélanges pour les échantillons suivants :

| | Echantillon | Etalon | Blanc |
|---------|--------------------|---------------|--------------|
| Urines | 20 µl | - | - |
| Calcium | - | 20 µl | - |
| Réactif | 2 ml | 2 ml | 1-2 ml |

Les mélanges ont été laissés pour 5 minutes à 37°C. La longueur d'onde du spectrophotomètre est fixée à 570 nm, les valeurs des absorbances de l'étalon et de l'échantillon ont été mesurées par rapport au blanc. La concentration du calcium est donnée en mg/l.

I-2-4- Dosage du sodium et du potassium

Les dosages des ions K^+ et Na^+ dans les urines des rats sont effectués pour évaluer l'effet des composés sur l'excrétion rénale de ces ions. Ces dosages ont été réalisés au niveau du laboratoire d'analyses biochimiques et microbiologiques de l'hôpital de SEDRATA (Souk-Ahras). L'appareil utilisé est un ionogramme ESCHWEILER Compact-Iceq ECOLYTE, donnant des résultats directs (concentrations) exprimés en mmol/l.

RESULTATS

II- Résultat et discussion

II-1- Variation de la diurèse en fonction du temps

Les résultats de la diurèse sont présentés dans les tableaux : 7, 8, 9, 10. Les valeurs représentent les volumes des urines, exprimés en ml/kg, excrétées par les rats et collectées 1, 2, 3 et 4 heures après administration des différents composés aux doses de 25 et 75 mg/kg par les voies orale et intrapéritonéale. Les résultats sont comparés aux ceux des témoins T1 et T2 et aussi par rapport à l'hydrochlorothiazide (médicament de référence), administré aux mêmes doses que celles des produits à tester.

II-1-1- Dose de 25 mg/kg

1-1-1- voie orale

Les résultats présentés dans le tableau 7 et la figure 32, montrent que le traitement des rats avec l'HCTZ *per os*, à une dose de 25 mg/kg a provoqué une importante élimination d'urines, dès la première heure ($21,41 \pm 1,29$) ml/kg par rapport aux groupes des témoins T1 et T2. L'effet diurétique de l'HCTZ continu à évoluer, atteignant la valeur maximale à la quatrième heure ($45,06 \pm 0,49$) ml/kg contre ($18,64 \pm 0,71$ et $20,81 \pm 1,74$) ml/kg de T1 et T2 respectivement.

Les 4 molécules synthétisées ont donné des résultats très encourageants. Leur effet diurétique est né 1 heure après administration, mais reste inférieur à celui de l'HCTZ. Les produits U1 et A1 sont les plus diurétiques à cette dose, ils atteignent ($32,68 \pm 3,58$ et $31,15 \pm 4,37$) ml/kg respectivement à 4^{ème} heure. Ces valeurs sont très élevées comparativement à celles de T1 et T2, mais demeurent inférieures à la valeur maximale de l'HCTZ. Les autres produits A2 et U2 atteignent les valeurs ($27,36 \pm 0,51$ et $28,74 \pm 1,2$) ml/kg respectivement à la 4^{ème} heure, ces valeurs restent relativement plus faibles que celle marquée par l'HCTZ. Il faut également noter que les quatre produits présentent des diurèses presque similaires, comparés entre eux, de manière indépendante de la nature de la fonction chimique qu'ils portent (amide ou urée).

Tableau 7 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie orale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|---------|---------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|
| T1 (EP) | 5,91 ± 0,86 | 12,50 ± 0,98 | 16,82 ± 1,12 | 18,64 ± 0,71 |
| T2 | 3,97 ± 0,22 | 12,16 ± 0,49 | 17,62 ± 0,73 | 20,81 ± 1,74 |
| HCTZ | 21,41 ± 1,29 *** | 39,14 ± 0,83 *** | 43,56 ± 0,54 *** | 45,66 ± 0,49 *** |
| A1 | 11,58 ± 2,35 ** | 22,45 ± 2,80 ** | 28,23 ± 2,18 ** | 31,15 ± 4,37 * |
| A2 | 12,21 ± 1,42 *** | 19,96 ± 1,48 *** | 21,35 ± 0,51 ** | 27,36 ± 0,51 ** |
| U1 | 18,73 ± 3,21 ** | 27,30 ± 1,07 *** | 30,58 ± 3,10 ** | 32,68 ± 3,58 ** |
| U2 | 9,45 ± 5,74 ^{ns} | 16,71 ± 3,33 ^{ns} | 24,22 ± 4,00 * | 28,74 ± 1,20 ** |

Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

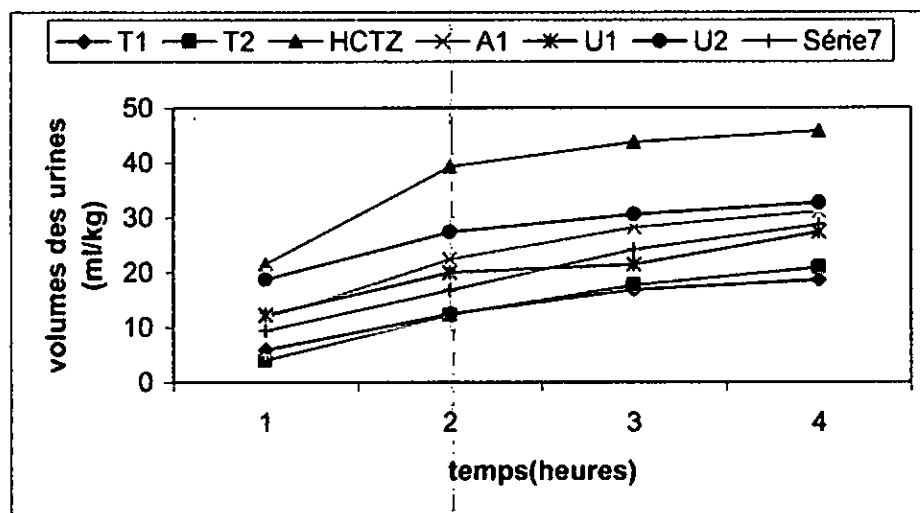


Figure 32 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie orale.

La figure 33 présente la diurèse produite par chacun des produits à chaque heure. Pour les produits A1, A2, U1 et U2 ainsi que pour l'HCTZ le pic d'effet est marqué à la 1^{ère} heure, contrairement aux témoins T1 et T2 qui montrent l'évolution de l'élimination urinaire à la 2^{ème} heure. On note que l'effet de U1 chute rapidement après la première heure alors que l'HCTZ et les trois autres composés (A1, A2 et U2) ont des effets plus ou moins prolongés dans le temps et qui deviennent négligeables à la troisième heure.

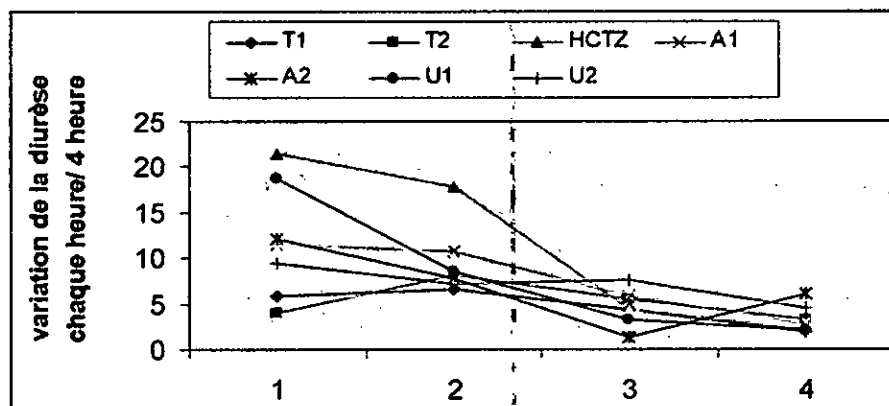


Figure 33 : variation de l'élimination de l'urine chaque heure (ml/kg) en fonction du temps après traitement par les différents composés à la dose 25 mg/kg.

I-1-2- voie intrapéritonéale

Le tableau 8 et la figure 34 montrent que l'HCTZ injecté par voie intrapéritonéale à 25 mg/kg, donne un effet diurétique similaire à celui observé par voie orale, atteignant une valeur maximale ($43,18 \pm 0,80$) ml/kg. Cette valeur est très élevée contre celles des T1 et T2, qui marquent respectivement à la même dose: ($18,64 \pm 0,71$ et $16,18 \pm 2,39$) ml/kg. Pour les produits synthétisés administrés par cette voie, l'effet diurétique a chuté par rapport à celui marqué par voie orale, et

les volumes des urines excrétées sont faibles comparativement à celle de l'HCTZ. Le produit U2 est le plus actif par cette voie, son effet diurétique atteint ($24,60 \pm 4,15$) ml/kg à la 4^{ème} heure. Pour les autres A1, A2 ils présentent une baisse d'élimination urinaire ($19,92 \pm 5,27$ et $21,20 \pm 1,16$) ml/kg proche à celle marquée par les témoins, alors que l'U1 est devenu moins diurétique par cette voie à cette dose ($12,87 \pm 1,37$) ml/kg. Nous pouvons dire que, globalement, les composés sont moins diurétiques par cette voie.

Tableau 8 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 25 mg/kg par voie intrapéritonéale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| T1 (E.P) | $5,91 \pm 0,68$ | $12,50 \pm 0,98$ | $16,82 \pm 1,12$ | $18,64 \pm 0,71$ |
| T2 (DMSO) | $3,29 \pm 0,24$ | $9,83 \pm 1,10$ | $13,20 \pm 2,44$ | $16,18 \pm 2,39$ |
| HCTZ | $19,09 \pm 0,29$ *** | $37,65 \pm 1,36$ *** | $40,10 \pm 1,80$ *** | $43,18 \pm 0,80$ *** |
| A1 | $3,68 \pm 1,49$ ns | $9,42 \pm 1,57$ ns | $15,00 \pm 3,16$ ns | $19,92 \pm 5,27$ ns |
| A2 | $7,87 \pm 1,89$ * | $13,71 \pm 2,32$ ns | $16,36 \pm 1,69$ ns | $21,20 \pm 1,16$ * |
| U1 | $2,93 \pm 0,44$ ns | $7,67 \pm 2,22$ ns | $9,23 \pm 1,23$ ns | $12,87 \pm 1,37$ ns |
| U2 | $7,06 \pm 2,15$ * | $13,73 \pm 4,35$ ns | $20,71 \pm 2,72$ * | $24,60 \pm 4,15$ * |

Chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart type.

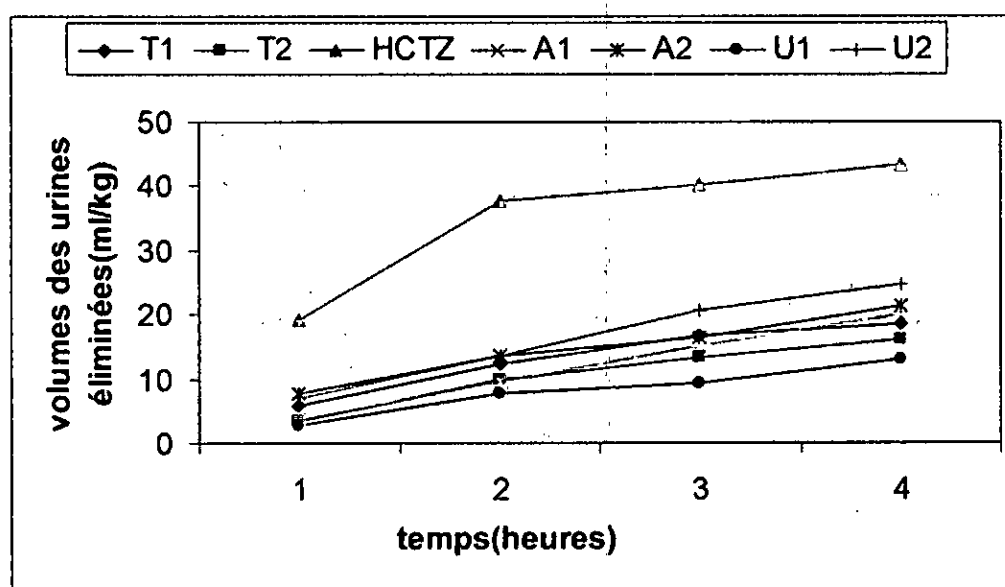


Figure 34 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec différents produits à 25 mg/kg par voie intrapéritonéale.

La figure 35 nous montre que les produits synthétisés A1 et U1 ont un pic d'effet à partir de la 2^{ème} heure d'administration, aussi pour le T2. Par contre l'HCTZ, T1 et A2 marque la valeur maximale d'élimination dès la 1^{ère} heure d'administration. Pour le produit U2 l'élimination est maximale à la 3^{ème} heure.

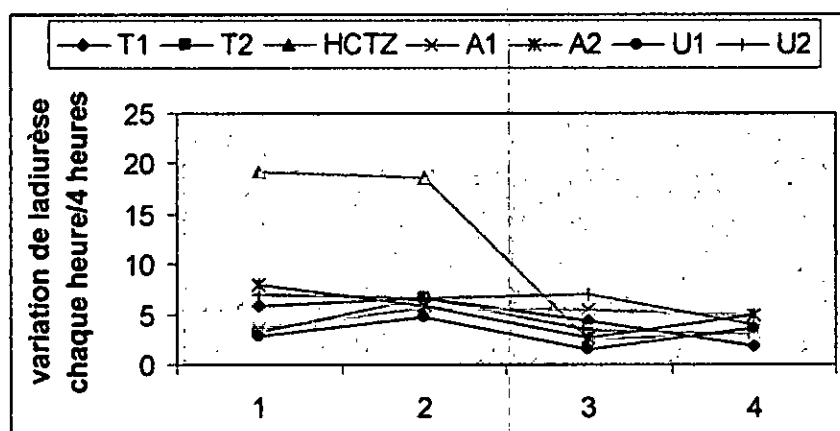


Figure 35 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec différents produits à la dose 25 mg/kg par voie intrapéritonéale.

II-1-2- Dose de 75 mg/kg

1-2-1- voie orale

Le tableau 9 et la figure 36 représentent la variation de la diurèse en fonction du temps à la dose 75 mg/kg, par voie orale. L'administration de l'HCTZ provoque une élimination d'urine très importante dès la 1^{ère} heure ($19,51 \pm 1,02$ ml/kg) par rapport aux témoins T1 ($5,91 \pm 0,68$ ml/kg) et T2 ($3,97 \pm 0,22$ ml/kg). Cette élimination s'accroît pendant les 4 heures, atteignant une valeur maximale ($51,09 \pm 0,84$) ml/kg. Le U1 reste le plus actif tout augmentant son effet par rapport à la dose de 25 mg/kg. En effet, son effet diurétique est enregistré depuis la 1^{ère} heure ($18,47 \pm 1,65$) ml/kg qui est similaire à celui de l'HCTZ ($19,51 \pm 1,02$). À la 4^{ème} heure, son effet diurétique atteint ($47,23 \pm 1,26$) ml/kg. Pour les autres produits A1, A2 et U2 les volumes des urines excrétées sont respectivement ($30,70 \pm 4,77$; $28,14 \pm 1,17$ et $33,67 \pm 4,63$) ml/kg, ce qui montre que ces produits restent moins actifs que l'HCTZ même à cette dose.

Tableau 9: variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie orale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| T1 (EP) | 5,91 ± 0,68 | 12,50 ± 0,98 | 16,82 ± 1,12 | 18,64 ± 0,71 |
| T2 (DMSO) | 3,97 ± 0,22 | 12,16 ± 0,49 | 17,62 ± 0,73 | 20,81 ± 1,74 |
| HCTZ | 19,51 ± 1,02 ^{***} | 38,08 ± 0,70 ^{***} | 46,42 ± 0,51 ^{***} | 51,09 ± 0,84 ^{***} |
| A1 | 14,91 ± 1,98 ^{***} | 23,64 ± 6,40 [*] | 27,47 ± 3,64 ^{**} | 30,70 ± 4,77 [*] |
| A2 | 12,35 ± 4,18 [*] | 19,89 ± 2,73 ^{**} | 24,92 ± 0,81 ^{***} | 28,14 ± 1,17 ^{**} |
| U1 | 18,47 ± 1,65 ^{***} | 35,04 ± 2,95 ^{***} | 43,63 ± 0,82 ^{***} | 47,23 ± 1,26 ^{***} |
| U2 | 12,69 ± 3,82 [*] | 22,96 ± 5,37 [*] | 29,77 ± 5,64 [*] | 33,67 ± 4,63 ^{***} |

Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

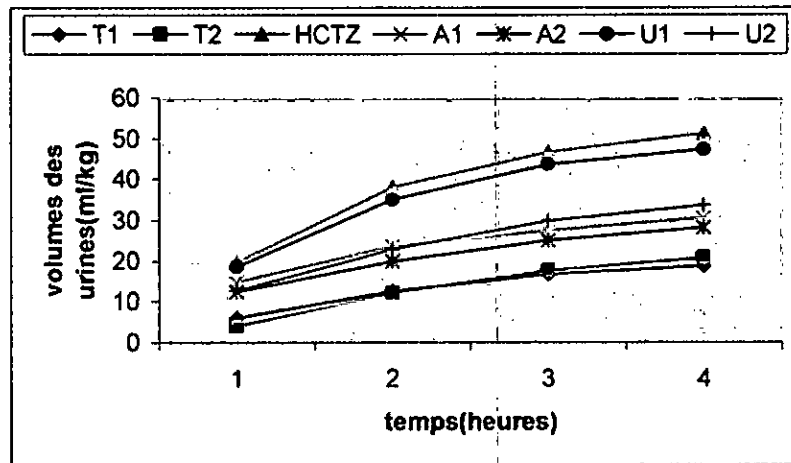


Figure 36 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie orale.

Pour les produits testés et l'HCTZ, l'effet maximal d'élimination urinaire est enregistré à la 1^{ère} d'administration, un profil qui est similaire à celui constaté par cette voie orale à la dose de 25 mg/kg.

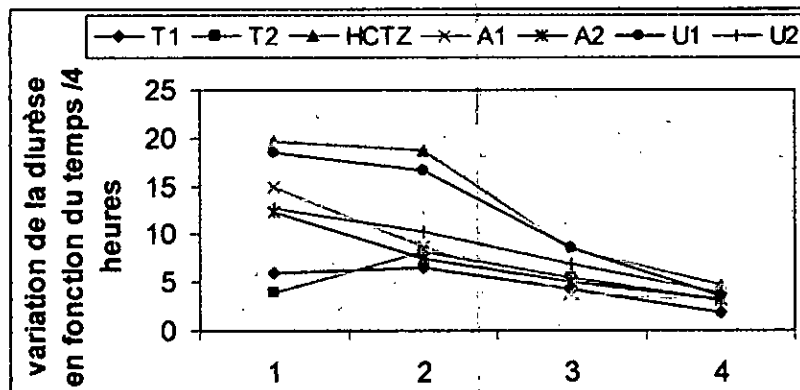


Figure 37 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec différents produits à la dose 75 mg/kg par voie orale.

1-2-2- voie intrapéritonéale

Les résultats présentés dans le tableau 10 et la figure 38, montrent que l'HCTZ a un effet diurétique relativement plus faible que celui de la voie orale atteignant $(39,62 \pm 1,14)$ ml/kg à la 4^{ème} heure, mais qui est proche de celui obtenu à 25 mg/kg par voie intrapéritonéale. On constate que l'effet des produits testés a considérablement diminué par rapport à celui obtenu par voie orale à la même dose, mais qui reste similaire à celui obtenu par voie intrapéritonéale à la dose de 25 mg/kg.

Tableau 10 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75 mg/kg par voie intrapéritonéale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|----------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| T1 (E.P) | 5,91±0,68 | 12,50±0,98 | 16,82±1,12 | 18,64±0,71 |
| T2 | 3,29±0,24 | 9,83±1,10 | 13,20±2,44 | 16,18±2,39 |
| HCTZ | 9,98± 0,86 *** | 21,80±1,80 *** | 31,29±1,74 *** | 39,62±1,14 *** |
| A1 | 1,40±0,02 *** | 4,45±1,51 ** | 10,28±0,42 ^{ns} | 14,26±0,45 ^{ns} |
| A2 | 6,74±2,24 ^{ns} | 13,01±4,08 ^{ns} | 16,60±1,36 ^{ns} | 19,98±0,81 ^{ns} |
| U1 | 3,86±2,19 ^{ns} | 6,59±2,74 ^{ns} | 9,52±2,92 ^{ns} | 11,37±3,42 ^{ns} |
| U2 | 5,24±1,47 ^{ns} | 10,10±1,60 ^{ns} | 16,02±5,37 ^{ns} | 25,38±5,00 * |

Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

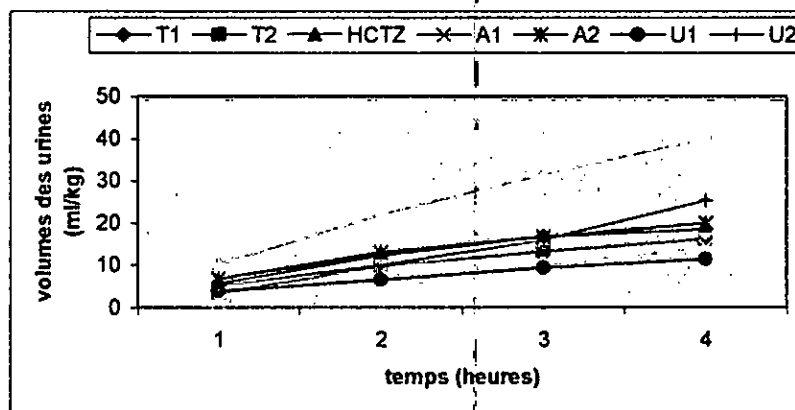


Figure 38 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec les différents produits à 75mg/kg par voie intrapéritonéale.

En consultant la figure 39, le T1, T2, l'HCTZ ont un pic d'effet diurétique à partir de la 2^{ème} heure du traitement des animaux, les produits synthétisés présentent des résultats différents qui varient de la 1^{ère} heure d'administration pour A2 et U1, la 3^{ème} heure pour le A1 et la 4^{ème} heure pour U2.

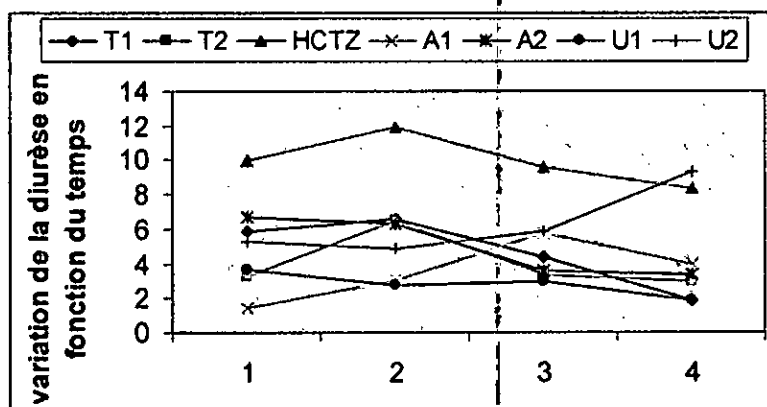


Figure 39 : variation de l'élimination des urines (ml/kg) chaque heure en fonction du temps après traitement des rats avec les différents produits à la dose 75 mg/kg par voie intrapéritonéale.

II-2- Effet des composés synthétisés sur les taux urinaires d'acide urique

Les résultats des dosages de l'acide urique dans les urines, exprimés en mg/kg, collectées pendant 4 heures après administration des différents composés aux doses 25 et 75 mg/kg par les voies orale et intrapéritoniale sont présentés dans les tableaux 11 et 12.

II-2-1- voie orale

Les résultats exprimés dans le tableau 11 et la figure 40, indiquent qu'à la dose 25 mg/kg l'HCTZ a un effet négligeable sur l'uraturie par comparaison aux témoins T1 et T2 (116.48 et 102.7% respectivement). A 75 mg/kg, l'uraturie augmente légèrement (141.38 et 124.66% respectivement). Ce résultat est assez différent de celui connu sur l'HCTZ qui favorise une rétention de l'acide lorsqu'il est pris pendant une période assez longue. Quant aux produits testés A1 et A2, ils provoquent une rétention de l'acide urique à 25 mg/kg (1.70 ± 0.13 et 0.81 ± 0.15 mg/kg respectivement) qui persiste à 75 mg/kg (2.06 ± 0.08 et 0.89 ± 0.09 mg/kg respectivement). U1 a un effet comparable à celui de l'HCTZ à 25 mg/kg, mais qui le dépasse énormément à 75 mg/kg. U2 par contre, retient de façon relative l'acide urique à 25 mg/kg (2.33 ± 0.1) mg/kg, mais dépasse l'effet de l'HCTZ à 75 mg/kg.

Tableau 11 : quantité d'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|-----------------|--------------------------------|--------|--------|--------------------------------|--------|--------|
| | [acide urique] | %(T1) | %(T2) | [acide urique] | %(T1) | %(T2) |
| T1 (E.P) | 2.61 ± 0.10 | ---- | 88.18 | 2.61 ± 0.10 | ----- | 88.18 |
| T2 | 2.96 ± 0.015 | 113.41 | ---- | 2.96 ± 0.015 | 113.41 | ----- |
| HCTZ | 3.04 ± 0.12 ^{ns} | 116.48 | 102.70 | 3.69 ± 0.09 ^{***} | 141.38 | 124.66 |
| A1 | 1.70 ± 0.13 ^{***} | 65.13 | 57.43 | 2.06 ± 0.08 ^{***} | 78.93 | 69.59 |
| A2 | 0.81 ± 0.15 ^{***} | 31.03 | 27.36 | 0.89 ± 0.09 ^{***} | 34.10 | 30.07 |
| U1 | 2.98 ± 0.06 ^{ns} | 114.18 | 100.68 | 5.80 ± 0.16 ^{***} | 222.22 | 195.95 |
| U2 | 2.33 ± 0.10 ^{***} | 89.27 | 78.72 | 4.12 ± 0.10 ^{***} | 157.85 | 139.19 |

%(T1) : quantité d'acide urique éliminée par rapport à T1 ; %(T2) : quantité d'acide urique éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart type.

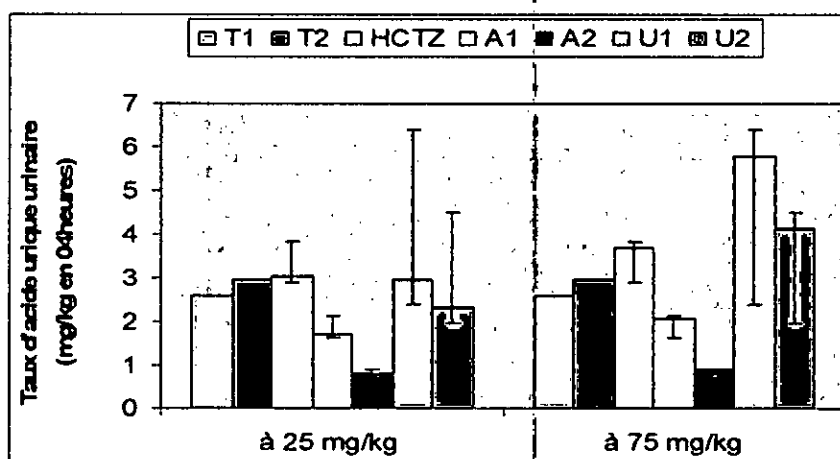


Figure 40 : variation de l'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg.

II-2-2- voie intrapéritonéale

A la dose 25 mg/kg, l'HCTZ garde à peu près le même profil d'uraturie que par voie orale, mais à 75 mg/kg, cet effet augmente relativement (tableau 12 et figure 41). Les produits testés A1, A2 gardent relativement le même profil que celui de la voie orale à 25 mg/kg. Néanmoins, le composé A1 accentue la rétention de l'acide urique dans les urines à 75 mg/kg. A 25 mg/kg, l'effet de U1 sur l'uraturie devient négatif (rétention d'acide urique) enregistrant (1.12 ± 0.04) mg/kg, alors qu'il était comparable aux témoins T1 et T2 et l'HCTZ par voie orale. Cet effet persiste à 75 mg/kg et devient (0.90 ± 0.06) mg/kg. U2 garde le même profil relativement à la voie orale (3.49 ± 0.04) mg/kg et comparable à l'effet de l'HCTZ.

Tableau 12: quantité d'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|-----------------|---------------------|--------|--------|---------------------|--------|--------|
| | [acide urique] | %(T1) | %(T2) | [acide urique] | %(T1) | %(T2) |
| T1 (E.P) | 2.61 ± 0.10 | ---- | 145.81 | 2.61 ± 0.10 | ---- | 145.81 |
| T2 | 1.79 ± 0.01 | 68.58 | ---- | 1.79 ± 0.01 | 68.58 | ---- |
| HCTZ | 2.64 ± 0.03 *** | 101.15 | 147.49 | 3.32 ± 0.13 *** | 127.20 | 185.47 |
| A1 | 1.17 ± 0.06 *** | 44.83 | 65.36 | 0.89 ± 0.05 *** | 34.10 | 49.72 |
| A2 | 0.54 ± 0.04 *** | 20.69 | 30.17 | 1.17 ± 0.04 *** | 44.83 | 65.36 |
| U1 | 1.12 ± 0.04 *** | 42.91 | 62.57 | 0.90 ± 0.06 *** | 34.48 | 50.28 |
| U2 | 1.89 ± 0.08 ns | 72.41 | 105.59 | 3.49 ± 0.04 *** | 133.72 | 194.97 |

%(T1) : quantité d'acide urique éliminée par rapport à T1 ; %(T2) : quantité d'acide urique éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart type.

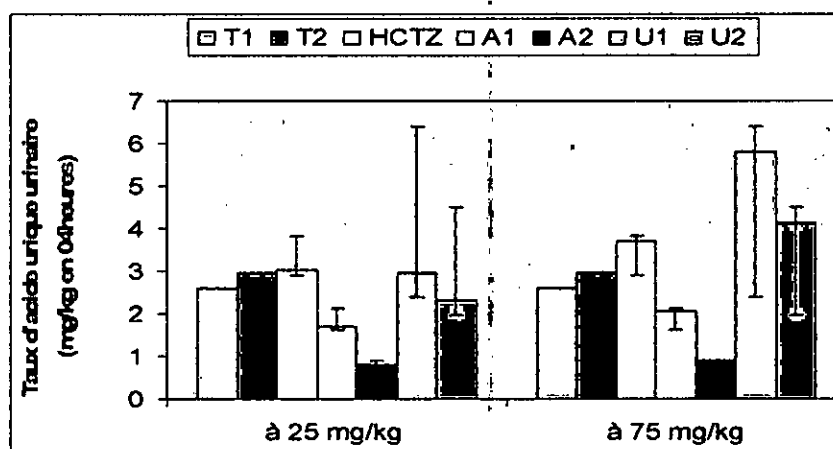


Figure 41 : variation de l'acide urique dans les urines collectées 4 heures après administration des produits par voie intrapéritonéale à différentes doses.

II-3- pH urinaire

Les résultats numériques et graphiques de l'évaluation de l'effet des produits administrés par voie orale et intrapéritonéale sur le pH urinaire aux doses de 25 et 75 mg/kg sont rapportés dans les tableaux 13 et 14. Le pH est mesuré dans les urines collectées pendant les 4 heures de l'expérience.

III-3-1- voie orale

Comme le montre le tableau 13, la figure 42, le pH urinaire est légèrement basique pour le T2, enregistrant une valeur de $(7,77 \pm 0,76)$. Le traitement *per os* par l'HCTZ aux doses 25 et 75 mg/kg présente une augmentation du pH atteignant $(8,30 \pm 0,52$ et $8,44 \pm 0,41)$ valeurs élevées par rapport aux témoins T1 et T2. Les 4 produits testés n'ont pas affecté l'acidité des urines dans la mesure où les valeurs de pH sont incluses dans l'intervalle $(7,35 \pm 0,44$ et $7,56 \pm 0,17)$ à la dose 25 mg/kg, et $(7,42 \pm 0,29$ et $7,64 \pm 0,64)$ à la dose 75 mg/kg. Ces valeurs sont semblables à celles des témoins T1 et T2. D'après ces résultats, il s'avère qu'il n'existe pas une corrélation entre la dose et le pH.

Tableau 13 : pH des urines collectées 4 heures après administration des produits par voie orale à différentes doses.

| | 25 mg/kg | 75 mg/kg |
|-----------------|----------------------|----------------------|
| T1 (E.P) | $7,35 \pm 0,036$ | $7,35 \pm 0,036$ |
| T2 | $7,77 \pm 0,76$ | $7,77 \pm 0,76$ |
| HCTZ | $8,30 \pm 0,52^{ns}$ | $8,44 \pm 0,87^{ns}$ |
| A1 | $7,35 \pm 0,44^{ns}$ | $7,49 \pm 0,28^{ns}$ |
| A2 | $7,56 \pm 0,17^{ns}$ | $7,42 \pm 0,29^{ns}$ |
| U1 | $7,43 \pm 0,44^{ns}$ | $7,44 \pm 0,22^{ns}$ |
| U2 | $7,49 \pm 0,41^{ns}$ | $7,64 \pm 0,64^{ns}$ |

Chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart type.

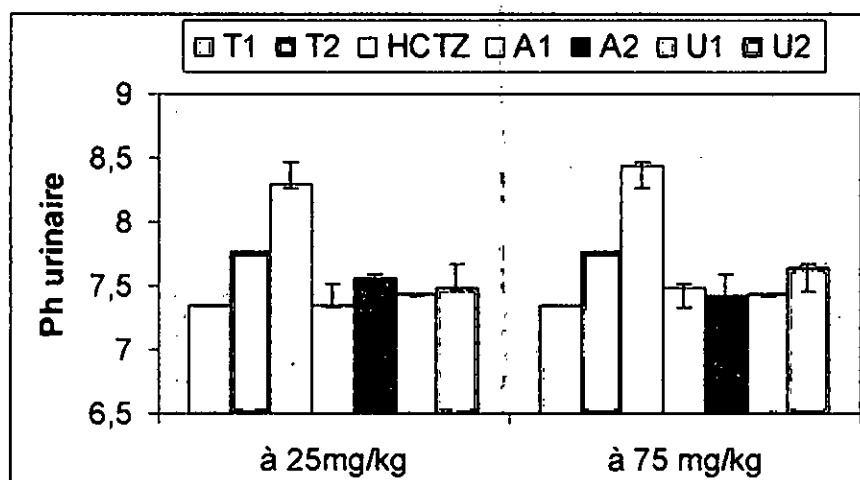


Figure 42 : pH des urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg.

II-3-2- voie intrapéritonéale

En analysant le tableau 14 et la figure 43, nous observons que l'HCTZ a gardé le même profil que celui par voie orale.

Les résultats obtenus pour les produits testés aux doses 25 et 75 mg/kg montrent une légère baisse des taux des pH par cette voie, mais les valeurs restent dans les normes, et ne présentent pas une corrélation entre la dose et le pH.

Tableau 14 : pH des urines collectées 4 heures après administration des produits par voie intrapéritonéale à différentes doses.

| | 25 mg/kg | 75 mg/kg |
|------|---------------------------|---------------------------|
| T1 | 7,35 ± 0,036 | 7,35 ± 0,036 |
| T2 | 7,68 ± 0,11 | 7,68 ± 0,11 |
| HCTZ | 8,44 ± 0,38* | 8,54 ± 0,29** |
| A1 | 7,17 ± 0,87 ^{ns} | 7,57 ± 0,16 ^{ns} |
| A2 | 7,21 ± 0,16* | 7,49 ± 0,61 ^{ns} |
| U1 | 7,36 ± 0,26 ^{ns} | 7,50 ± 0,87 ^{ns} |
| U2 | 7,64 ± 0,32 ^{ns} | 7,36 ± 0,30 ^{ns} |

Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

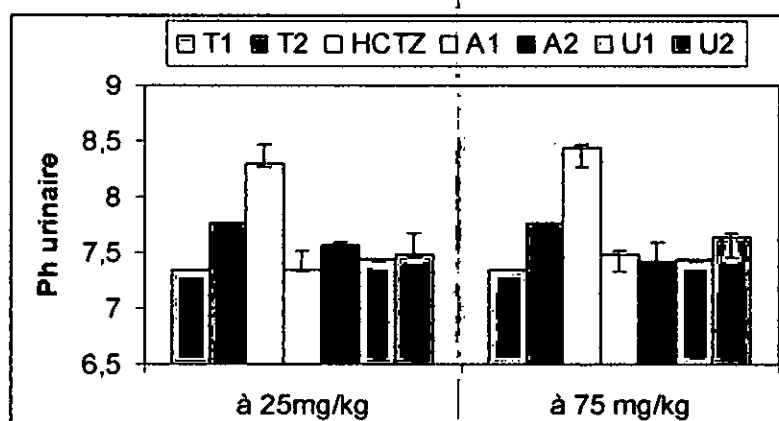


Figure 43 : pH des urines collectées 4 heures après administration des différents produits par voie intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg.

II-4- Dosage de Na⁺ et K⁺ urinaire

Les résultats des dosages des Na⁺ et K⁺ dans les échantillons d'urines récoltées après 4 heures de traitement par voie orale et intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg, exprimés en mg/kg, sont regroupés dans les tableaux 15,16, 17 et 18.

II-4-1- Dosage de Na⁺

4-1-1- voie orale

D'après le tableau 15 et la figure 44, la concentration des ions Na⁺ urinaire des rats témoins T1 et T2 est équivalente à (63.40 ± 3.77 et 75.88 ± 5.56) mg/kg respectivement. Pour l'HCTZ, son administration stimule énormément l'effet natriurétique, enregistrant la valeur (169.27 ± 4.36) mg/kg à la dose 25 mg/kg. Cet effet est dose dépendant puisqu'on atteint une valeur de (236.04 ± 3.06) mg/kg à la dose 75 mg/kg. En revanche, les produits A1, A2, U1 et U2 ont un effet natriurétique plus faible à 25 mg/kg. Par contre, à 75 mg/kg, U1 et U2 ont un effet natriurétique considérable alors que leurs homologues portant une fonction amide gardent le même profil qu'à 25 mg/kg.

Tableau 15 : quantité des ions Na⁺ dans les urines collectées 4 heures après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|----------------|--------------------|--------|--------|--------------------|--------|--------|
| | [Na ⁺] | %(T1) | %(T2) | [Na ⁺] | %(T1) | %(T2) |
| T1 E.P) | 63.40 ± 3.77 | ---- | 83.55 | 63.40 ± 3.77 | ---- | 83.55 |
| T2 | 75.88 ± 5.56 | 119.68 | ---- | 75.88 ± 5.56 | 119.68 | ----- |
| HCTZ | 169.27 ± 4.36 *** | 266.98 | 223.08 | 236.04 ± 3.06 *** | 372.30 | 311.07 |
| A1 | 96.76 ± 1.59 ** | 152.62 | 127.52 | 94.15 ± 1.76 ** | 148.50 | 124.08 |
| A2 | 92.79 ± 0.26 ** | 146.36 | 122.29 | 90.66 ± 2.89 * | 143.00 | 119.48 |
| U1 | 89.76 ± 2.26 * | 141.58 | 118.29 | 156.41 ± 0.76 *** | 246.70 | 206.13 |
| U2 | 92.58 ± 0.56 ** | 146.03 | 122.01 | 118.14 ± 1.75 *** | 186.34 | 155.69 |

% (T1) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T1 ; % (T2) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

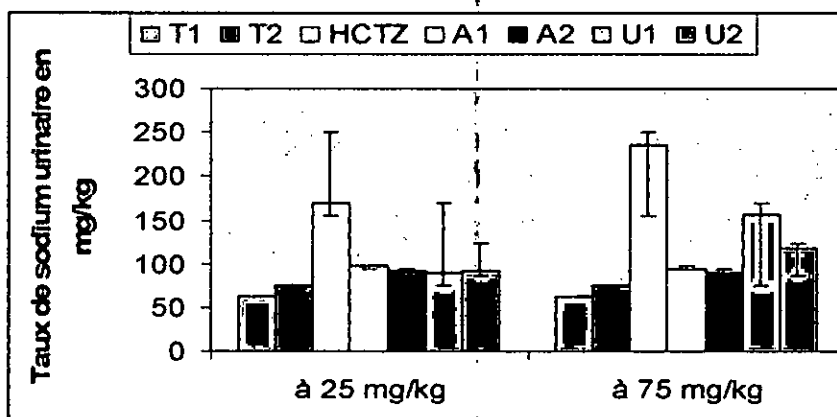


Figure 44 : variation de la [Na⁺] urinaire après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg.

4-1-2- voie intrapéritonéale

Par cette voie, l'HCTZ a un effet natriurétique légèrement plus faible que par voie orale à 25 à 75 mg/kg, néanmoins, l'effet natriurétique reste considérable. Les deux composés A1 et A2 gardent à peu près le même profil que par voie orale. Le composé U1 provoque une rétention de sodium à 25 mg/kg et à 75 mg/kg alors que par voie orale il était actif uniquement à 75 mg/kg (tableau 16, figure 45). U2 perd son effet natriurétique à 25 mg/kg mais persiste à 75 mg/kg bien que plus faible que par voie orale.

Tableau 16 : quantité des ions Na⁺ dans les urines collectées 4 heures après administration par voie intrapéritonéale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|----------------|------------------------------|--------|--------|------------------------------|--------|--------|
| | [Na ⁺] | %(T1) | %(T2) | [Na ⁺] | %(T1) | %(T2) |
| T1 (EP) | 63.40 ± 3.77 | ---- | 141.33 | 63.40 ± 3.77 | ---- | 141.33 |
| T2 | 44.86 ± 3.50 | 70.76 | ---- | 44.86 ± 3.50 | 70.76 | ---- |
| HCTZ | 137.03 ± 2.89 ^{***} | 216.14 | 305.46 | 147.08 ± 4.88 ^{***} | 231.98 | 327.86 |
| A1 | 49.27 ± 2.24 ^{ns} | 77.71 | 109.83 | 32.95 ± 3.34 [*] | 51.97 | 73.45 |
| A2 | 61.32 ± 1.75 ^{**} | 96.72 | 136.69 | 62.40 ± 2.25 ^{**} | 98.42 | 139.10 |
| U1 | 30.83 ± 0.56 ^{**} | 48.63 | 68.72 | 31.57 ± 3.25 ^{**} | 49.79 | 70.37 |
| U2 | 66.73 ± 1.90 ^{***} | 105.25 | 148.75 | 88.37 ± 0.76 ^{***} | 139.38 | 197.00 |

% (T1) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T1 ; % (T2) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

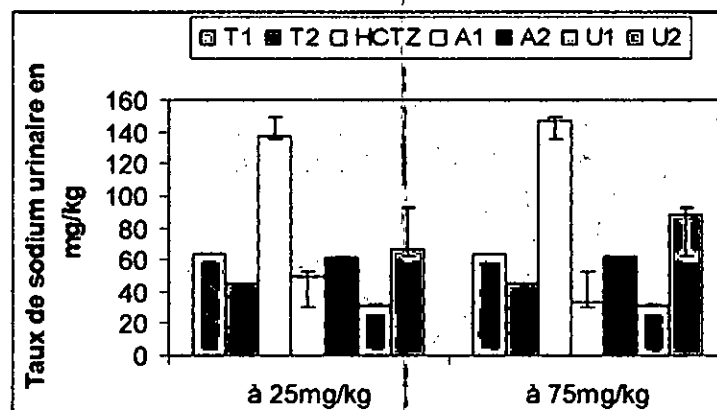


Figure 45 : variation de la $[Na^+]$ urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg.

II-4-2- Dosage du K^+

4-2-1- voie orale

Le dosage des ions K^+ dans les urines des rats témoins T1 et T2 a donné les valeurs (92.46 ± 3.31 et 103.36 ± 4.48) mg/kg respectivement (tableau 17). Le traitement des rats par l'HCTZ a excité la sécrétion rénale des ions potassiques, atteignant une valeur maximale urinaire (151.52 ± 3.40) mg/kg à la dose 25 mg/kg, et qui a augmenté d'avantage à la dose 75 mg/kg donnant (179.40 ± 2.26) mg/kg, ce qui indique que l'HCTZ a un effet dose-dépendant sur la kaliurie.

Pour les produits testés, A1 et A2 ont un effet légèrement antikaluriurétique à 25 mg/kg et à 75 mg/kg. Le produit U1 est inactif à 25 mg/kg mais devient presque aussi actif que l'HCTZ à 75 mg/kg. Le composé U2, homologue de U1 est inactif aux deux doses.

Tableau 17 : variation de la concentration des ions K^+ urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|----------------|-----------------------|--------|--------|-----------------------|--------|--------|
| | $[K^+]$ | % (T1) | % (T2) | $[K^+]$ | % (T1) | % (T2) |
| T1 (EP) | 92.49 ± 3.31 | ---- | 89.48 | 92.49 ± 3.31 | ---- | 89.48 |
| T2 | 103.36 ± 4.48 | 111.75 | ---- | 103.36 ± 4.48 | 111.75 | ---- |
| HCTZ | 151.52 ± 3.40 *** | 163.82 | 146.59 | 179.40 ± 2.26 *** | 193.97 | 173.57 |
| A1 | 79.01 ± 2.64 ** | 85.43 | 76.44 | 79.29 ± 1.04 *** | 85.73 | 76.71 |
| A2 | 74.14 ± 2.78 *** | 80.16 | 71.73 | 84.85 ± 3.20 ** | 91.74 | 82.09 |
| U1 | 94.41 ± 2.26 * | 102.08 | 91.34 | 158.73 ± 2.42 *** | 171.62 | 153.57 |
| U2 | 96.13 ± 1.90 ns | 103.94 | 93.00 | 119.43 ± 1.71 ** | 129.13 | 115.55 |

% (T1) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T1 ; % (T2) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne \pm écart type.

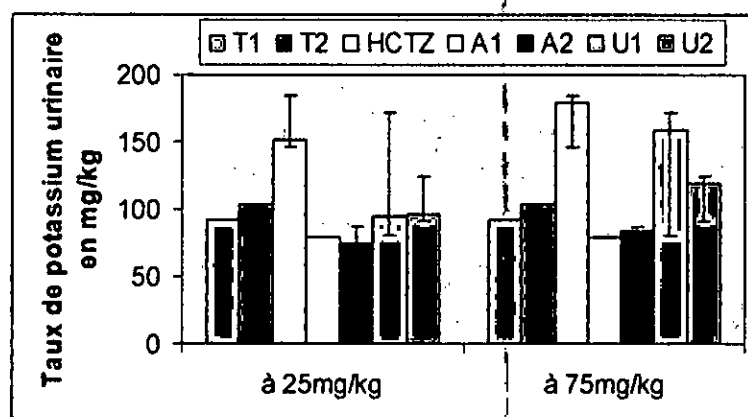


Figure 46 : variation de la [K⁺] urinaire après administration par voie orale des différents produits aux deux doses.

4-2-2- voie intrapéritonéale :

Par cette voie, L'HCTZ est devenu plus actif à 25 et à 75 mg/kg que par voie orale. Les deux composés A1 et A2 n'ont pas d'effet kaliurétique alors que U1 est devenu légèrement antikaliurétique (rétention légère de potassium). Le composé U2 est inactif à 25 mg/kg et à 75 mg/kg.

Tableau 18: variation de la concentration des ions K⁺ urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|----------|------------------------------|--------|--------|------------------------------|--------|--------|
| | [K ⁺] | %(T1) | %(T2) | [K ⁺] | %(T1) | %(T2) |
| T1 (E.P) | 92.49 ± 3.31 | ---- | 155.52 | 92.49 ± 3.31 | ---- | 155.52 |
| T2 | 59.47 ± 3.75 | 64.30 | ---- | 59.47 ± 3.75 | 64.30 | ---- |
| HCTZ | 120.98 ± 1.29 ^{***} | 130.80 | 203.43 | 134.61 ± 4.13 ^{***} | 145.54 | 226.35 |
| A1 | 55.18 ± 2.24 ^{ns} | 59.66 | 92.79 | 46.32 ± 1.57 ^{**} | 50.08 | 77.89 |
| A2 | 51.05 ± 1.49 ^{**} | 55.20 | 85.84 | 58.31 ± 2.32 ^{ns} | 63.04 | 98.05 |
| U1 | 34.25 ± 0.44 ^{***} | 37.03 | 57.59 | 39.32 ± 1.23 ^{***} | 42.51 | 66.12 |
| U2 | 63.18 ± 2.15 ^{ns} | 68.31 | 106.24 | 79.29 ± 1.37 ^{**} | 85.73 | 133.33 |

% (T1) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T1 ; % (T2) : quantité des ions de Na⁺ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

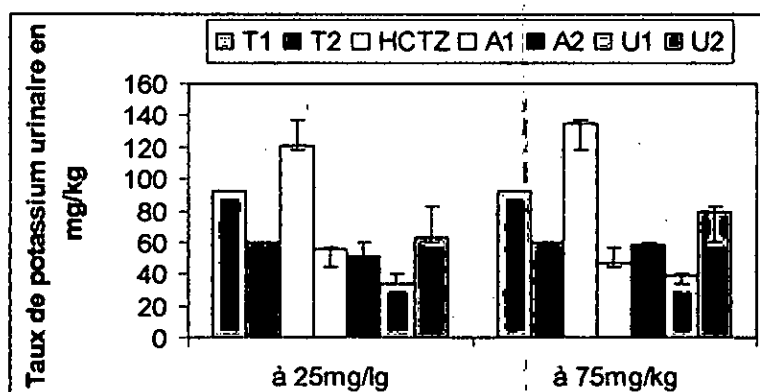


Figure 47 : variation de la $[K^+]$ urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits à différentes doses.

II-5- Dosage du Ca^{2+}

Les résultats du dosage du Ca^{2+} dans les échantillons d'urines récoltés après 4 heures de traitement par voie orale et intrapéritonéale aux doses 25 et 75 mg/kg, exprimés en $\mu g/kg$, sont regroupés dans les tableaux 19 et 20.

5-1- voie orale

L'HCTZ a un très bon effet calciurétique à 25 et 75 mg/kg. Le composé A1 n'a pas d'effet sur la calciurie alors que son homologue A2 a un bon effet aux deux doses, celui à 75 mg/kg étant comparable à celui de l'HCTZ. Le composé U1 a un aussi un bon effet qui est pratiquement le même aux deux doses (25 et 75 mg/kg) alors que son homologue U2 est anticalciurétique à 25 mg/kg mais devient calciurétique à 75 mg/kg, proche de l'effet de U1. Il faut noter ici que, contrairement à la natriurie et la kaliurie qui ne sont pas significativement affectés par le DMSO (par les deux voies), la calciurie est affectée par voie intra péritonéale.

Tableau 19 : variation de la concentration des ions Ca^{2+} urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par voie orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|----------------|-------------------|--------|--------|----------------------------|--------|--------|
| | $[Ca^{2+}]$ | %(T1) | %(T2) | $[Ca^{2+}]$ | %(T1) | %(T2) |
| T1 (EP) | 106.63 ± 3.60 | ---- | 124.80 | 106.63 ± 3.60 | ---- | 124.80 |
| T2 | 85.44 ± 2.63 | 80.13 | ---- | 85.44 ± 2.63 | 80.13 | ---- |
| HCTZ | 210.79 ± 2.30 *** | 197.68 | 246.71 | 217.91 ± 3.56 *** | 204.36 | 255.04 |
| A1 | 77.79 ± 2.60 * | 72.95 | 91.05 | 90.41 ± 2.52 ^{ns} | 84.79 | 105.82 |
| A2 | 165.69 ± 3.40 *** | 155.39 | 193.93 | 205.83 ± 3.40 *** | 193.03 | 240.91 |
| U1 | 148.07 ± 2.66 *** | 138.86 | 173.30 | 162.56 ± 2.40 *** | 152.45 | 190.26 |
| U2 | 45.17 ± 3.14 *** | 42.36 | 52.87 | 147.94 ± 3.60 *** | 138.74 | 173.15 |

%(T1) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T1 ; %(T2) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

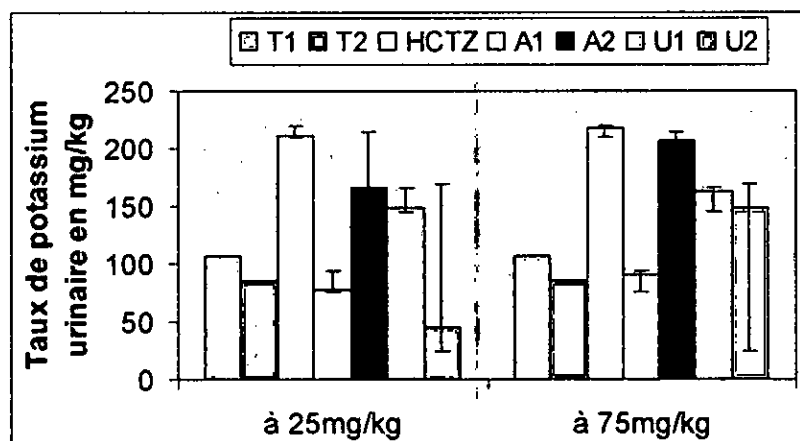


Figure 48 : variation de la $[Ca^{2+}]$ urinaire après administration par voie orale des différents produits aux doses 25 et 75 mg/kg.

5-2- voie intrapéritonéale

Par cette voie, l'HCTZ est moins actif que par voie orale mais reste comme très actif par rapport au témoin T2. Le composé A1 qui n'était pas actif par voie orale, devient actif mais de façon moins marquée à 75 mg/kg qu'à 25 mg/kg. Le composé A2 perd son activité à 25 mg/kg et retient légèrement le calcium à cette dose, mais son effet à 75 mg/kg persiste. Le composé U1 a le même profil que A2 mais à 75 mg/kg il perd de son activité de façon plus importante que A2. Le composé U2 garde à peu près le même profil que par voie orale, mais son effet anticalciurétique à 25 mg/kg et son effet calciurétique à 75 mg/kg deviennent plus marqués par cette voie (tableau 20).

Tableau 20 : variation de la concentration des ions Ca^{2+} urinaire exprimés en mg/kg éliminés en 04 heures après administration des différents produits par intrapéritonéale orale aux doses 25 et 75 mg/kg et leur pourcentage d'élimination par rapport aux T1 et T2.

| | 25 mg/kg | | | 75 mg/kg | | |
|---------|-------------------|--------|--------|-------------------|--------|--------|
| | $[Ca^{2+}]$ | %(T1) | %(T2) | $[Ca^{2+}]$ | %(T1) | %(T2) |
| T1 (EP) | 106.63 ± 3.60 | ---- | 199.16 | 106.63 ± 3.60 | ---- | 199.16 |
| T2 | 53.54 ± 2.16 | 50.21 | ---- | 53.54 ± 2.16 | 50.21 | ---- |
| HCTZ | 108.23 ± 3.20 *** | 101.50 | 202.15 | 115.75 ± 2.11 *** | 108.55 | 216.19 |
| A1 | 79.63 ± 1.17 *** | 74.68 | 148.73 | 62.29 ± 3.56 * | 58.42 | 116.34 |
| A2 | 46.70 ± 2.11 * | 43.80 | 87.22 | 107.08 ± 1.63 *** | 100.42 | 200.00 |
| U1 | 46.41 ± 2.13 * | 43.52 | 86.68 | 67.86 ± 3.21 ** | 63.64 | 126.75 |
| U2 | 43.90 ± 1.71 ** | 41.17 | 81.99 | 198.17 ± 3.52 *** | 185.85 | 370.13 |

%(T1) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T1 ; %(T2) : quantité des ions de Na^+ éliminée par rapport à T2. Chaque valeur correspond à la moyenne ± écart type.

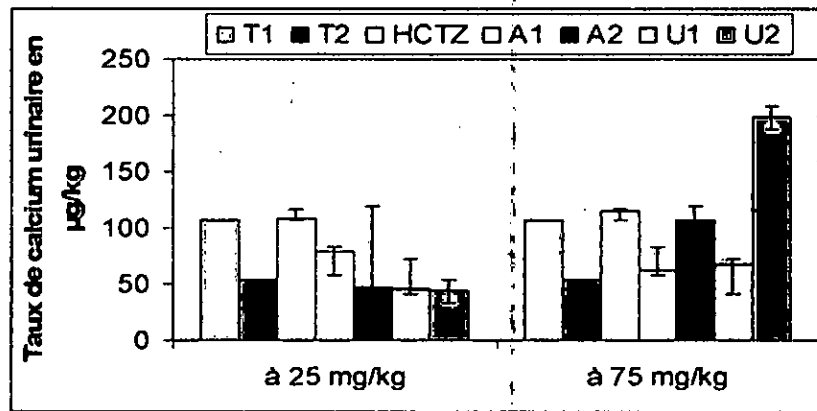


Figure 49 : variation de la $[Ca^{2+}]$ urinaire après administration par voie intrapéritonéale des différents produits à différentes doses.

DISCUSSION

L'étude et la recherche de nouvelles molécules non cycliques appartenant à la famille des dihydrobenzopyranes potentiellement modulant les canaux potassiques, comportant des fonctions amide et urée, a conduit à une série de composés dotés, pour certains d'entre eux, de propriétés vasodilatatrices (surtout les urées) très intéressantes [1]. En plus de ce dernier effet, ces molécules ont présenté, *in vivo*, à 50 mg/kg, un effet diurétique considérable [2,3]. Dans le présent travail, quatre molécules appartenant à cette série (deux urées et deux amides) ont été testées afin d'évaluer leur effet diurétique à 25 et à 75 mg/kg, en plus de leur effet sur d'autres paramètres tels que la natriurèse, la kaliurèse, l'uraturie et la calciurie.

La diurèse

Par voie orale, à 25 mg/kg (tableau 7), les quatre composés ont donné un effet diurétique presque identique mais qui est inférieur à celui obtenu à 50 mg/kg (voir annexe pour la dose de 50 mg/kg) [2,3]. Cet effet a diminué de façon relative à 75 mg/kg sauf pour le composé U1 qui a légèrement progressé (tableau 9). On peut donc conclure que l'effet diurétique de la majorité des produits plafonne à 50 mg/kg.

Par voie intrapéritonéale, l'effet diurétique a fortement diminué par rapport à la voie orale mais le profil est resté le même, à savoir qu'il augmente de 25 à 50 mg/kg (voir annexe) puis chute de nouveau à 75 mg/kg (tableau 10), sachant que le composé U2 diffère des autres par le fait que son effet varie de façon moins importante en fonction de la dose mais garde le même profil. Là aussi on peut donc conclure que l'effet diurétique de la majorité des produits plafonne à 50 mg/kg tout en étant plus faible pour certains comparé à la voie orale.

L'HCTZ, le composé de référence, donne un effet diurétique puissant qui est dose dépendant par les deux voies (orale et intrapéritonéale). Ceci marque une différence nette entre le profil d'activité de nos molécules les plus actives (U1 et surtout U2) pour lesquelles l'effet n'est pas dose dépendant et plafonne à 50 mg/kg, et diminue fortement par voie intrapéritonéale.

L'uraturie

Par voie orale, l'effet des produits testés sur l'uraturie est faible par rapport à celui des témoins et garde le même profil de variation des produits A1, A2, et U2, cet effet qui progresse et plafonne à la dose 50 mg/kg, en augmentant la dose de 25 à 50 mg/kg, puis chute à la dose de 75 mg/kg. Contrairement à U1 qui marque une chute en allant de dose se 25 à 50 mg/kg, puis remonte avec la dose à 75 mg/kg (voie annexe). Par voie intrapéritonéale, les profils de l'effet de U1 et U2 sur l'uraturie sont opposés à ceux par voie orale. U1 atteint son effet maximale à la dose de 50 mg/kg puis chute en augmentant la dose à 75 mg/kg, contrairement à U2 que son effet chute en allant la dose de 25 à 50 mg/kg puis augmente avec la dose de 75 mg/kg. Pour les amides, A1

garde le même profil alors que l'effet de A2 augmente relativement avec la dose. L'effet de l'HCTZ sur l'uraturie est presque identique par les deux voies. Nous pouvons dire que globalement, les produits testés et l'HCTZ provoquent tous une rétention de l'acide urique dans les urines à des degrés variables.

Le pH-urinaire

Par voie orale ainsi que par voie intrapéritonéale, le pH des urines n'est pas influencé de façon prononcée par l'administration des produits portant les fonctions amides et urées aux différentes doses 25 et 75 mg/kg. Le pH-urinaire des rats traités par l'HCTZ a, par contre, relativement augmenté. On note aussi une légère augmentation du pH lorsqu'on passe de la voie orale à la voie intrapéritonéale.

La natriurèse

Par voie orale, l'effet des quatre produits sur la natriurèse a le même profil de variation qui consiste à diminuer de 25 (tableau 15) à 50 mg/kg (voir annexe) puis de remonter à la dose de 75 mg/kg, alors que l'effet de l'HCTZ est dose dépendant et est plus fort que le leur.

Par voie intrapéritonéale, l'effet des produits testés est de façon générale moins important que par voie orale, en suivant le même profil de variation (A2 et U1) en diminuant entre 25 et 50 mg/kg et remontant à 75 mg/kg. A1 par contre, suit le profil opposé, c-à-dire qu'il augmente de 25 à 50 mg/kg puis rechute à 75 mg/kg. L'effet de U2 est tout à fait différent puisqu'il augmente avec la dose.

La kaliurèse

Par voies orale et intrapéritonéale, l'effet des produits testés sur la kaliurèse est faible ou inexistant par rapport aux témoins. Par voie intrapéritonéale, les quatre produits suivent le même profil en marquant un maximum à 50 mg/kg. Par voie orale A1, U1 et U2 suivent le profil décrit précédemment alors que l'effet de A2 augmente avec la dose bien que faible.

La calciurie

Par voie orale, l'effet des produits testés sur la calciurie est remarquablement puissant que celui des témoins à la dose 25 mg/kg qu'à la dose de 75 mg/kg, sauf U2 qui marque un effet négligeable à la dose 25 mg/kg. Par voie intrapéritonéale, les produits ont de faibles effets à la dose 25 mg/kg comparativement aux témoins, alors que cet effet augmente à la dose 75 mg/kg pour A2 et U2 et reste faible pour A1 et U1. Il faut noter ici que, contrairement à la natriurie et la kaliurie qui ne sont pas significativement affectées par le DMSO (par les deux voies), la calciurie est affectée par voie intra péritonéale. Ceci peut être dû au fait que par voie orale le DMSO est rapidement

métabolisé alors que par voie intrapéritonéale il l'est plus lentement, donc il aura plus de temps pour exercer son effet toxique sur l'organisme.

L'HCTZ médicament de référence, a donné un effet diurétique très important par voie orale et par voie intrapéritonéale de manière dose dépendante. Ce médicament fait partie des inhibiteurs du co-transporteur Na^+/Cl^- situé sur les membranes des cellules de la partie initiale du tubule proximal distal (TCD). Nos composés les plus actifs montrent un profil d'activité différent de celui de l'HCTZ, ce qui indiquerait qu'ils ne sont pas des inhibiteurs du co-transporteur Na^+/Cl^- . Ceci nous impose de chercher un autre mécanisme d'action par des tests in vitro sur les différentes parties du glomérule pour déterminer le site d'action.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PRSPECTIVE

La simplification moléculaire du cycle dihydrobenzénique, du côté aliphatique, et greffage de fonctions amide ou urée nous a permis de synthétiser quatre composés, nouveaux analogues de dihydrobenzopyranes, portant des fonctions urée et amide. Les molécules les plus actives (U1 et surtout U2) ont montré un effet diurétique intéressant par voie orale mais qui plafonne à 50 mg/kg et diminue dramatiquement par voie intrapéritonéale, et restent moins actifs que le médicament de référence, l'hydrochlorothiazide, un diurétique et antihypertenseur connu. Ce dernier donne un effet plus important tant sur la diurèse que les autres paramètres (natriurèse, kaliurèse...) et est dose dépendant.

En perspective on envisage :

- de préparer d'autres dérivés de la même famille et de refaire les mêmes tests *in vivo*.
 - de procéder à des tests *in vitro* sur les différentes parties du glomérule pour déterminer le site d'action.
- De rechercher par HPLC des traces de nos composés et d'éventuels métabolites de nos composés dans le sang et dans les urines.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références:

- [1] S.Khelili, F.Xavier, M.Bouhedja, S.Abdelaziz, N.Mechouche, M.Yekhlef, P.De Tollio, P.Le brun and B.Pirotte ; Synthesis and activity on rat aorte rings and rat aorta rings and rat pancreatic b-cells of ring – opened analogues of benzopyran-type potassium channel activators ; Bioorg.Med.Chem ; 2008, in press.on line sur Elsevie depuis le 15 avril 2008.
- [2] S.Abdelaziz ; Synthèse et évaluation pharmacologique d'analogues ouverts de dihydrobenzopyrane comportant une fonction amide, Mémoire de magister en chimie pharmaceutique ; Juillet 2006.
- [3] N.Mechouche ; Synthèse et étude pharmacologique d'analogues ouverts de dihydrobenzopyrane comportant une fonction urée, Mémoire de Magister en chimie Pharmaceutique; Juillet 2006.
- [4] T.Kazic and LJ.Gojkovic-Bukarica ; Ion channels and drug development focus on potassium channels and their modulation ; MEDECINE AND BIOLOGY ; 1999, 6, (23-30).
- [5] K. Lawson ; Potassium channel openers as potential therapeutic weapons in ion channel disease ; Kidney international ; 2000, 57, (838-845).
- [6] L.H.Opie ; Potassium channels: physiological, pathological and protective roles ; j clin cardiol ; 1995, 2, (5-7).
- [7] MD. Mark; Sperling ; ATP-sensitive potassium channels-Neonatal diabetes mellitus and beyond ; The New England journal of medicine ; 2006, 355, (507-510).
- [8] Y. Aguilar-Bryan and J. Bryan ; Molecular biology of adenosine triphosphate-potassium channels ; Endocrin reviews20 ; 1999, 2, (101-135).
- [9] G. Edwards and A. H. Weston ; The pharmacology of ATP-sensitive potassium channels; Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol ; 1993, 33, (597-637).
- [10] R.Carroll, J.M.Walker and D.M. Yellon ; Myocardial protection: the role of the K-ATP channel; J.ClinBasic Cardiol ; 1999, 2, (8-11).
- [11] G.Ilko and A. A.Marino ; Potassium channels in epithelial cells, Cellular and molecular biology Research ; 1993, 39, (601-611).
- [12] N.B.Standen ; K_{ATP} channels in vascular smooth muscle: structure, regulation and functional roles; J.Clin Basic cardiol ; 2003, 6, (7-12).
- [13] T. LENZ and G. Wagner ; Potentiel role of potassium channel openers for treatment of cardiovascular disease. Raven Press, New york.2^{ème} edition.1995.2953-2968.
- [14] M.Sanguinetti and N.Jurkiewicz ; Delayed rectifier potassium channels of cardiac muscle; Futura publishing Co, New york; 1994:121-145.
- [15] G. Edwards, A.H. Weston; The pharmacology of ATP sensitive potassium channels; Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol; 1993, 33, (597-637).
- [16] a) N.S.Cooke; The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential, Trends pharmacol.Sci ; 1988, 8, (21-28). b) A. Voltera and A. S. Siegelbaum; Opposing modulation of S-K channel activating by cyclic AMP and arachidonic acid metabolites, progress in clinical and

biological research-volum334, potassium channels-basic function and therapeutic aspects ; Editor: Thomas J.Colatski, New York; 1990, (323-338).

- [17] A.G.Gikman ; G proteins: Traducers of receptor-generated signals ; Ann: Rev-Biochem; 1987, 56, (615-649).
- [18] H. Schweitz, J.N. Bidar, P. Maes and M. lazdunski ; Charybdotoxin is a new member of the k channel family that includes dendrotoxin 1 and must cell degranulating peptide; Biochemistry ; 1989, 28, (9708-9714).
- [19] A.Noma; ATP-regulated potassium channel in cardiac muscle; Nature; 1983, 305, (147-148).
- [20] AP. Babenko, L. Aguilar-Bryan and J.Bryan; A view of SUR/ KIR6.X, K_{ATP} channels; Annu. Rev. Physiol; 1998, 60, (667-687).
- [21] S.Seino; ATP-sensitive potassium channels: a model of heteromultimeric potassium channel/receptor assemblies; Annu. Rev. Physiol ; 1999, 61, (337-362).
- [22] I.Cavero, J.M. Guillon, D.Thuringer and U.Quast ; Canaux potassiques ; Herrmann ; 1998, (215-236).
- [23] U.Quast; ATP-sensitive K⁺ channels in the kidney, Naunyn-Schmiedeberg.s.Arch Pharmacol; 1996, 354, (213-225).
- [24] F.Ashcroft; Mechanisms of the glycaemic effects of sulfonylureas; Horm. Meath. Res; 1996. 28, (456-463).
- [25] S.Ashcroft and F.Ashcroft; Properties and function of ATP-sensitive K⁺ channels; Cell. Signal; 1990, 2, (197-214).
- [26] G.Edwards and A.Weston; The pharmacology of ATP-sensitive potassium channels; Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol; 1993, 33, (597-637).
- [27] S.Seino and T.Miliki; Physiological and pharmacological roles of ATP-sensitive K⁺ channels; Prog.Biophys. Mol Biol; 2003, 81, (133-176).
- [28] L.Aguilar-Bryan, C.G.Nichols, S.W.Wechsler, J.P.Clement, A.E.Boyd, G.González, H.Herrera-Sosa, K.Nguy, J.Bryan and D.Nelson; Cloning of the b-cell high-affinity sulphonylurea receptor: a regulator of insulin secretion; Science; 1995, 268, (423-425).
- [29] N.Inagaki, T.Gonoi and I.Clement, N.Namba, J.Inazawa, G.Gonzalez, L.Aguilar-Brayan, S.Seino and J.Bryan; Reconstitution of IK_{ATP}: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor; Science; 1995, 270, (1166-1170).
- [30] L.Aguilar-Bryan and J.Bryan; Molecular biology of adenosine Triphosphate-Sensitive Potassium channels; Endocr Rev; 1999, 20, (101-135).
- [31] J.Bryan and L.Aguilar-Bryan; Sulfonylurea receptors: ABC transporters that regulate ATP-sensitive K⁺ channels; Biochim Biophys Anta; 1999, 1461, (285-303).
- [32] H.Sakura, C.Ämmälä, P.A.Smith, F.M.Gribble and F.M. Ashcroft; Cloning and functional expression of the cDNA encoding a novel ATP-sensitive potassium channel expressed in pancreatic B-cells, brain, heart and skeletal muscle; FEBS Lett; 1995, 377, (338-344).

- [33] F.M.Gribble, R. Ashfield, C.Ämmälä and F.M Ashcroft; Properties of cloned ATP sensitive K⁺ currents expressed in *Xenopus incites* ;J Physiol; 1997 ,**498**, (87-98).
- [34] I.V.Clement, K.Kunjilwar, G.Gonzalez, M.Schwanstecher, U.Panten, L.Aguilar-Bryan and J.Bryan; Association and stoichiometry of K_{ATP} channel subunits; Neuron; 1997. **18**, (827-838).
- [35] D.Doyle, J.M.Cabral, R.A.Pfuetzner, A.Kuo, J.M.Gulbis, S.L.Cohen, B.T.Chait and R.Mackinnon ; The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity; Science; 1998, **280**, (69-77).
- [36] K.G.Chandy and G.A.Gutman; Nomenclature for mammalian potassium channel genes; Trends Pharmacol Sci; 1993, **14**, 434.
- [37] U.Quast ; La structure des canaux potassiques ATP-dépendants : complexe moléculaire SUR/Kir6; Journ Annu Diabetol Hotel Dieu; 2000, (1-12).
- [38] S.J.Tucker, F.M.Gribble, P.Proks, S.Trapp, T.J.Ryder, T.Haug, F.Reimann and F.M.Ashcroft; Molecular determinants of K_{ATP} channel inhibition by ATP; EMBO J ;1998. **17**, (3290-3296).
- [39] S.L.Shyng, A.Barbieri, A.Gumusboga, C.Cukras and L.Pike; Gating of K_{ATP} by nucleotides and phospholipids; Eur. J. Biochem; 2000, **267**, 5847.
- [40] C.Higgins; ABC transporters: from microorganisms to man; Annu Rev Cell Biol; 1992, **8**, (67-113).
- [41] G.E.Tusnády, E.Bakos, A.Varadia and B.Sacked; Membrane topology distinguishes a subfamily of the ATP-binding cassette (ABC) transporters; FEBS Lett;1997, **402**, (1-3).
- [42] C.Nichols, S.L.Shyng, N.Rowicza, B.Glasser, J.P.Clement, G.Gonzalez,L.Aguilar-Brayan, M.A.Permutt and J.Brayan ; Adenosine diphosphate as an intracellular regulator of insulin secretion; Science; 1996, **272**, (1785-1787).
- [43] R.Ashfield, F.M.Gribble, S.Ashcroft and F.Ashcroft; Identification of the high-affinity tolbutamide site on the SUR1 subunit of the K_{ATP} channel; Diabetes; 1999, **48**, (1341-1347).
- [44] I.Uhde, Ottoman, A.Toman, C.Schwanstecher, I.Gross and M.Schwanstecher ; Identification of the potassium channel opener site on sulfonylurea receptors; J Biol Chem; 1999, **274**, (28079-28082).
- [45] N.Inagaki, T.Gonoit, J.P.Clement, C-Z.Wang, L.Aguilar-Brayan, J.Brayan and S.Seino ; A family of supphonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K⁺ channels; Neuron; 1996, **16**, (1011-1017).
- [46] S.Isomoto, C.Kondo, M.Yamada, O.Higashiguchi, Y.S.Horio, Y.Matsuzawa and Y.Kuachi ; A novel sulfonylurea receptor forms with BIR (KIR6.2) a smooth muscle type ATP-sensitive K⁺ channel; J Biol Chem; 1996, **271**, (24321-24324).
- [47] F.Thévenod, K.V.Chathadi, B.Jiang and U.Hopfer; ATP-sensitive K⁺ conductance in pancreatic zymogen granules: block by glyburide and activation by diazoxide; J Membr Biol; 1992, **29**, (253-266).
- [48] S.E.Ozanne, P.C.Guest, J.C.Huton and C.N.Hales; Intracellular localization and molecular heterogeneity of the sulphonylurea receptor in insulin-secreting cells; Diabetologia; 1995, **38**, (277-282).

- [49] K.D.Garlid; Cation transport in mitochondria — the potassium cycle; *Biochim Biophys Acta*; 1996, **1275**, (123-126).
- [50] C.G.Nichols and W.L.Lederer; the regulation of ATP-sensitive K^+ channel activity in intact and permeabilized rat ventricular myocytes; *Journal of Physiology*; 1990, **423**, (91-110).
- [51] H.Nakaya, Y.Takeda, N.Tohse and M.Kanno; Effects of ATP-sensitive K^+ channel blockers on the action potential shortening in hypoxic and ischemic myocardium, *British Journal of Pharmacology*; 1991, **103**, (1019-1026).
- [52] T.Koyano, M.Kakei, H.Nakashima, M.Yoshinaga, T.Matsuoka, H.Tanaka; ATP-regulated K^+ channels are modulated by intracellular H^+ in guinea-pig ventricular cells. *Journal of Physiology*; 1993, **463**, (747-766).
- [53] S.Shigematsu and M.Arita; Anoxia-induced activation of ATP-sensitive K^+ channels in guinea pig ventricular cells and its modulation by glycolysis; *Cardiovascular Research.*, 1997, **35**, (273-282).
- [54] K.E.Andersson; Potassium channels in epithelial cells ; *Urology*; 1997, (50-74).
- [55] D.Hilgemenn; Cytoplasmic ATP-dependent regulation of ion transporters and channels : mechanisms and messengers; *Annu Rev Physiol*; 1997, **59**, (193-220).
- [56] S.Misler, L.C.Falke, K.Gillis and M.L.Mc Daniel; a metabolite regulated potassium channel in rat pancreatic B-cells; *Proc Natl Acad Sci USA*; 1986, **83**, (7119-7123).
- [57] F.M.Ashcroft, D.E.Harrison and S.J.Ashcroft; glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic B-cells; *Nature*; 1984, **312**, (446-448).
- [58] F.M.Ashcroft and M.Kakei; ATP-sensitive K^+ channels in rat pancreatic B-cells: modulation by ATP and Mg^{2+} ions, *J Physiol (Lond)*; 1989, **416**, (349-367).
- [59] I.Findlay; ATP^{4-} and ATP-Mg inhibit the ATP-sensitive K^+ channel of rat ventricular myocytes; *Pflugers Arch*; 1988, **412**, (37-41).
- [60] K.Bokvist, C.Ammala, F.Ashcroft, P.Berggren, O.Larsson and P.Rsman; ATP-binding site in rat cardiac cells' K_{ATP} ; *Proc R Soc London Ser B.*, 1991, **243**, (139-144).
- [61] D.L.Cook and C.N.Hales; Intracellular ATP directly blocks K^+ channels in pancreatic B-cells, *Nature*; 1984, **311**, (271-273).
- [62] G.Trube and J.Hescheler; Inward-rectifying channels in isolated patches of the heart cell membrane: ATP-dependence and comparison with cell-attached patches; *Pflugers Arch.*, 1984, **401**, (178-184).
- [63] A.P.Babenko, G.Gonzalez, L.Aguilar-Bryan and J.Bryan; Reconstituted human cardiac K_{ATP} channels: Functional identity with native channels in the sarcolemma of human ventricular cells ; *Circ Res*; 1998, **83**, (1132-1143).
- [64] Y.Okuyama, M.Yamada, C.Kondo, E.Satoh, S.Isomoto, T.Shindo, Y.Horio, M.Kitakaze, M.Hori and Y.Kurachi; The effects of nucleotides and potassium channel openers on the SUR2A/Kir6.2 complex K^+ channel expressed in a mammalian cell line; HEK293T cells. *Pflugers Arch*; 1998, **435**, (595-603).
- [65] M.J.Dunne and O.H.Petersen; Intracellular ADP activates K^+ channels that are inhibited by ATP in an insulin-secreting cell line; *FEBS Lett*; 1986, **208**, (59-62).

- [66] L.C.Falke, K.Gillis, M.L.Mc Daniel; A metabolite regulated potassium channel in rat pancreatic B-cells; *Proc Natl Acad Sci USA*; 1986, **83**, (7119-7123).
- [67] D.Thuringer, I.Cavero ; les canaux potassiques inhibés par l'ATP cellulaire : une aventure physiologique à suspense moléculaire, *Med Sci.*, 1997, **13**, (1049-1052).
- [68] A.Terzic, I.Findlay, Y.Hosoya and Y.Kurachi; Dualistic behaviour of ATP-sensitive K⁺ channels toward intracellular nucleoside diphosphates; *Neuron*; 1994, **12**, (1049-1058).
- [69] J.Wu, N.Cui, H.Piao, Y.Wang, H.Xu, J.Mao and C.Jiang; allosteric modulation of the mouse Kir6.2 channel by intracellular H⁺ and ATP; *J Physiol*; 2002, **543**, (495-504).
- [70] J.A.L.Cuevas, J.S.Bassett, T.Cameron, R.J.Furukawa and S. Kimura; effect of H⁺ on ATP regulated K⁺ channels in feline ventricular myocytes; *Am.J.Physio*; 1991, **261**,(H755-H761).
- [71] W.J.Lederer and C.G.Nichols; nucleotide modulation of the activity of rat heart ATP-sensitive K⁺ channels in isolated membrane patches; *J.Physiol.(Lond.)*; 1989, **419**, (193-211).
- [72] P.M.Proks, Takano, F.M.Ashcroft; Effects of intracellular pH on ATP-sensitive K⁺ channels in mouse pancreatic b-cells; *J.Physiol.(Lond)*; 1994, **475**, (33-44).
- [73] Y.Lin, Y.Jan and L.Jan; Regulation of -sensitive potassium channels by protein kinase A-mediated phosphorylation in transfected HEK293 cells; *Embo J*; 2000, **19**, (942-955).
- [74]P.Beguin, K.Nagashima, M.Nishimura , T.Gonoi and S.Seino; PKA-mediated phosphirylation of the human K_{ATP} channel: separate roles of Kir6.2 and SUR1 subunit phosphorilation; *Embo J*; 1999, **18**, (4722-4732).
- [75] P.E.Light, C.Bladen, R.J.Winkfein, M.P.Walsh and R.J.French; Molecular basis of protein kinase C-induced activation of ATP-sensitive potassium channels; *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2000, **97**, (9058-9063).
- [76] K.S.Thorneloe, Y.Maruyama, A.T.Malcolm, P.ELight, M.P.Walsh and W.Cole; C.Protein kinase C modulation of recombinant ATP-sensitive K⁺ channels composed of Kir6.1 and/or Kir6.2 expressed with SUR2B; *J Physiol*; 2002, **541**, (65-80).
- [77] S.L.Shyng and C.G.Nichols; membrane phospholipid control of nucleotide sensitivity of K_{ATP} channels, *Science.*, 1998, **282**, (1138-1141).
- [78] T.Baukrowitz and BFakler; K_{ATP} channels gated by intracellular nucleotides and phospholipids; *Eur J Bioche*; 2000, **267**, (5842-5848).
- [79] D.Enkvetchakul, G.Loussouarn, E.Makhina, S.L.Shyng and C.G.Nichols; The kinetic and physical basis of K_{ATP} channel gating: toward a unified molecular understanding; *Biophysical Journal*; 2000, **78**, (2334-2348).
- [80] T.Haruna, H.Yoshida, T.Y.Nakamura, L.H.Xie, H.Otani, T.Ninomiya, M.Takano, W.A.Coetzee and M.Horie; Alpha1-adrenoceptor-mediated breakdown of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate inhibits pinacidil-activated ATP-sensitive K⁺ currents in rat ventricular myocytes; *Circ Res*; 2002, **91**, (232-239).
- [81] L.H.Xie, M.Horie and M.Takano; Phospholipase C-linked receptors regulate the ATP-sensitive potassium channel by means of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate metabolism; *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1999, **96**, (15292-15297).

- [82] Z.Fan and L.Gao; Phosphatidic acid stimulates cardiac K_{ATP} channels like phosphatidylinositols, but with novel gating kinetics; *Am J Physiol Cell Physiol*; 2003, **284**, (C94-102).
- [83] G.X.Liu, P.J.Hanley, J.Ray and J.Daut; Long-chain acyl-coenzyme A esters and fatty acids directly link metabolism to K_{ATP} channels in the heart; *Circ Res*; 2001, **88**, (918-924).
- [84] J.A.Sanchez, T.Gonoi, N.Inagaki, T.Katada and S.Seino; modulation of reconstituted ATP sensitive K⁺ channels by GTP-binding proteins in a mammalian cell line; *J Physiol*; 1998, **507**, (315-324).
- [85] R.Mille; Glucose-regulated potassium channels are sweet news for neurobiologists; *Trends in neurosciences*; 1990, **13**, (197-199).
- [86] T.Bartfai, G.Fisone, U.Langel, U; Galanin and galanin antagonists: Molecular and biochemical perspectives, *Trends in pharmacological sciences*; 1992, (312-317).
- [87] G.Ilko and A.Andrew; Potassium channels in epithelial cells, *Cell Mollec Biol Research*; 1993, **6**, (601-611).
- [88] G.Edwards and A. H. Weston; Structure activity relationships of K⁺ channel openers, *Trends Pharmacol Sci*; 1990, **11**, (417-422).
- [89] G.Edwards and A. H. Weston; Potassium channel openers and vascular smooth muscle relaxation, *Pharmacol Ther*; 1990, **48**, (237-258).
- [90] G.Edwards and A.H.Weston; Effect of potassium channel modulating drugs on isolated smooth muscle, *Handbook of experimental pharmacology*; 1994, **11**, (469-531).
- [91] M.J.Dunne; The physiology and pharmacology of ATP regulated potassium channels in insulin-secreting cells, *Pharmacological; Molecular and Clinical Aspects*; 1992, (110-143).
- [92] L.Galvan; Potassium channels in mammalian neurons : their properties and prospects for pharmacological manipulation; *Pharmacological, Molecular and Clinical Aspects*; 1992, **17**, (204-236).
- [93] A.C.Wareham; Skeletal muscle potassium channels and their relevance to muscle disease; *Pharmacological; Molecular and Clinical Aspects.*, 1992, **17**, (237-271).
- [94] A.Noma and M.Takano; The ATP-sensitive K⁺ channel; *Jpn. J. Pysiol*; 1991, **41**, (177-187).
- [95] L.C.Freeman, W.Kwok, J.Anumonwo and R.Kass; Potassium channels in the heart: physiological function and neurohormonal regulation; *Pharmacological, Molecular and Clinical Aspects*; 1992, **17**, (181-203).
- [96] J.E.Nielsen-Kudsk, S.Boesgaard and J.Aldershvile; K⁺ channel opening: a new drug principle in cardiovascular medicine; *Heart*; 1996, **76**, (109-16).
- [97] L.J.Gojković Bukarica and T.Kažić; Ion channels. In: Kažić T, Zdravković M. *Clinical Cardiovascular Pharmacology*; Integra, Belgrade; 1997, **3**, (45-62).
- [98] F.M.Ashcroft, M.Kakei, R.P.Kelly and B.Sutton; ATP-sensitive potassium channels in human pancreatic B-cells; *FEBS Lett*; 1987, **215**, (9-12).

- [99] G.Edwards and A.H.Weston; The pharmacology of ATPsensitive potassium channels; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*; 1993, **33**, (597-637).
- [100] J.Evans and S.D.Logman; Potassium channel activators; *Annu. Rep. Med. Chem.*; 1999, **26**, (73-82).
- [101] D.Robertson and M.I.Steinberg; Potassium channel modulators : scientific applications and therapeutic promise; *J. Med. Chem.*; 1990, **33**, (1529-1941).
- [102] P.Petit, D.Hillaire-Buys, A-K.Mir and M.Loubatières-Mariani; Differentiel effects of cromakalim on pancreatic vascular resistance and insulin secretion in vitro; *Fundam. Clin. Pharmacol.*; 1992, **6**, (185-190).
- [103] P.Lebrun, M.H.Antoine, V.Devreux, M.Hermann and A.Herchuelz; Paradoxical inhibitory effect of cromakalim on ⁸⁶Rb outflow from pancreatic islets cells; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*; 1990, **255**, (948-954).
- [104] T.Kažić and L.Gojković-Bukarica; Ion channels and drug development :focus on potassium channels and their modulators; *Medicine and Biology*;, 1999,**1**, (23 – 30).
- [105] R.Bergmann, V.Eiermann and R.Gericke; 4-heterocycloxy-2H-1- benzopyran potassium channel activators; *J. Med. Chem.*; 1990, **33**, (2759-67).
- [106] S.Khelili, PH.Lebrun, P.De Tullio and B.Pirotte; Synthesis and pharmacological evaluation some N-arylsulfonyl-N-methyl-N'-(2,2-dimethyl-2H-1-benzopyran-4-yl) ureas structurally related to cromakalim; *Bioorganic & Med. Chem.*; 2006, **14**, (3530-3534).
- [107] S.Khelili, Q.A.Nguyen, P.Lebrun, J.Delarge and B.Pirotte; Synthesis and pharmacological evaluation of KATP channel openers related to cromakalim : introduction of sulfonylurea moieties; *Pharm. Pharmacol. Commun.*; 1999, **5**, (189-193).
- [108] D.Escande, D. Thuringer, S.Le Guern, J.Courteix, M. Laville and I Cavero I; Potassium channel openers act through an activation of ATP-sensitive K⁺ channels in guinea pig cardiac myocytes; *Pflügers. Arch* ;1989, **414**, (669-675).
- [109] J.D.Brion, J.Buxeraud, J.Castel, J.Couquelet, M.Cussac, M.DeBaert, J.P.Foornier, Fulcrand, J.Huet, R.Lacroix, J.Y.Laronze, G.LeBaut, P.Loiseau, V.Loppinet, J.Paris, M.Plat, J.Poisson et P.Tronche ; *Traité de chimie thérapeutique : Médicaments du système cardiovasculaire, Volume 3, TEC & DOC-Lavoisier.* 1992, chapitre I, 21-46.
- [110] Tibbotson, G.Edwards ,T. Noack and A.H. Weston; Effects of P1060 and Aprikalim on whole cell currents in rat portal vein : inhibition by glibenclamide and phentolamine; *Br. J. Pharmacol.*, 1993, **108**, (991-998).
- [111] K.M.Bray and U.Quast ; A spesific binding site for K⁺-channel opener in rat aorta; *J. Biol. Chem.*; 1992, **267**, (11689-92).
- [112] W.P.Manley, U. Quast, H.Anders and K.Bray; Synthesis of radioligand binding studies with a triated pinacidil analogue receptor interactions of structurally different classes of potassium channel openers and blockers; *J. Med. Chem.*; 1993, **36**, (2004-10).
- [113] J.G.Topliss, LM.Konzelman ,E.P.Shapiro ,N. Sperber and F.E.Roth; Antihypertensive Agents II: 3-substituted 2H- 1, 2, 4-benzothiadiazine 1,1 dioxid; *J. Med. Chem.*; 1964,**7**, (269-73).

- [114] J.G.Topliss and D.Y.Milton; Correlation of antihypertensive activity with structure in a serie of 2H-1,2-benzothiadiazine-1,1-dioxydes using the substituent constant approach, *J. Med. Chem* ; 1972, **15**, (394-400).
- [115] M.Schorderet ; *Pharmacologie : Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. Edition Slatkine. 1989.*
- [116] C.H.Gelband, N.J.Lodge and C.A. Vanbreeman; Ca^{++} activated K^+ channel from rabbit aorta : modulation by Cromakalim., *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, **94**, (1189-1197).
- [117] N.S.Cook and U.Quast; Potassium channel pharmacology: Potassium channels structure, classisication, function and therapeutic potential, Ellis Horwood, Chichester., 1990, (181-255).
- [118] U.Quast and N.S.Cook; In vivo and in vitro comparison of two K^+ channel openers, diozoxide and cromakalim and their inhibition by glibenclamide, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1989, **250**, (261-270).
- [119] A.Hambrock, C.Lefler-Walz , Y. Kurach and U.Quast; Mg^{2+} and ATP dependence of K_{ATP} channel modulator binding to the recombinant sulphonylurea receptor, SUR2B, *Br J Pharmacol.*,1998,**125**, (577-583).
- [120] M.Schwanstecher, C.Sieverding, H.Dorschner, I.Gros, L.Aguillar-Brayan, C.Schwanstecher and J.Brayn; Potassium channel openers require ATP to bind to and act through sulfonylurea receptors; *EMBO J.*, 1998, **17**, (5529-5535).
- [121] U.Quast; Potassium channel openers: pharmacological and clinical aspects; *Fundam Clin Pharmacol.*,1992, **6**, (279-293).
- [122] M.Dunne; Effects of Pinacidil, RP 49356 and Nicorandil on ATP-sensitive K^+ channels in insulin secreting cells, *Br. J. Parmacol.*, 1990, **99**, (487-492).
- [123] R.Z.Kozlowski, C.N.Hales and M.L.J.Ashford; Dual effects of Diazoxide on ATP- K^+ currents recorded from an insulin-secreting cell line; *Br. J. Pharmacol.* , 1989, **97**, (1039-1050).
- [124] M.J.Dunne, M.C.Illot and O.H.Peterson; Interaction of Diazoxide, tolbutamide and ATP4- on nucleotide-dependent K^+ channels in an insulin secreting cell line; *J. Member. Biol.*, 1987, **99**, (215-224).
- [125] N.C.Sturgess, R.Z.Kozlowski, C.A.Carrington, C.N.Hales and M.L.J.Ashford; Effects of sulfonylureas and Diazoxide on insulin secretion end nucleotide-sensitive channels in an insulin-secreting cell line, *Br. J. Pharmacol.*, 1988, **95**, (83-94).
- [126] G.Trube, P.Rosman and T.Ohnoshosaku; Opposite effects of tolbutamide and Diazoxide on the ATP-dependent K^+ channels in mouse pancreatic B cells; *Pfluegers. Arch.*,1986, **407**, (493-499).
- [127] B.J.Zunkler, G.Lenzen; Concentration-dependent effects of tolbutamide, meglitinide, glibenclamide and diazoxide on ATP- regulated K^+ current in pancreatic B cells, *Naunym-schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*,**337**, (225-230).
- [128] M.J.Dunne, R.J.Aspinal, O.H.Peterson; The effects of Cromakalim on ATP-sensitive potassium channels in insulin-secreting cells., *Br. J. Pharmacol.*, 1990, **99**, (169-175).

- [129] T.Noack, P.Deitmer, G.Edwards and A.H.Weston; Characterization of potassium currents modulated by BRL 38227 in rat portal vein; *Br. J. Pharmacol.*, 1992, **106**, (717-726).
- [130] M.G.Garrino, T.D.Plant and J.C.Henquin; Effects of putative activators of K⁺ channels in mouse pancreatic B-cells; *Br. J. Pharmacol.*, 1989, **98**, (957-965).
- [131] M.Kakei, A.Noma and T.Shibasaki; Properties of adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guineapig ventricular cells; *Journal of Physiology*; 1985, **363**, (441-462).
- [132] H.Yokoshini, M.Sunagawa, T.Seki and N.Sperelakis; ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells; *American Journal of Physiology.*, 1998, **274**, (C25-37).
- [133] K.D.Garlid, P.Paucek, V.Yarov-Yarovoy, X.Sun and P.A.Schindler; The mitochondrial K_{ATP} channel as a receptor for potassium channel openers, *J Biol Chem.*, 1996, **271**, (8796-8799).
- [134] K.D.Garlid, P.Paucek, V.Yarov-Yarovoy, N.Murrayh and B.Darbenzior; Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels: possible mechanism of cardioprotection, *Circ Res.*, 1997, **81**, (1072-1082).
- [135] Y.Liu, T.Sato, B. O'Rourke, T.Sato and E.Marban; Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection, *Circulation.*, 1998, **97**, (2463-2469).
- [136] G.J.Gross and J.A.Auchampach; Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs, *Circ Res.*, 1992, **70**, (223-233).
- [137] R.Schulz, J.Rose and G.Heusch; Involvement of activation of ATP-dependent potassium channels in ischemic preconditioning in swine, *Am J Physiol.*, 1994, **267**, (H1341 H1352).
- [138] C.P.Baines, G.S.Liu, M.Birincioglu, M.Birincioglu, S.D.Critz, M.Cohen and J.M.Downey; Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K_{ATP} channels and actin cytoskeleton, *Am J Physiol.* 1999, **276**, (H1361-H1368).
- [139] M.V.Cohen and J.M.Downey; Ischemic preconditioning: can the protection be bottled? *Lancet.*, 1993, **342**, 6.
- [140] A.Danna and D.M.Yellon; Novel cardioprotective agents in acute coronary syndromes: a role for nicorandil, *Brit J Cardiol.*, 1998, (186-187).
- [141] D.Escande and I.Cavero ; K⁺ channel openers and natural cardioprotection; *Trends Pharmacol Sci.*, 1992 , **13**, (269-272).
- [142] C.F.Toombs, N.R.Norman, V.E.Groppi, K.S.Lee, R.C.Gadwood and R.J.Shebuski; Limitation of myocardial injury with potassium channel opener Cromakalim and the nonvasoactive analog U-89232: vascular vs. cardiac actions in vitro and in vivo, *J Pharmacol Exp Ther.*, 1992, **263**, (1261-1268).
- [143] D.Myellon, G.F.Baxter, D.G.Dorado, G.Heusch, and M.S.Summary; Ischaemic preconditioning: present position and future directions, *CardiovasRe.*, 1998, **37**, (21-33).
- [144] D.T.Newgreen, K.M.Bray, A.D.McHarg, A.H.Weston and S.Duty; The action of Diazoxide and Minoxidil sulphate on rat blood vessels: a comparison with Cromakalim, *Br. J. Pharmacol.*, 1990, **100**, (605-613).
- [145] C.Richer, J.Pratz, P.Mulder, S.Mondot, J.F.Giudilli and I.Cavero; Cardiovascular and biological effects of K⁺ channel openers, A class of drugs with vasorelaxant and cardioprotective properties, *Life Sci.*, 1990, **47**, (1693-705).

- [146] A.E.Spruce, N.B.Standen and P.R.Stanfield; Voltage-dependent ATP-sensitive potassium channels of skeletal muscle membrane; *Nature.*, 1985, **316**, (736-738).
- [147] F.Burton, U.Dorstelmann and O.F.Hutter; Single-channel activity in sarcolemmal vesicles from human and other mammalian muscles, *Muscle Nerve.*, 1988, **11**, (1029-1038).
- [148] J.M.Quyale, N.B.Standen and R.P.Stanfield; The voltage-dependent block of ATP-sensitive potassium channels of frog skeletal muscle by caesium and barium ions, *J. Physiol.*, 1988, **405**, (677-697).
- [149] K.H.Woll, U.Lönnendonker and B.Neumcke; ATP-sensitive potassium channels in adult mouse skeletal muscle: different modes of blockage by internal cations, ATP and tolbutamide. *Pfluegers, Arch.*, 1989, **414**, (622-628).
- [150] R.Weik and B.Neumcke; Effects of potassium channel openers on single potassium channels in mouse skeletal muscle, *Naunyn-Schmiedeberg.s Arch Pharmacol.*, 1990, **342**, (258-263).
- [151] A.Spuler, F.Lehmann-Hotn and P.Grafe; cromakalim (BRL 34915) restores in vitro the membrane potential of depolarized human skeletal muscle fibres, *Naunyn-Schmiedeberg.s Arch Pharmacol.*, 1989, **339**, (327-331).
- [152] P.Grafe, S.Quasthoff, M.Strupp and F.Lehmann-Horn; Enhancement of K⁺ conductance improves in vitro the contraction force of skeletal muscle in hypokalaemic periodic paralysis, *Muscle Nerve.*, 1990, **13**, (451-457).
- [153] C.Mourre, Y.Ben Ari, H.Bernardi, M.Fosset and M.Lazdunski; Antidiabetic sulfonylureas : localization of binding sites in the brain and effects on the hyperpolarization induced by anoxia in hippocampal slices, *Brain Res.*, 1989, **486**, (159-164).
- [154] C.Mourre, C.Widmann and M.Lazdunski; Sulfonylurea binding sites associated with ATP-regulated K⁺ channels in the central nervous system : autoradiographic analysis of their distribution and ontogenesis, and of their localization in mutant mice cerebellum, *Brain Res.*, 1990, **519**, (29-43).
- [155] D.R.Gehlert, D.E.Mais, S.L.Gackenheimer, J.H.Krushinski and D.W.Robertson; localization of ATP-sensitive potassium channels in the rat brain using a novel radioligand [¹²⁵I] iodoglibenclamide, *Eur. L. Pharmacol.*, 1990, **186**, (373-375).
- [156] L.E.Limbird, G.H.Ardmans, B.P.Mollinoff, R.W.Rudon et A.Gilman; Les bases pharmaceutiques de l'utilisation de médicaments., 9^{ème} édition, 1996, **29**, 591-617.
- [157] J.D.Brion, J.Bxeraud, J.Castel, M.Plat et J.Couquelet ; traité de chimie thérapeutique : médicaments du système cardio-vasculaire., TEC & Doc LAVOISIER , 1992, volume **3**, 3-104.
- [158] F.Lomb ; physiology of diuresis ., renal physiol, 1987, **10**, 135-220.
- [159] F.Lamb, C.G.Ingram, I.P.Johnson and R.M.Pitman ; Manuel de physiologie : le rein et la miction., Pitman, 1990, 241-235.
- [160] D.H.Ellison ; The clinical use of diuretics., AcademicPress, 1998, 114-123.
- [161] B.D.Rose and T.W.Post ; Clinical use of diuretics, In clinical physiology of Acid-base and Electrolyte Disorders, 2001, 147-477.
- [162] D.C.Brater ; Diuretic therapy., *N Engl J Med*, 1998, **339**, 387-395.
- [163] J.A.Ferguson, K.J.Sundblad, P.K.Beker, J.C. Goski, D.W.Rudy and D.C.Brater ; Role of duration of diuretic effect in preventing sodium retention., *clin pharmacol Ther*, 1997, **62**, 203-208.

[164] G.Slomons et C.Fyhle ; Chimie organique, chapitre18:acides carboxyliques et derives.edition modulo; 2000,(741-747).

[165] J. Mc Murry . Chimie organique: les grands principes, chapitre10 : acides carboxyliques et dérivés.Edition Dunod, 2003,334-335.

[166] A.William Johnson ; Invitation à la chimie organique, chapitre 23 : Acides carboxyliques et fonctions dérivées. EditionTec et Doc-Lavoisier, 3^{ème} édition, 477.

[167] R.Alan Katryzky, N. Kirichenko and B.V.Rogovoy ; Synthesis of mono- and N,N-disubstuted ures, ARKIVIOC., 2003, 42, (1445-1447).

[168] Qi Liu, W.Nathan W.Luedtke and T.Yitzhar; A simple conversion of amines into monosubstituted ures inorganic and aqueous solvents., 2001, 2, (140-148).

[169] F.Bigi, R.Maggi and G.Sartorri; Selected synthesis of ureas through phosgene substitutes; *Green chemistry.*, 2000,2, 140-148.

[170] R.Nomura, M.Yamamoto and H.Matsuda; Ind. Eng. Chem , Res., 1987,26, 1056

[171] H.Ogura, K.Takeda, R. Tokue and T. Kobayashi, Aconvinient direct synthesis of ureas From carbon dioxide and amines, *Synthesis*, 1978, 394.

[172] R. A. Batey, V.Santhakumar, C.Y.oshyna-Ishii and S. D.Taylor; An efficient new protocol for the formation of unsymmetrical tri- and tetrasubstituted ureas., *Tetrahedron Lett.*, 1998, 39, (6267-6270).

[173] A. R. Katryzky, D. P. M. Pleyne and B. Yang; A general synthesis of unsymmetrical tetrasubstituted ureas., *J.Org. Chem.*, 1997, 62, (4155-4158).

[174] B.Thavonekham; A partical synthesis of ureas from phenyl carbonates , *Synthesis*; 1997, (1189-1194).

[175] A.F.Hegarty and L.J.Drennan; In comprehensive Organic Functional Group Transformations; Eds. Pergamon; Cambridge, UK, 1995, Vol 6, p 499.

ANNEXE

ANNEXES DES TABLEAUX

Diurèse

Tableau 1 : variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec différents produits à 50 mg/kg par voie orale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| A1 | 14.27 ± 0.05 *** | 30.33 ± 0.10 *** | 37.21 ± 6.80 * | 41.95 ± 3.90 *** |
| A2 | 9.18 ± 8.19 ns | 26.55 ± 8.73 * | 48.05 ± 3.10 *** | 61.10 ± 4.88 *** |
| U1 | 17.70 ± 3.45 ** | 30.87 ± 0.50 *** | 37.93 ± 3.84 *** | 43.05 ± 3.88 *** |
| U2 | 14.52 ± 0.83 *** | 32.83 ± 3.71 *** | 38.61 ± 4.48 *** | 46.89 ± 3.54 *** |

Tableau 2 variation de la diurèse exprimée en ml/kg en fonction du temps après traitement des animaux avec différents produits à 50 mg/kg par voie intrapéritonéale.

| | 1 ^{ère} heure | 2 ^{ème} heure | 3 ^{ème} heure | 4 ^{ème} heure |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| A1 | 16.09 ± 1.33 *** | 23.44 ± 2.35 *** | 24.39 ± 1.01 ** | 26.71 ± 0.26 *** |
| A2 | 8.18 ± 3.46 * | 16.00 ± 5.84 ns | 21.12 ± 2.36 * | 26.09 ± 0.7 *** |
| U1 | 12.18 ± 3.42 ** | 21.85 ± 0.87 *** | 24.64 ± 1.06 *** | 26.11 ± 1.74 *** |
| U2 | 8.02 ± 3.27 * | 17.07 ± 1.94 *** | 24.12 ± 0.33 *** | 26.33 ± 3.45 *** |

Acide urique

Tableau 3 : quantité de l'acide urique (mg/l) éliminé en 4 heures par kg de rat à 50 mg/kg après traitements par les différents produits par voie orale et intrapéritonéale.

| | Voie orale | Voie intrapéritonéale |
|-----------|------------------|-----------------------|
| A1 | 48.99 ± 1.01 *** | 77.32 ± 7.85 * |
| A2 | 24.99 ± 4.10 *** | 29.65 ± 2.20 *** |
| U1 | 25.11 ± 0.67 * | 86.84 ± 1.99 *** |
| U2 | 91.40 ± 0.63 *** | 37.81 ± 10.08 * |

Natriurèse

Tableau4: quantité des ions Na^+ (mmol/l) éliminé en 4 heures par kg de rat à 50 mg/kg après traitements par les différents produits par voix orale et intrapéritonéale.

| | Voie orale | Voie intrapéritonéale |
|----|---------------------------------|---------------------------------|
| A1 | 82.50 ± 7.92 *** | 77.90 ± 5.65 ^{ns} |
| A2 | 88.75 ± 5.44 *** | 60.30 ± 0.99 *** |
| U1 | 64.10 ± 18.24 ^{ns} | 49.90 ± 28.14 ^{ns} |
| U2 | 88.00 ± 0.57 *** | 83.85 ± 10.25 ** |

Kaliurèse

Tableau5: quantité des ions K^+ (mmol/l) éliminé en 4 heures par kg de rat à 50 mg/kg après traitements par les différents produits par voix orale et intrapéritonéale.

| | Voie orale | Voie intrapéritonéale |
|----|---------------------------------|---------------------------------|
| A1 | 49.35 ± 1.48 *** | 65.40 ± 6.93 ^{ns} |
| A2 | 47.80 ± 12.72 ^{ns} | 63.05 ± 17.46 ^{ns} |
| U1 | 80.45 ± 14.35 *** | 51.15 ± 14.91 ^{ns} |
| U2 | 60.40 ± 7.21 ** | 57.10 ± 1.98 *** |

Résumé :

L'objet de ce rapport porte sur l'évaluation pharmacologique d'analogues ouverts de dihydrobenzopyrane substitués par des fonctions amide et urée, dotés de propriétés vasodilatrices, sur la diurèse chez les rats. Les molécules les plus actives (U1 et surtout U2) ont montré un effet diurétique intéressant par voie orale mais qui diminue dramatiquement par voie intrapéritonéale, et qui reste moins important que celui du composé de référence l'hydrochlorothiazide, un diurétique et un antihypertenseur connu.

Mots clés : dihydrobenzopyrane, analogues ouverts, diurèse, natriurèse, kaliurèse, uraturie.

Summary:

The aim of this report is the pharmacological evaluation of opened analogues of dihydrobenzopyrans bearing amide and urea functions, having vasodilating properties, on diuresis of rats. The most active molecules (U1 and especially U2) showed an interesting oral diuretic effect but which decreased dramatically intraperitonally, and were still less actives than the reference compound hydrochlorothiazide, a known diuretic and antihypertensive.

Key words: dihydrobenzopyran, opened analogue, amide, urea, diuresis, natriuresis, kaliuresis, uratury.

المخلص

محتوى هذه المذكرة يدور حول تقييم التأثير الفرماكولوجي لمماتلات لا حلقية لثنائي هيدروبنزوبيران الحامل للمجموعتين الوظيفيتين أميد و يوريا، ذات الخاصية المرخية للأوعية الدموية، على إدرار البول عند الجرذان. الجزيئات الأكثر نشاطا (U1 وخاصة U2) أظهرت تأثيرا مدرا للبول مثيرا للاهتمام عن طريق الفم لكنه يتناقص كثيرا لما تحقن داخل الصفاق، مع كونها أقل فاعلية مقارنة مع المركب المرجعي، الهيدروكلوروثيازيد، و هو دواء معروف مدر للبول و مضاد لارتفاع الضغط.

الكلمات المفتاحية: ثنائي هيدروبنزوبيران، مماتل لا حلقية، أميد، يوريا، إدرار البول، إدرار الصوديوم، إدرار البوتاسيوم، إدرار حمض البول.