

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Seddik Ben Yahia Jijel



Faculté de sciences exactes et informatique
Département de chimie

Mémoire de fin d'études

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

Option : Chimie Pharmaceutique

Thème

**Les ouvreurs des canaux potassiques et activité
antioxydante**

Présenté par :

Boufenghour Fadila

Et

Kamah Assma

Soutenu le : 03/11/2020

Devant le jury :

Dr. Harrouche Kamel

MCA

Université de Jijel

Président

Bouhedja Mourad

MAA

Université de Jijel

Encadreur

Dr. Bouider Nafila

MCB

Université de Jijel

Examinatrice

Année Universitaire : 2019/2020

Dédicace



Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude.

À dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

*À qui j'avais comme bougie qui brûle pour éclairer mon chemin vers les bénédictions du proverbe et oui l'exemple à **mon père. puis mon père. puis mon père.....** Dieu le sauve.*

*À ceux qui ont acheté mon confort et mon bonheur avec sa fatigue à **ma mère, puis ma mère, puis ma mère** Que Dieu la protège, prenne soin d'elle et prolonge sa vie.*

*Ma grand-mère mon amour « **maní Hamouda** »*

*À mes sœurs « **salíha , Mona , hano, ilhem, síla**»*

*« **sabah, soka, cháfíaa, aicha, et leur famille** »*

*À mes frères « **salím, ramzi, messoud** »*

*À moi et ma très chère amis, binôme, ... **Assma.***

*À toute mes proches « **bicho, Joujou, hílona, mirí, hanane, nadía, roma, felora.....** »*

À toute ma famille.

À toute mes amis.

Fadila

Dédicace



Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude.

À mon dieu, le tout puissant qui m'a aidé à réaliser ce travail.

À mon cher père pour son affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et durant mes études.

À ma chère mère pour son soutien infatigable, sa patience admirable.

À mes sœurs

À mes frères

À moi et ma très chère amis, binôme, ... Fadila.

À toute mes proches.

À toute ma famille.

À toute mes amis.

Assma

Remerciements



*Avant tout, on remercie **Allah** le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenant en premier lieu à exprimer nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Monsieur Bouhedja Mourad**, pour son aide, sa patience et le soutien moral qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à **Monsieur Harrouche K**, **Docteur** à l'Université Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à **Mme Bouïder N**, **Docteur** à l'Université Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Un grand remerciement à tous nos enseignants de Département de chimie et particulièrement nos enseignants de spécialité, Chimie Pharmaceutique.

Nous tenons également à remercier tous les étudiants de notre promotion (2019-2020).

Sans oublier de remercier tous nos professeurs et toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Pour finir nos derniers mots de remerciements vont à nos familles et nos amis.

Sommaire

Dédicace.....	i
Remerciement.....	iii
Table des matières.....	iv
Abréviations.....	vi
Liste des figures.....	vii
INTRODUCTION.....	i
	01

CHAPITRE I : HYPERTENSION ARTERIELLE ET CANAUX IONIQUE

I.1.Généralité.....	04
I.2. Différents traitements et perspectives.....	05
I.2.1. Médicaments à impact adrénergique.....	07
I.2.1.1. Sympatholytiques centraux.....	07
I.2.1.2. Les α -Bloquants.....	08
I.2.1.3. Les β -Bloquants.....	08
I.2.2. Médicaments interférant avec le système rénine-angiotensine.....	09
I.2.2.1. Les Inhibiteurs de la rénine.....	10
I.2.2.2. Les Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	11
I.2.2.3. Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II.....	12
I.2.3. Les Diurétiques.....	12
I.2.3.1. Rappel de la physiologie rénale.....	13
I.2.3.2. Mode d'action.....	14
I.2.4. Médicaments interférant avec les canaux ioniques.....	15

I.2.4.1. Les antagonistes du calcium ou inhibiteurs calciques.....	16
I.2.4.2. Les activateurs des canaux potassiques KATP.....	17
I.2.5. Les benzopyranes.....	19
I.2.6. Pharmacomodulations effectuées autour du cromakalim.....	19

CHAPITRE II : ACTIVITE ANTIOXYDANTS

II.1. Généralités.....	22
II.2. stress oxydatif.....	23
II.2.1. Définition.....	23
II.2.2. Origine du stress oxydatif.....	23
II.3. Les radicaux libre.....	23
II.3.1. Définition.....	23
II.3.2. Différents types des radicaux libres.....	24
II.3.3. Production des radicaux libres	25
II.3.3.1. Méthodes physiques.....	25
II.3.3.2. Méthodes chimiques.....	25
II.3.3.3. Méthodes électrochimiques.....	25
II.3.4. Natures des radicaux libres.....	26
II.3.4.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	26
✚ Les espèces oxygénées réactives radicalaires.....	26
a. Radical Superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	26
b. Peroxyde d'hydrogène H_2O_2	27
c. Le radical hydroxyle OH^{\bullet}	27
d. Les radicaux alkyles R^{\bullet} et peroxydes ROO^{\bullet}	28

II. 3.4.2. Les espèces réactives azotées (ERN)	28
✚ Les espèces oxygénées non radicalaires.....	28
a. Oxygène singulet : $^1\text{O}_2$	28
b. Le peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2^\bullet$	29
c. D'autres espèces réactives de l'oxygène.....	29
• L'acide hypochloreux HOCl	30
• Le peroxydinitrite ONOO^-	30
II.3.4. 3. Radicaux libres secondaires.....	30
II.3.5. Les sources de radicaux libres.....	31
II.3.6. La production de radicaux libres.....	31
II.3.6.1. La production intracellulaire	31
II.3.6.2. La production extracellulaire	32
II.4. Les Antioxydants.....	32
II.4.1. Définition.....	32
II.4.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....	32
II.4.2.1. Les systèmes antioxydant enzymatiques (endogène)	32
➤ Superoxydes dismutases (SOD)	33
➤ Glutathions peroxydases (GPxs)	33
➤ Catalases.....	34
II.4.2.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques.....	35
II.4.2.2.1. Systèmes antioxydants endogènes.....	36
• le glutathion.....	36
• Le coenzyme Q.....	36

• l'acide lipoïque.....	36
• L'acide urique.....	37
II.4.2.2.2. Système antioxydant exogène.....	37
✚ Les antioxydants naturels.....	37
A. Les vitamines.....	37
➤ Vitamine E (α -tocophérol)	37
➤ vitamine C (acide ascorbique)	38
➤ Vitamine A (Caroténoïdes)	38
➤ Les composés phénoliques.....	39
➤ Les Oligoéléments.....	40
✚ Les antioxydants de synthèses.....	41
II.5. Méthode d'évaluation de l'activité Antioxydant.....	42
II.5.1. Test DPPH.....	42
II.5.2. Test ABTS.....	43
II.5.3. Test FRAP.....	44
II.5.4. Test ORAC.....	45
II.5.5. Test TRAP.....	45
II.5.6. Méthode par résonance paramagnétique électronique (RPE)	46
CONCLUSION	47
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	48
RESUME	

Liste des abréviations

ARA-II	Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
AT II	Angiotensine II
BHT	Butylated hydroxytoluene
C_{av}	Canaux calciques dépendant du potentiel
DPPH	2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EOR	Espèce Réactive de l'oxygène
ERN	Espèce Réactive de l'azote
FRAP	Ferric Reducing Ability of Plasma
GPx	Glutathion peroxydase
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HCN	Canaux à cations
HO•	Aadical hydroxyle
HOCl	Acide hypochloreux
HTA	L'hypertension artérielle
H_v	Canaux à protons
IEC	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
IMC	Un indice de masse corporelle
K_{ATP}	Canal potassique sensible à l'ATP
KCOs	Ouvreurs potassique (K ⁺ channel Openers)
K_v	Canaux potassiques dépendant du potentiel
LDL	Lipoprotéine de base densité
MPO	Myéloperoxydase
NaV	Les canaux sodium.
O₂^{•-}	Anion superoxide
O₂•	Anion superoxyde
ONOO⁻	Anion peroxydrite
ONOO•	peroxydrite
ONOOH	Nitroperoxyde
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PA	Pression artérielle.
PAD	La pression artérielle diastolique

PAM	La pression artérielle moyenne
PAS	Pression artérielle systolique
R•	Radical libre oxydant
RO•	Radical oxyl.
ROO•	Radical peroxy.
ROS	Reactive oxygene species
RPE	Résonance paramagnétique électronique
SD	Standard deviation
SOD	Superoxyde dismutase.
TRAP	Telomeric Repeat Amplification Protocol
Trolox	Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

Liste des figures

N°	Titres	Page
Figure 01	Structures chimiques de quelques activateurs potassiques et de quelques antioxydants.	01
Figure 02	Mécanismes augmentant la pression artérielle.....	07
Figure 03	Structure chimique c'est dérivé imidazolin.....	08
Figure 04	Structure chimique de la prazosine.....	08
Figure 05	Structure chimique de sotalol.....	09
Figure 06	Système rénine-angiotensine-aldostérone et cibles thérapeutiques	10
Figure 07	Structure chimique du pepstatine.....	11
Figure 08	Structure chimique de captopril (LOPRIL)	11
Figure 09	Structure chimique de losartan.....	12
Figure 10	Représentation schématique du néphron et les sites d'action tubulaire des diurétiques.	13
Figure 11	Structures chimiques et lieu d'action des diurétiques.....	14
Figure 12	Structure d'un canal ionique.....	15
Figure 13	Les différents états d'un canal ionique.....	15
Figure 14	Les deux groupes des médicaments vasodilatateurs qui agissent sur les canaux ioniques.....	16
Figure 15	Structure chimique de la vérapamil.....	17
Figure 16	Structure octamérique des K_{ATP}	17
Figure 17	Effet des activateurs de canaux K_{ATP} sur les fibres musculaires lisses.....	18
Figure 18	principales familles d'activateurs des canaux K_{ATP}	18
Figure 19	Structure moléculaire du cromakalim	19
Figure 20	Pharmacomodulations effectuées sur le Cromakalim.....	20
Figure 21	Pharmacomodulations effectuées sur les analogues hybrides de Cromakalim.....	21
Figure 22	Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants.....	22

Figure 23	Réactions de base intervenant lors de la synthèse et de la dégradation des EOR et des EAR.....	24
Figure 24	Espèces réactives de l'azote dérivées de NO [•]	30
Figure 25	Radicaux primaires.	30
Figure 26	Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.....	34
Figure 27	Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires.....	34
Figure 28	Réactions de détoxification du radical anion superoxide et du peroxyde d'hydrogène.....	35
Figure 29	Glutathion (GSH)	36
Figure 30	Structure de l'acide urique.....	37
Figure 31	Structure de la vitamine E.....	38
Figure 32	Acide ascorbique.....	38
Figure 33	Deux exemples des structures des caroténoïdes.....	39
Figure 34	Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane.....	40
Figure 35	Différentes espèces oxygénées réactivées et des antioxydants régulateur.....	40
Figure 36	Structures chimiques du Trolox, BHT, BHA I et II.....	41
Figure 37	Modification du DPPH [•] lors du transfert électronique.....	43
Figure 38	Structure du radical-cation ABTS ⁺	44
Figure 39	Mécanisme réactionnel intervenant entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).....	44
Figure 40	Structure chimique de la fluorescéine.....	45

Liste des tableaux

N°	Titres	Page
Tableau 01	Classification de l'hypertension artérielle en fonction des chiffres tensionnels.....	05
Tableau 02	Différents types des espèces réactives.....	25

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

Les canaux potassiques (K^+) participent à de nombreuses fonctions biologiques et sont notamment responsables du maintien du potentiel transmembranaire et de la transmission du potentiel d'action. Ils se présentent sous la forme de protéines transmembranaires qui permettent le passage sélectif des ions K^+ à travers la bicouche lipidique, laquelle est strictement imperméable aux atomes ou molécules chargées

L'ion potassium (K^+), trouvé dans les fluides extracellulaires et intracellulaires, joue un rôle important dans l'équilibre hydrique des tissus. C'est un stimulant cardio-musculaire et une carence en potassium peut provoquer de la soif, des troubles du rythme cardiaque, des convulsions, une fatigue extrême, des rhumatismes, de l'arthrite chronique, des maladies pulmonaires et des effets de transit. La qualité moyenne de K^+ chez un adulte est inférieure à 1 gramme par jour [1].

Les maladies cardiovasculaires sont ces derniers temps l'une des maladies chroniques les plus courantes dans tous les pays du monde, y compris l'Algérie. Bien que les médicaments soient disponibles en différentes quantités et largement disponibles, la plupart des décès dans le monde sont causés par maladies cardiovasculaires.

L'hypertension artérielle est la maladie la plus fréquente, en Algérie et dans le monde. Selon un rapport de l'OMS, publié en 2011, dans le monde, près de 8 millions de décès, par an; soit 13 % des décès annuels, sont liés aux complications de l'hypertension artérielle. En Algérie, 35 % des adultes, environ, sont atteints. La prévalence de l'HTA dans le sud algérien est plus importante que dans le Nord, a révélé une étude réalisée en 2008 par la société algérienne de l'hypertension artérielle (SAHA) [2].

De nombreux médicaments antihypertenseurs sont utilisés dans le traitement de l'hypertension. La relaxation des muscles lisses vasculaires est l'une des stratégies utilisées pour le traitement de l'hypertension artérielle. Les activateurs des canaux potassiques (KCOs) ont ainsi été proposés comme agents antihypertenseurs, car l'ouverture de ces canaux aboutit à la relaxation des vaisseaux sanguins (artères et artérioles) et par conséquent provoque une baisse de la tension artérielle. Comme exemple, on cite le cromakalim, le diazoxide (Fig. 1). [3,4].

En plus de leur fonction vasodilatatrice, les bezopyranes comme les flavonoïdes (Fig. 1) et les benzothiadiazine portant une fonction sulfonylthiourée ont fait l'objet de plusieurs études concernant l'activité antioxydante [5,6]. Il a été démontré que la combinaison du cycle benzothiadiazine avec des fragments sulfonylthiourée a conduit à des dérivés hybrides du diazoxide (analogues fermés), ouvreurs du canal K_{ATP} et vasodilatateurs. Ces composés ont été testés pour un éventuel pouvoir antioxydant sur six tests analytiques, les résultats obtenus ont démontré une forte activité antioxydante [4]. Des études plus récentes sur des analogues ouverts du cromakalime et du diazoxide (Fig. 1) ont montrées une forte activité antioxydante dans les essais DPPH, FRAP et ABTS [7].

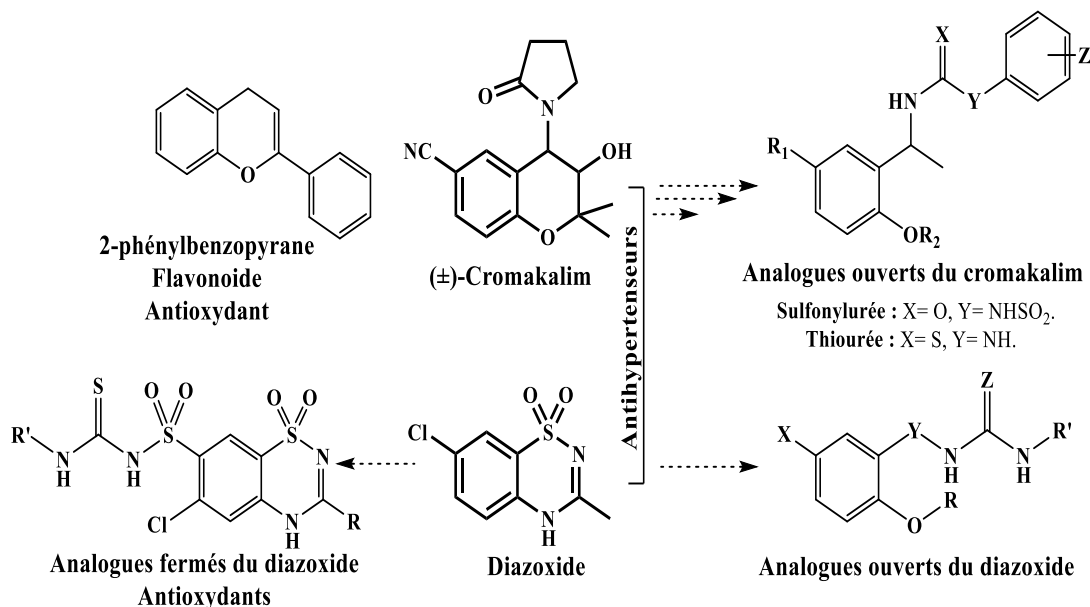


Figure 1 : Structures chimiques de quelques activateurs potassiques et de quelques antioxydants. [3,4].

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé la compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants [8].

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydante-antioxydante c'est-à-dire lorsque la production des radicaux libres dépasse les capacités de défense des tissus, ce qui peut

engendrer de nombreux dommages sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant ainsi de nombreuses cibles : protéines, lipides, et acides nucléiques, concernant les lipides il peut y avoir même des peroxydations touchant les membranes ou les lipoprotéines qui transportent les lipides dans le sang [9].

Ce présent travail comprend une étude bibliographique en deux chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à la présentation de la pression artérielle et de certains traitements médicamenteux. On s'est intéressé aux médicaments interférant avec les canaux ioniques, plus précisément les activateurs des canaux potassiques (K_{ATP}).
- ✓ Le deuxième chapitre a porté sur la description des différentes notions de base de l'activité antioxydante, des radicaux libres, du stress oxydatif et des différents tests d'évaluation de l'activité antioxydante.

CHAPITRE **I**

HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET CANAUX IONIQUES

I. Hypertension Artérielle

I.1. Généralité

L'hypertension artérielle est l'un des facteurs de risque majeurs des maladies cardiovasculaires [10].

L'HTA a un rôle dans le développement de complications à moyen ou long terme: maladie coronarienne, insuffisance cardiaque, arythmies par fibrillation auriculaire, accident vasculaire cérébral et hémorragie cérébrale. Les artères déformées des membres inférieurs dilatent les vaisseaux sanguins de l'aorte abdominale, maladie rénale chronique. Le rôle causal de l'hypertension dans la relation entre la dose et la réponse est observé entre le niveau de PA, d'une part, et la survenue et, l'évolutivité de ces maladies, d'autre part [11].

La pression artérielle (PA) se définit comme le produit du débit cardiaque (D) par les résistances périphériques (RP):

$$PA = D \times RP$$

Par conséquent, son élévation peut résulter :

- D'une augmentation de D, elle-même consécutive à une augmentation de la fréquence cardiaque ou à une augmentation du volume sanguin.
- D'une augmentation des RP, consécutive à un phénomène de vasoconstriction [12].

La pression artérielle systolique (PAS) correspondant à la pression dans l'aorte et les larges branches artérielles lors de l'augmentation du volume sanguin maximal éjecté par le ventricule gauche et celle de la pression artérielle diastolique (PAD) après éjection du sang pendant la phase de repos du cœur ou diastole. La différence entre la pression artérielle systolique et diastolique permet de déterminer la pression artérielle différentielle, pression à l'origine de la dilatation de l'aorte.

La pression artérielle moyenne (PAM) est la moyenne de la pression artérielle au cours du cycle cardiaque.

Elle est plus proche de la PAD que de PAS. La PAM est déterminée par la formule suivante [13] :

$$\text{PAM} = \text{PAD} + \frac{1}{3}(\text{PAS} - \text{PAD})$$

Tableau 1 : Classification de l'hypertension artérielle en fonction des chiffres tensionnels [12].

PAS (mmHg)		PAD (mmHg)	Tension
<120	et	<80	Optimal
<130	et	<85	Normale
130 -139	et	85-89	Normale «haute»
140-159	Ou	90-99	Hypertension stade 1
160-179	ou	100-109	Hypertension stade 2
≥180	ou	≥110	Hypertension stade 3

PAS : pression artérielle systolique,

PAD : pression artérielle diastolique.

I.2. Différents traitements et perspectives

Le traitement de l'hypertension artérielle est de deux types :

- **Le traitement non pharmacologique**

Repose sur des mesures hygiéno-diététiques recommandées chez des patients hypertendus quel que soit le niveau tensionnel, avec ou sans traitement pharmacologique associé. Ces mesures comprennent :

1. La limitation de la consommation de sel (Chlorure de sodium, Na Cl),
2. Une réduction du poids en cas de surcharge pondérale, de façon à maintenir un indice de masse corporelle (IMC) en dessous de 25 (kg/m²). La pratique d'une activité physique régulière adaptée à l'état clinique du patient d'au moins 30 min environ, 3 fois par semaine,
3. L'arrêt du tabac, associé si besoin à un accompagnement du sevrage tabagique,

4. Un régime alimentaire riche en légumes, en fruits et pauvre en graisses saturées (graisses d'origine animale) [14].

- **Le traitement pharmacologique**

Comprend différents antihypertenseurs tels que :

1. Les diurétiques,
2. Les β -bloquants,
3. Les α -bloquants,
4. Les antagonistes calciques,
5. Les activateurs potassiques (KCOs),
6. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II,
7. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II.

Les cinq classes d'antihypertenseurs majeurs (diurétiques thiazidiques, β -bloquants, inhibiteurs calciques, inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA-II)) peuvent être prescrites en première intention dans la prise en charge du patient hypertendu essentiel non compliqué.

Les α -bloquants et les antihypertenseurs centraux peuvent aider à atteindre l'objectif tensionnel en cas d'effets indésirables ou si une trithérapie s'avère nécessaire.

Toutes les familles d'antihypertenseurs ont des avantages et des désavantages spécifiques pour tel ou tel patient; il est du rôle du médecin de les choisir, les combiner, en déterminer la dose en fonction des caractéristiques de chaque personne [15].

Les différents types d'antihypertenseurs diminuent la pression artérielle via divers mécanismes, ce qui permet d'envisager de nombreuses stratégies thérapeutiques différentes (Fig. 2) [16].

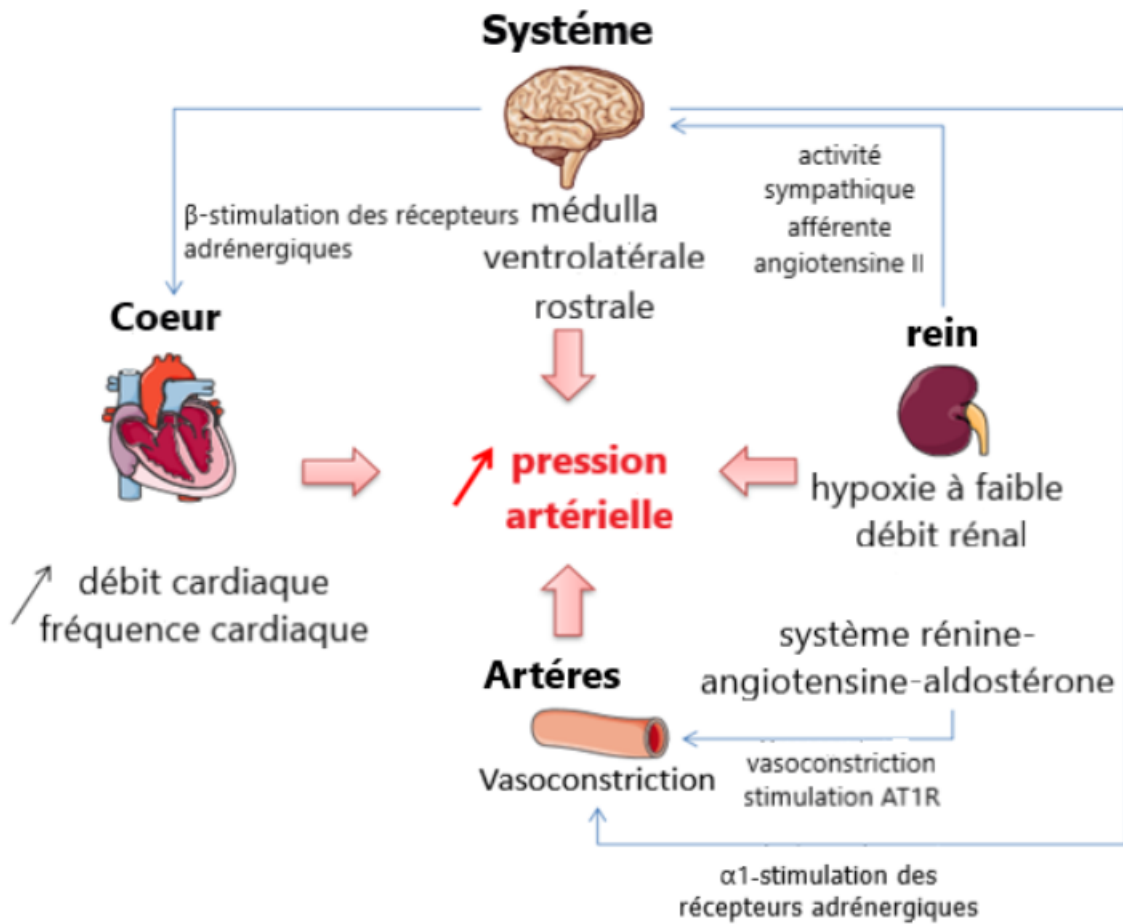
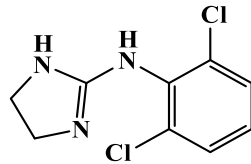


Figure 2 : Mécanismes augmentant la pression artérielle [16].

I.2.1. Médicaments à impact adrénergique

I.2.1.1. Sympatholytiques centraux

C'est la classe qui regroupe plusieurs médicaments de mécanisme d'action identique: tous provoquent (soit par eux-mêmes soit par un métabolite) une stimulation des récepteur α_2 -adrénergiques du tronc cérébral provoquent ainsi une baisse du tonus sympathique et une réduction des catécholamines circulantes, utilisés seuls, ou mieux, en association avec un diurétique, ce sont des antihypertenseurs efficaces, mais les effets latéraux qu'ils entraînent sont nombreux, mal supportés par les patients et finalement les arrêts de traitement sont nombreux. Le chef de file est la clonidine (Fig. 3) [17].



Clonidine = CATAPRESSAN

Figure 3 : Structure chimique de la clonidine un dérivé imidazoline .

I.2.1.2. Les α -bloquants

Les α -bloquants sont une classe de médicaments qui permettent de réguler la pression au niveau des artères de l'organisme. Leur mécanisme d'action principal est de limiter l'action des récepteurs α -adrénergiques (récepteurs de l'adrénaline et la noradrénaline), d'où leur nom de α -bloquants. Ces traitements sont utilisés pour traiter l'hypertension artérielle ou l'adénome de la prostate, selon la classe à laquelle ils appartiennent (α_1 -bloquants, permettent de traiter l'hypertrophie prostatique) [17].

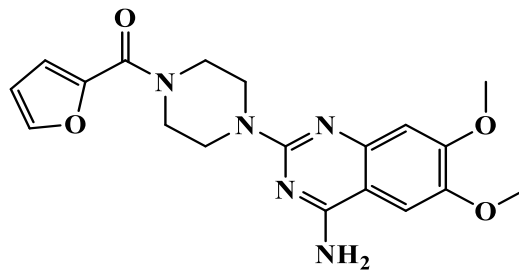


Figure 4 : Structure chimique de la prazosine.

I.2.1.3. Les β -bloquants

Ils agissent au niveau de cœur et au niveau de la médullosurrénale. Les récepteur β_1 -adrénergique sont majoritaires au niveau cardiaque tandis que les récepteurs β_2 prédominent au niveau vasculaire et bronchique. Le rythme cardiaque déjà élevé est alors entretenu par l'adrénaline, suit la liaison aux récepteur β_1 et par la noradrénaline qui, elle, se lie aux récepteur β_2 .

Les β -bloquants diminuent donc la même composant du débit cardiaque "D" dans l'équation régissant la La pression artérielle (PA). Ce blocage n'étant cependant pas toujours complet, l'existence de deux sous-types de récepteur β_1 et β_2 introduit la notion de sélectivité. Par ailleurs, l'activation des récepteur β -adrénergiques stimule la sécrétion de rénine [12].

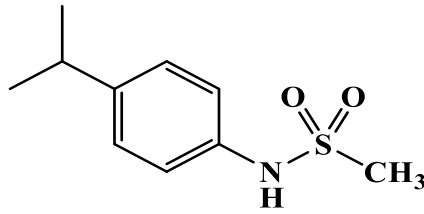


Figure 5 : Structure chimique de sotalol.

I.2.2. Médicaments interférant avec le système rénine-angiotensine

Le système rénine angiotensine aldostérone, via l'angiotensine II et l'aldostérone, constitue l'un des principaux mécanismes de régulation de la pression artérielle aussi bien à court qu'à moyen et long terme. Physiologiquement, la stimulation de ce système rénine angiotensine aldostérone est déclenchée par une baisse de la pression artérielle systémique et son activation entraîne une élévation de la pression artérielle [18].

Les reins vont libérer de la rénine qui par une cascade de réactions va donner de l'angiotensine II. Celle-ci par l'intermédiaire de différents mécanismes va permettre une augmentation de la pression artérielle en se fixant sur les récepteurs AT1 :

- Est un puissant vasoconstricteur et permet l'accroissement des résistances périphériques,
- Produit une hormone au niveau du cortex surrénalien : l'aldostérone. Celle-ci, agit au niveau rénal et entraîne une rétention de sodium donc de l'eau qui sera réabsorbé par le sang et une élimination de potassium permettant de moduler le volume sanguin,
- Favorise la libération de noradrénaline,
- Augmente la pression artérielle en entraînant une hypertrophie et une hyperplasie des cellules musculaires lisses,
- Déclenche enfin une sensation de soif ce qui accroît la consommation d'eau modulant ainsi le volume sanguin donc la pression artérielle [19].

Ce système met en jeu plusieurs protéines identifiées dans le plasma et concourant à la formation d'ATII qui va agir sur plusieurs tissus cibles [20].

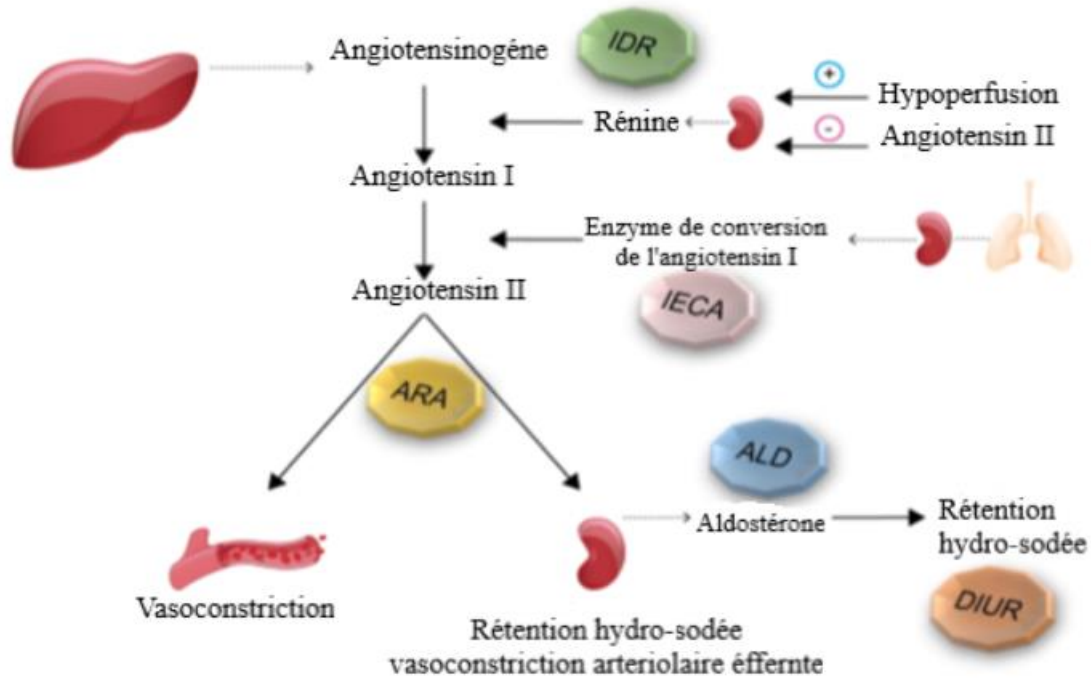


Figure 6 : Système rénine-angiotensine-aldostérone et cibles thérapeutiques [21].

Le système rénine-angiotensine circulant pourrait être responsable de la régulation rapide mais brève de la pression artérielle, alors que les systèmes rénine-angiotensine tissulaires, notamment au niveau du cœur, des vaisseaux et des reins, produiraient un effet décalé mais plus prolongé, du fait des modifications structurelles qu'ils provoquent sur les organes cibles de l'hypertension artérielle : rein, cœur, vaisseaux [22].

I.2.2.1. Les inhibiteurs de la rénine

Le rein joue un rôle déterminant dans la relation PA-natriurèse. Cette aptitude du rein à corriger l'augmentation de la natriurèse possède un gain infini ; l'apparition d'une HTA supposerait une altération de ce phénomène de régulation avec un déficit de l'excrétion sodée. Il s'y associe des modifications hémodynamiques rénales avec une perte de l'aptitude à la vasodilatation et une augmentation des résistances rénales [1].

La rénine est une enzyme glycoprotéique, une peptidase. Elle est fabriquée dans de nombreux organes mais il est admis que la rénine rénale est la plus importante. Les cellules juxta-glomérulaires (cellules myoépithéloïdes de Ruyters) présentes dans l'artériole afférente du glomérule rénal. De cette substance sont détachés successivement de vingt à quarante-six acides aminés, ce qui libère la prorénine puis la rénine définitive [22].

La pepstatine, peptide d'origine fongique, est un inhibiteur de la rénine (carboxypeptidase), qui est caractérisée par un aminoacide rare, la statine (Sta), qui porte un groupement hydroxyle (Fig. 7) [22].

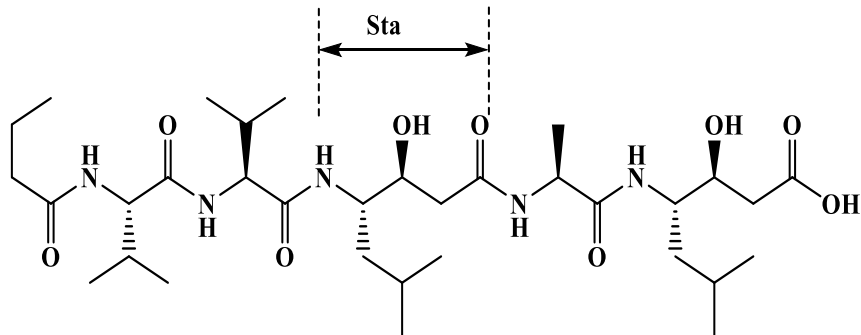


Figure7 : Structure chimique du pepstatine.

I.2.2.2. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) constituent une classe thérapeutique originale dont les propriétés résultent d'une action sur les mécanismes régulateurs neurohormonaux de l'hémodynamique. Les IEC forment un groupe thérapeutique récent, prenant une part importante dans le traitement de l'hypertension systémique ou pulmonaire, de l'insuffisance cardiaque congestive et du post infarctus avec ou sans insuffisance cardiaque [19]. Le premier inhibiteur de l'enzyme de conversion a été le captopril (Fig. 8) [23].

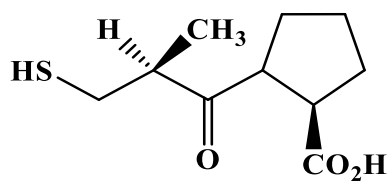


Figure 8 : Structure chimique de captopril (LOPRIL).

I.2.2.3. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II)

Il s'agit de médicaments les plus récents, ce sont des antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II qui s'opposent aux effets presseurs de cette hormone (angiotensine II) [2]. Ces médicaments ont des effets semblables à ceux des IEC. Cependant, au lieu de bloquer la production d'angiotensine II, ils inhibent de façon compétitive sa liaison aux récepteurs AT1 de l'angiotensine II. Leur utilité et leur tolérance sont similaires à celles des IEC, mais ils n'entraînent pas de toux ni d'angio-œdème [24]. L'antagoniste de référence dans cette classe est le Losartan (Fig. 9) [23].

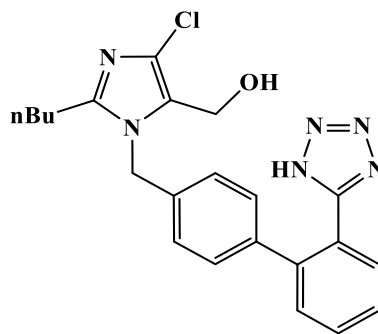


Figure 9 : Structure chimique de losartan.

I.2.3. Les diurétiques

Les diurétiques ont été les premiers médicaments utilisés pour le traitement de l'hypertension [19]. Ce sont des agents pharmacologiques qui ont pour but d'augmenter l'excrétion rénale de l'eau et du sodium. Ils ont une action hypotensive propre et une potentialisation de l'action des autres antihypertenseurs [24].

Cinq décennies se sont écoulées depuis la découverte du chlorothiazide, un des premiers diurétiques actifs par voie orale. Les traitements diurétiques augmentent l'élimination urinaire d'eau et de sodium, en agissant à différents niveaux de la surface lumineuse des cellules du tube rénal. Cet effet a pour conséquence la diminution de la volémie et de la surcharge sodique de l'organisme. Cette propriété est mise à profil dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque.

Avant d'étudier les principaux groupes de diurétiques, il convient de faire un rappel succinct de la physiologie du néphron pour préciser les mécanismes et les facteurs qui régulent les mouvements de l'eau et des ions à travers les membranes des cellules, et faciliter la compréhension des modes d'action des divers diurétiques [25].

I.2.3.1. Rappel de la physiologie rénale

Chaque rein contient plus d'un million de minuscules néphrons, qui sont les unités structurales et fonctionnelles des reins. Les néphrons assurent la formation de l'urine. Chaque néphron (Fig. 10) comprend deux structures principales : un glomérule, qui est un bouquet de capillaires, et un tube rénal. Ce dernier est constitué de trois parties, le tubule contourné proximal (partie la plus proche du glomérule), l'anse de Henlé et le tubule contourné distal qui se jette dans le tubule rénal collecteur [26].

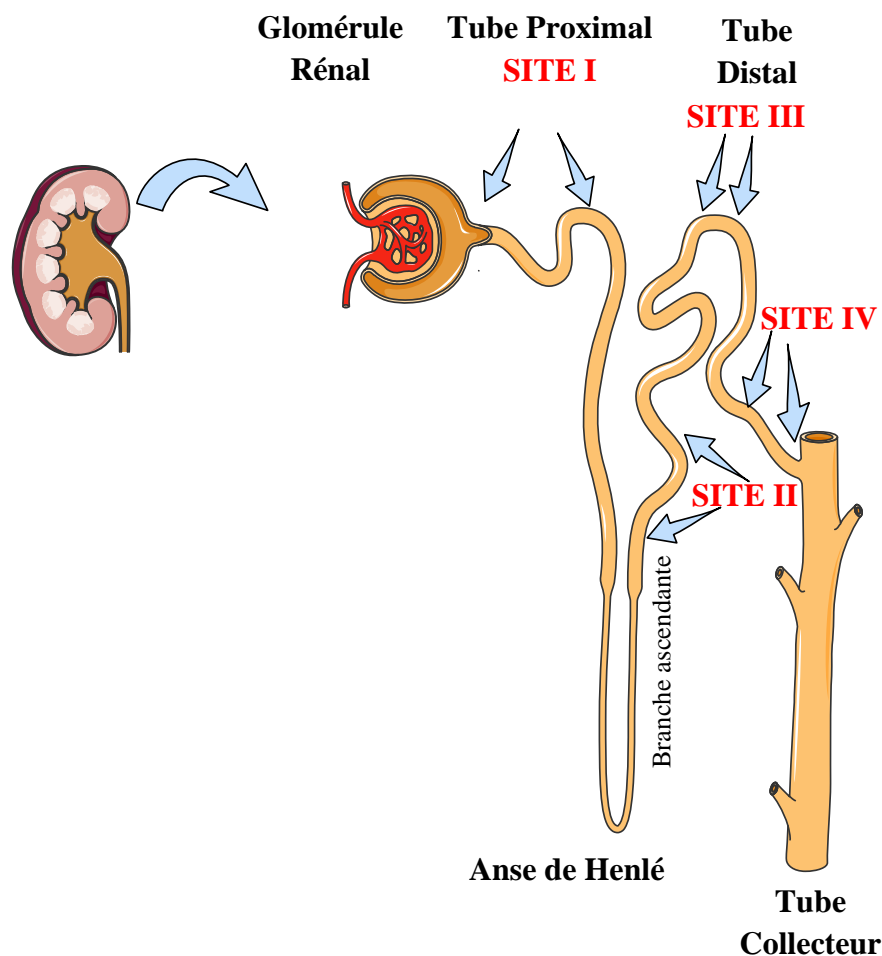


Figure 10 : Représentation schématique du néphron et les sites d'action tubulaire des diurétiques [26].

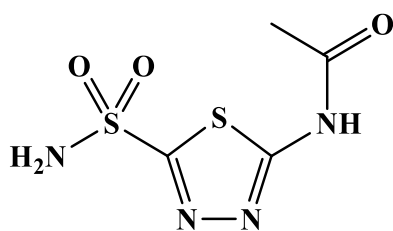
Le mécanisme rénal direct modifie le volume sanguin sans l'intervention des hormones. Ainsi, lorsque la pression artérielle augmente, la vitesse à laquelle les liquides passent de la circulation sanguine aux tubules rénaux augmente et donc le rein élimine cette grande quantité de liquide par les urines. Le volume sanguin baisse et donc la pression artérielle baisse [26].

Il se passe le phénomène inverse lorsque la pression artérielle est trop faible, les reins retiennent l'eau entraînant une hausse du volume extracellulaire donc de la pression artérielle. Il s'agit d'un équilibre modulé par le biais de la filtration rénale [19].

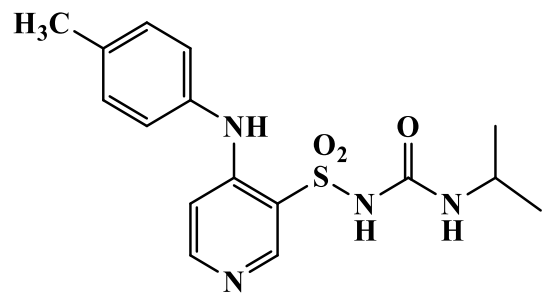
L'excrétion rénale joue un rôle fondamental dans l'organisme. Elle débarrasse le corps des produits de déchets, en particulier ceux qui résultent du métabolisme azoté (urée), elle régule la concentration moléculaire du milieu intérieur conditionnel par les variations de l'eau et des électrolytes du sang et intervient dans la régulation de l'équilibre acido-basique du milieu intérieur [27].

I.2.3.2. Mode d'action

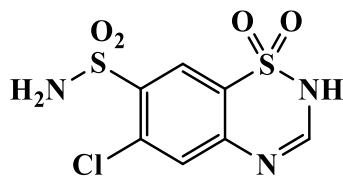
Les diurétiques diminuent la pression artérielle essentiellement en réduisant les réserves de sodium de l'organisme. Ils agissent en augmentant l'élimination du sel (sodium) dans les urines [2].



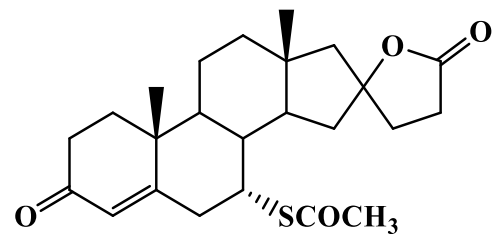
Acétazolamide
(Diurétiques inhibiteurs
de l'anhydrase carbonique, Site I)



Torasémide
(Diurétiques de l'anse, Site II)



Chlorothiazide
(Diurétiques thiazidiques, Site III)



Spironolactone
(Antikaliurétiques anti-aldostérone, Site IV)

Figure 11 : Structures chimiques et lieu d'action des diurétiques [23].

I.2.4. Médicaments interférant avec les canaux ioniques

Les canaux ioniques sont des protéines transmembranaires qui sont perméables à un seul ou plusieurs ions (Fig. 12). Ainsi, il existe cinq grandes familles de canaux ioniques dépendants du potentiel:

- Les canaux potassiques (K_v),
- Les canaux sodium (Na_v),
- Les canaux calciques (Ca_v),
- Les canaux protoniques (H_v),
- Les canaux cationiques (HCN).

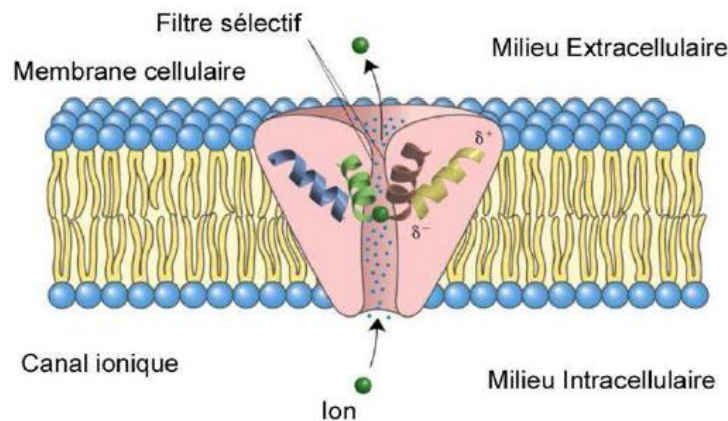


Figure 12 : Structure d'un canal ionique [28].

Ils permettent le transport sélectif ionique, en fonction de leur gradient électrochimique. L'ouverture et la fermeture du canal sont basées sur la possibilité de deux portes qui fonctionnent indépendamment et dont les activités contrôlent l'activation et la désactivation du canal. De cette manière, le canal peut exister dans trois états principaux : un état fermé, un état ouvert et un état inactif (Fig. 13) [29, 30].

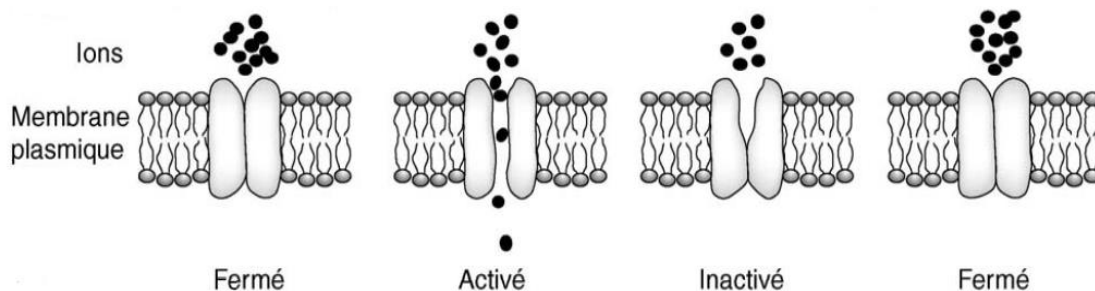


Figure 13 : États physiologiques des canaux ioniques [31].

Les médicaments actifs sur les canaux ioniques, se divisent en deux groupes (Fig. 14):

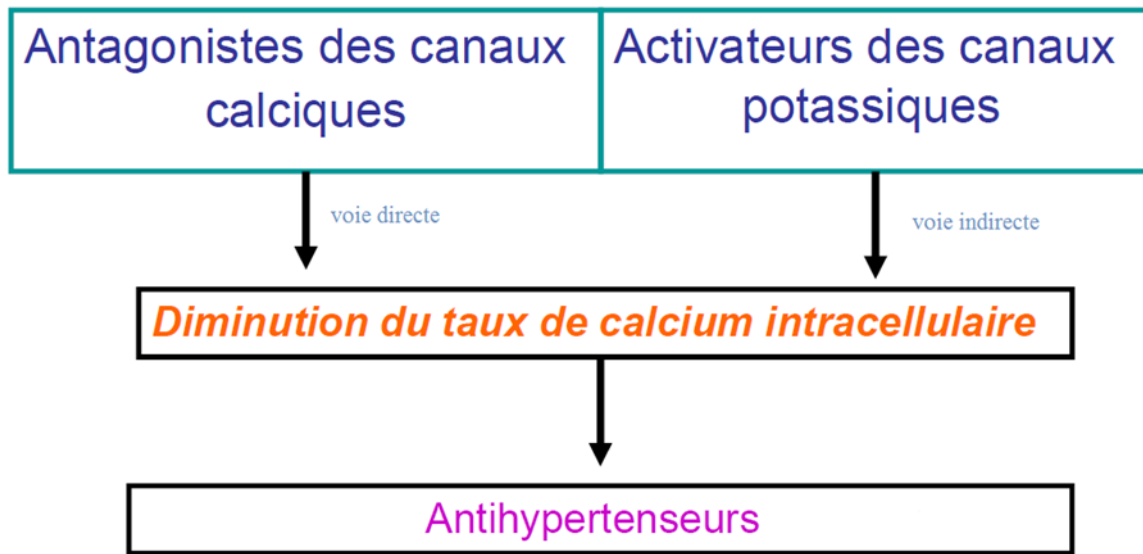


Figure 14 : Les deux groupes des médicaments vasodilatateurs qui agissent sur les canaux ioniques.

I.2.4.1. Les antagonistes du calcium ou inhibiteurs calciques

Les inhibiteurs calciques ou antagonistes du calcium sont des médicaments qui permettent d'inhiber le transfert membranaire du calcium dans les cellules musculaires cardiaques et les cellules musculaires vasculaires. Ils diminuent les résistances périphériques vasculaires et la consommation en oxygène du myocarde, et par conséquent il diminue la force contractile cardiaque. De même, au niveau des cellules musculaires lisses des artérioles, il existe une diminution de l'activité des protéines contractiles aboutissant donc à un effet vasodilatation et une chute de la PA [32].

Les inhibiteurs calciques sont particulièrement efficaces en cas d'HTA à prédominance systolique et chez le sujet âgé. On distingue les dihydropyridines, les benzothiazépines et les phénylalkylamines (vérapamil) [32].

Le vérapamil (ISOPTINE, Fig. 15) est actuellement utilisé comme vasodilatateur coronaire et agent antiarythmique. Son effet inhibiteur sur le couplage électromécanique dans de tels tissus comme le myocarde ou le myomètre, on pense qu'il est dû pour bloquer les canaux responsables du calcium afflux de cellules myocardiques et de cellules musculaires lisses vasculaires [33].

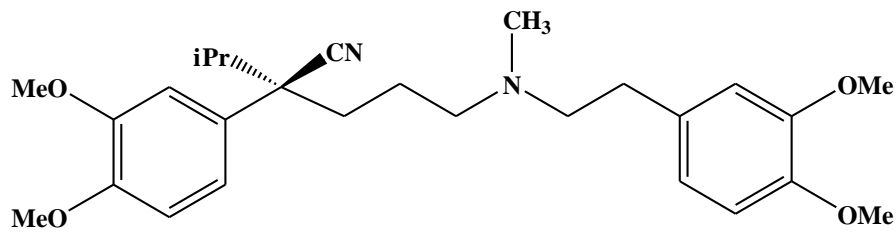


Figure 15 : Structure chimique de la vérapamil.

I.2.4.2. Les activateurs des canaux potassiques K_{ATP}

Les activateurs ou les ouvreurs de canaux K_{ATP} constituent un groupe divers d'agents à l'origine caractérisés par leur capacité d'ouvrir les canaux potassiques dans le muscle lisse [34].

Les K_{ATP} sont des complexes protéiques, ils adoptent une structure octamérique (Fig. 16).

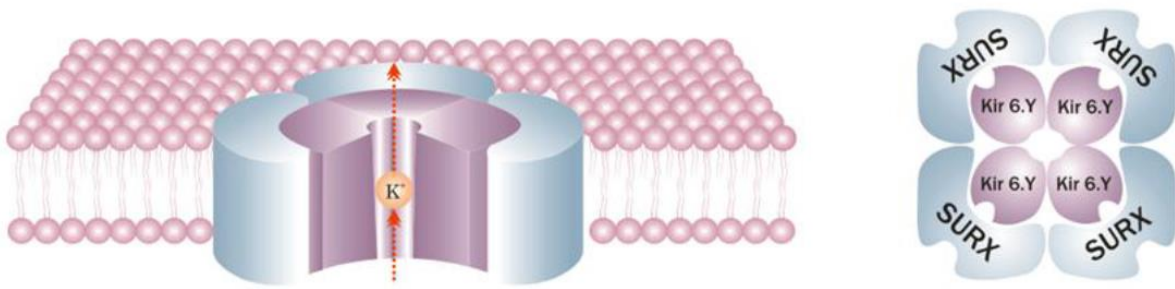


Figure 16 : Structure octamérique des K_{ATP} .

Leur action d'ouverture des canaux K_{ATP} est maintenant également connue pour être effectuée dans une variété de types de tissus, y compris les cellules pancréatiques, les neurones et le myocarde [35].

ces substances augmentent la sortie du potassium de la cellule, ce qui provoque l'hyperpolarisation de la cellule, la réduction de l'activité électrique, et la réduction de l'activité des canaux calcique voltage-dépendants. La diminution de la concentration cytosolique de Ca^{++} induit l'inhibition de l'activité des cellules sécrétoires et la relaxation des muscles [36,25].

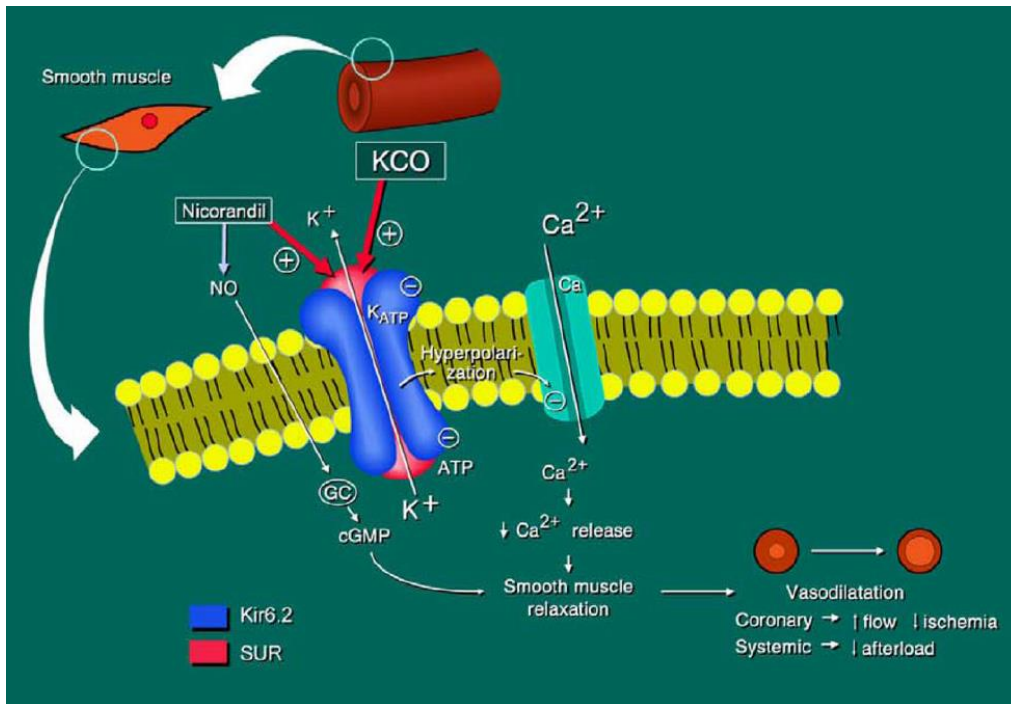


Figure 17 : Effet des activateurs de canaux K_{ATP} sur les fibres musculaires lisses [37].

Les ouvreurs des canaux potassiques à effet vasodilatateur sont le minoxidil, le nicorandil, le pinacidil, le diazoxide, le cromakalim et levcromakalim (Fig. 18). Ils diminuent les résistances périphériques vasculaires et ont comme indication thérapeutiques :

- ✓ L'hypertension artérielle,
- ✓ L'angine de poitrine,
- ✓ Le traitement du vasospasme cérébral et les artérites [38].

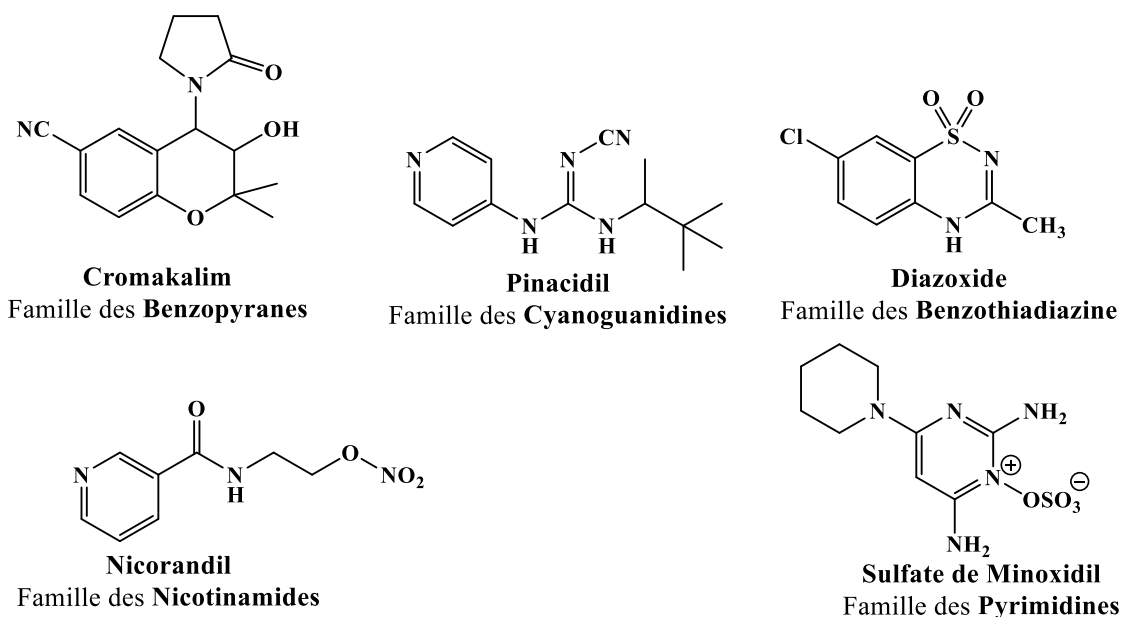


Figure 18 : Principales familles d'activateurs des canaux K_{ATP}.

I.2.5. Les benzopyranes

Cromakalim est le prototype de la famille des ouvreurs des canaux K_{ATP} . Il était le premier développé comme ouvreur spécifique et son mécanisme d'action a été rapporté en 1986 par Weston et Coll. par comparaison avec le nicrandil, le cromakalim qui est 100 fois plus actif semble agir exclusivement par activation des canaux K_{ATP} . Cette molécule dilate les vaisseaux sanguins du muscle lisse vasculaire, elle contient deux carbones chiraux avec un groupe OH (alcool) en position 3 et un groupe pyrrolidine en position 4 qui sont disposés dans une configuration trans. L'activité sur les canaux K_{ATP} réside, principalement dans l'énantiomère (-)-3*S*,4*R* (Levcromakalim approximativement 100 fois plus actif que l'énantiomère (+)) (Fig. 19) [39].

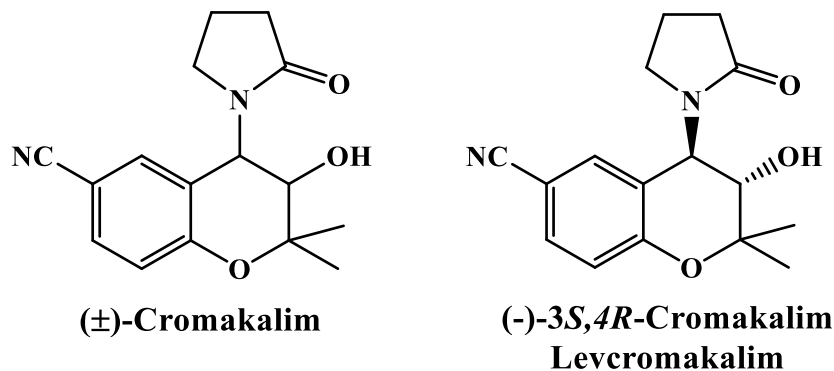


Figure 19 : Structure moléculaire du cromakalim.

En raison de problème de toxicité, en particulier au niveau rénal, le développement du cromakalim a été suspendu.

I.2.6. Pharmacomodulations effectuées autour du cromakalim

Plusieurs analogues du cromakalim ont été synthétisés, formant deux grandes séries de composés structurellement liés au cromakalim. Ces dérivés synthétisés ont été synthétisés en ajoutant une fonction hybride telle que la sulfonylurée, la thiourée et l'urée en position 4 du cycle benzopyranique (Fig. 20). Deux types de molécules ont montré un bon effet vasodilatateur sur l'aorte de rat [40, 41].

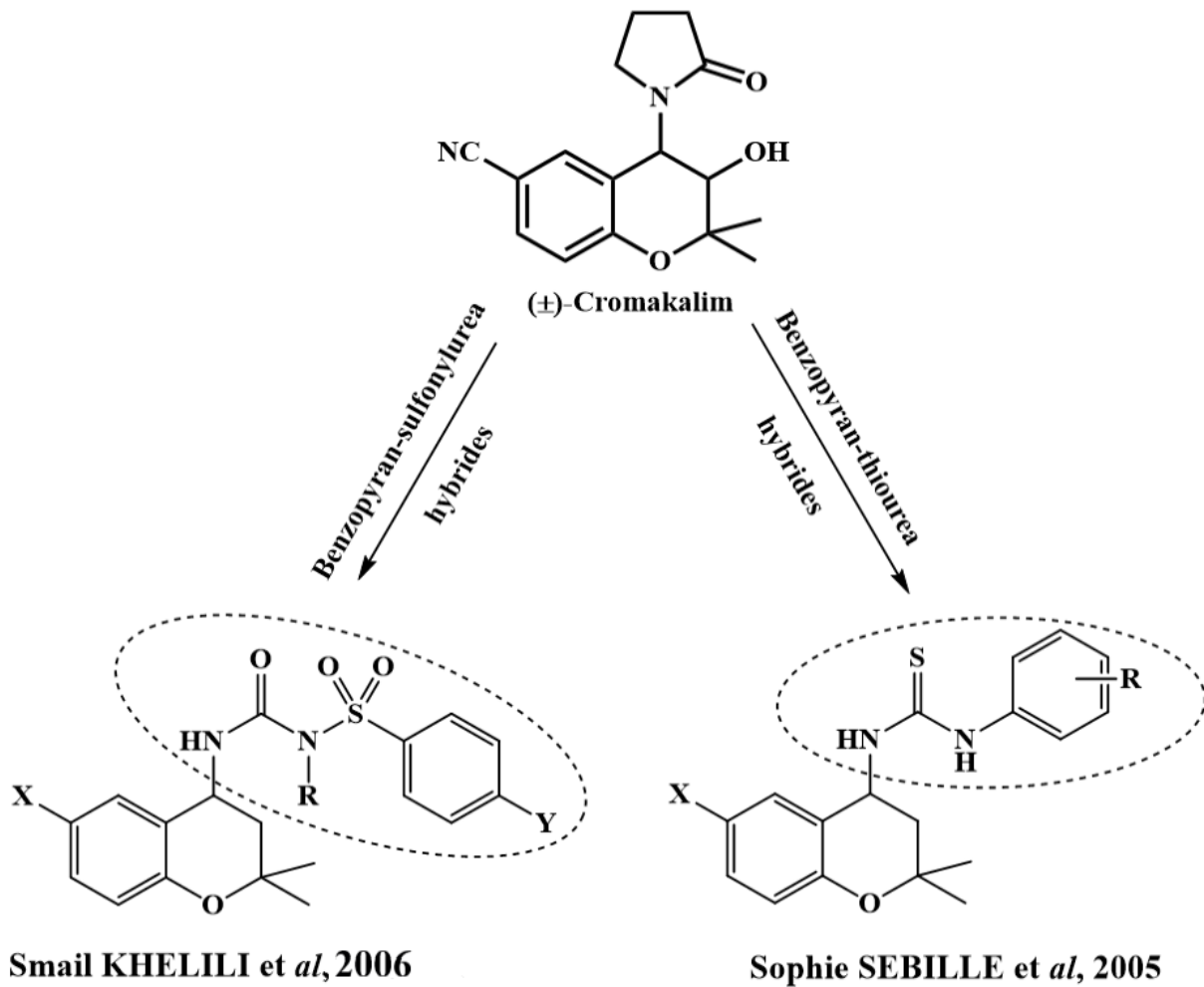
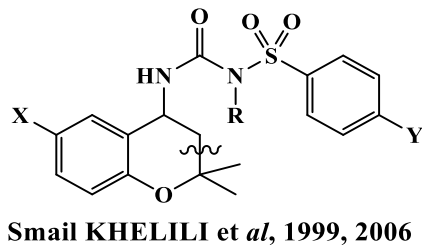
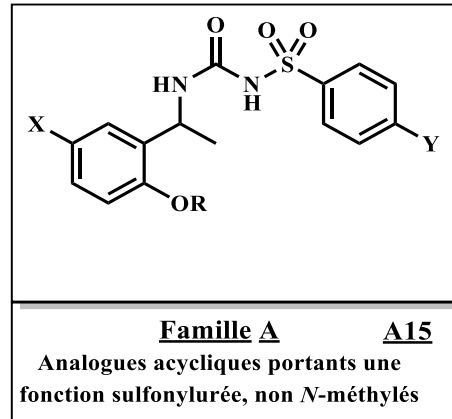


Figure 20 : Pharmacomodulations effectuées sur le Cromakalim [40, 41].

D'autres analogues acycliques ont été synthétisés (Familles **A** et **B**, Fig. 21), et évalués sur les anneaux d'aortes, présentent en effet des activités vasodilatatrices importantes [42].



Simplification
 Moléculaire



Mourad BOUHEDJA *et al*, 2018 [42]

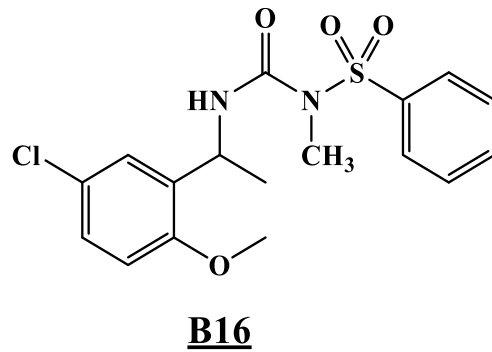
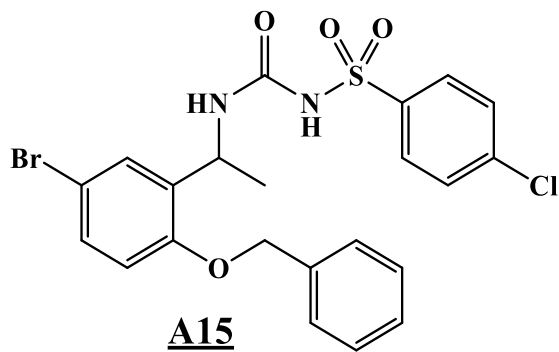
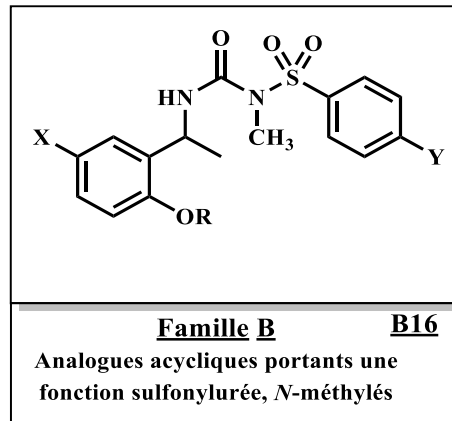


Figure 21 : Pharmacomodulations effectuées sur les analogues hybrides du cromakalim [42].

CHAPITRE **II**

ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE ET MÉTHODES D'ÉVALUATION

II. Activité Antioxydants

II.1. Généralités

Les antioxydants sont des molécules oxydables qui, en agissant comme donneurs d'hydrogène vis-à-vis d'un radical hydroperoxyde, interrompent la réaction en chaîne de formation des peroxydes. Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Les antioxydants sont pour la plupart synthétiques (hydroquinone, pyrogallol, acide gallique et gallate), et sont rajoutés aux huiles dans l'industrie alimentaire. Ils peuvent par contre être présents à l'état naturel dans les huiles végétales (vitamine E, polyphénols de l'olivier et du chêne, flavonoïdes, certaines huiles essentielles [43]).

Le stress oxydatif, survenant lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydants, est en relation avec l'apparition des maladies telles que l'alzheimer et Parkinson [8]. Des molécules prooxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres (Fig. 22). Toutefois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant [44].

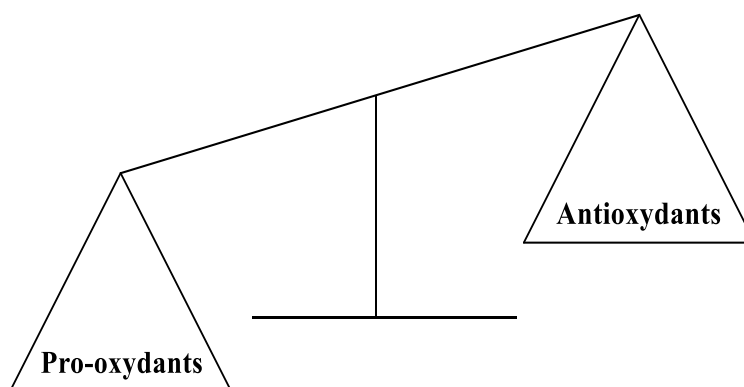


Figure 22 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants [44]

II.2. Stress oxydatif

II.2.1. Définitions

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydantes, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques). L'accumulation des espèces oxygénées réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique [43].

II.2.2. Origine du stress oxydatif

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydantes/ prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé Stress oxydatif. Il est maintenant admis que le phénomène de stress oxydant est impliqué dans l'étiologie de nombreuses maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson, Huntington), de désordres pathologiques (syndrome d'ischémie reperfusion), mais également dans les phénomènes de vieillissement [45].

II.3. Les radicaux libres

II.3.1. Définitions

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. La molécule d'oxygène (ou dioxygène, O₂) présente la particularité d'avoir la structure d'un biradical libre, en raison de ses deux électrons célibataires situés sur les deux orbitales de plus grande énergie [46].

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules très réactives possédant un électron non apparié (électrons célibataires). Ils ont une existence très brève de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-12} seconde avant d'entrer en collision avec une autre molécule et Soit vous gagnez, soit vous perdez un électron jusqu'à ce qu'il devienne stable [47,48] Réparties en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en espèces réactives de l'azote (ERN) [49]. Les lésions tissulaires causées par l'oxygène radicalaire sont souvent appelées dommages oxydatifs et les facteurs qui protègent contre les lésions par l'oxygène radicalaire sont appelés antioxydants (Fig. 23) [48].

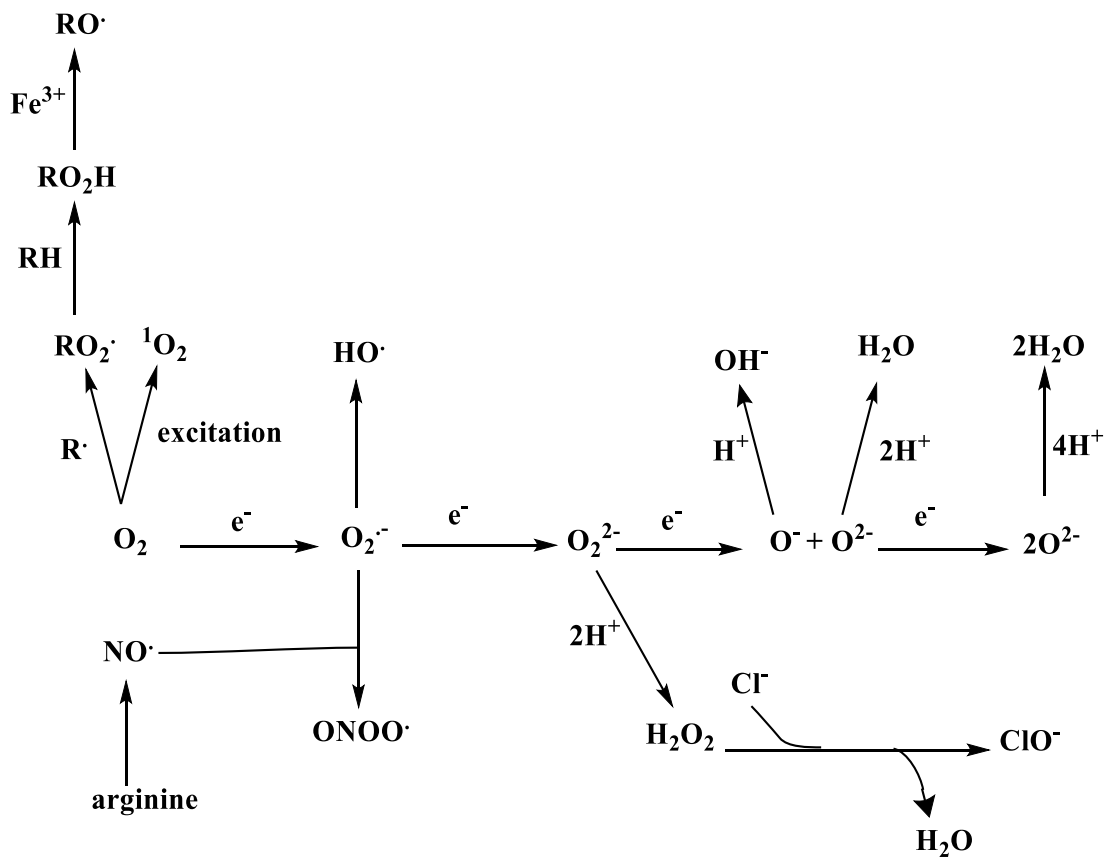


Figure 23 : Réactions de base intervenant lors de la synthèse et de la dégradation des EOR et des EAR [50].

II.3.2. Différents types des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (Tableau 2), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule et d'autre classification basé sur le type de radical en donnant deux groupes principales : des radicaux dérivé de l'oxygène (Reactive

oxygene species : ROS) ou d'autres atomes comme l'azote (Reactive nitrogen species : RNS) [51].

Tableau 2 : Différents types des espèces réactives [52].

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbol	Nom	Symbol
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}	Oxygène singulet	1O_2
Radical alkoxyde	RO^{\cdot}	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO^{\cdot}	Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$

II.3.3. Production des radicaux libres

La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produits, les radicaux sont souvent instables. Il faut donc des méthodes de détection adéquates [53].

Les méthodes utilisées pour produire des radicaux libres sont :

II.3.3.1. Méthodes physiques

Thermolyse, photolyse, radiolyse et sonochimie [53].

II.3.3.2. Méthodes chimiques

L'oxydoréduction : l'exemple le plus important est la réaction de Fenton [53].

II.3.3.3. Méthodes électrochimiques

La production du radical hydroxyle (HO^{\cdot}) s'effectue par une réaction appelée Electro-Fenton. Elle consiste à réduire électrochimiquement via des électrodes de mercure ou de graphite le fer ferrique en fer ferreux et l'oxygène en peroxyde d'hydrogène. Ce système permet de produire les deux espèces nécessaires à la réaction de Fenton [53].

II.3.4. Natures des radicaux libres

II.3.4.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% de molécules d'oxygène [44]. On distingue alors deux grands groupes de molécules réactives impliquées dans le stress oxydant: les espèces radicalaires et les espèces non-radicalaires. La réactivité d'un radical libre varie d'un radical à un autre et dépend de l'environnement où ils se trouvent [50].

✚ Les espèces oxygénées réactives radicalaires

a. Radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

Dans l'organisme une partie de l'oxygène moléculaire peut capter de manière univalente et séquentielle un électron conduisant alors à la formation du chef de file des espèces oxygénées réactives : l'anion superoxyde ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$) [44].

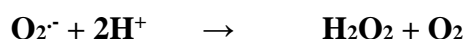
La source primaire de ROS, dans sa forme superoxyde, est le complexe NADPH oxydase qui catalyse la réduction à un électron de l'oxygène moléculaire. Les électrons nécessaires pour la production de l' $O_2^{\bullet-}$ sont fournis par le NADPH [54].



Les anions superoxydes ne sont pas très réactifs et ont une demi-vie courte, mais ils constituent des radicaux précurseurs et ils exercent leurs effets par la formation d'espèces radicalaires beaucoup plus réactive [55].

b. Peroxyde d'hydrogène H₂O₂

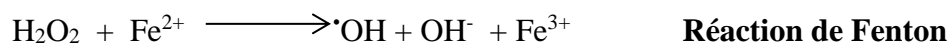
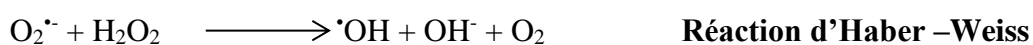
Le Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ qui n'est pas un radical libre peut être formé secondairement à la dismutation de (O₂^{•-}) par la superoxyde-dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénases, notamment l'acyl COA déshydrogénase, la NADH déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase...etc [44].



Le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est également un agent oxydant très réactif : c'est pour cela qu'on l'utilise souvent comme désinfectant et comme agent de blanchiment. S'il n'est pas rapidement détruit, il peut se décomposer et produire des radicaux hydroxyles qui s'attaquent aux macromolécules de la cellule [44].

c. Le radical hydroxyle OH[•]

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique [56]. Le radical libre hydroxyle (OH[•]) est très réactif dans les milieux biologiques, il produit principalement à partir de l'anion superoxyde au cours de la réaction d'Haber -Weiss et la Réaction de Fenton :



Le radical hydroxyle est donc un oxydant très puissant, constituant certainement le radical libre le plus toxique en biologie et serait à l'origine de la production des radicaux libres « secondaires », suite à sa réaction avec différents composés cellulaires [44]. Cette espèce chimique particulièrement réactive joue un rôle majeur dans la peroxydation lipidique et la destruction du matériel génétique [50].

d. Les radicaux alkyles R[•] et peroxydes ROO[•]

Les radicaux alkyles sont les derniers maillons dans la chaîne de production des EROs : ils sont les résultats de l'action oxydante de [•]OH sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés (RH). R[•] et ROO[•] sont à l'origine des processus radicalaires en chaîne et en particulier de la peroxydation lipidique [55].

II.3.4.2. Les espèces réactives azotées (ERN)

Dans le cas où le NO[•] se retrouve en trop fortes concentrations, il interagit avec l'anion superoxyde pour former le peroxyde nitrite. Ce composé hautement réactif, cause des dommages aux protéines, lipides et acides nucléiques. Le fait qu'il diffuse largement à travers les membranes contribue à son effet délétère. L'exposition à de faibles concentrations de NO[•] conduit à la S-nitrosylation du glutathion réduit intracellulaire. Ce dernier étant majoritairement converti en glutathion oxydé, la cellule perd une grande partie de sa capacité de défense contre les EROs [55]. Malgré son rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant en limitant la lipoperoxydation et ses effets anti-inflammatoires, il est paradoxalement impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le diabète, l'athérosclérose, le cancer et les lésions neuronales dégénératives [50].

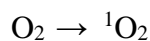
✚ Les espèces oxygénées non radicalaires

Ils ne possèdent pas d'électrons non appariés mais sont des précurseurs des radicaux libres et sont aussi réactifs que ceux-ci [57].

a. Oxygène singulet ¹O₂

La forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité [56]. Qui est la forme diamagnétique de l'oxygène, est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Bien qu'il ne soit pas un radical, il joue un rôle dans le vieillissement cutané et certaines maladies liées à l'âge [50].

C'est une molécule mise en état d'excitation par activation photochimique de l'oxygène :



$h\nu$

$^1\text{O}_2$ est très instable. Il peut apparaître durant les cycles de peroxydation lipidique, amplifiant ainsi les processus d'autoxydation [57].

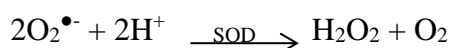
b. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Sous sa forme moléculaire, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est également toxique, en particulier à cause de sa transformation en radical hydroxyle en présence de cations métalliques Fe^{2+} et Cu^+ , lors de réactions de type « Fenton » [50].

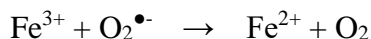


(Réaction de Fenton) [57].

Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ sous l'action d'une enzyme : la superoxyde dismutase (SOD).



Le peroxyde d'hydrogène, bien que moins réactif que certains autres ROS, est considéré comme un agent de signalisation efficace de par son effet prolongé, au radical hydroxyle à l'effet éphémère et à la demi-vie courte. De plus, en réagissant avec l'anion superoxyde, il fournit l'hydroxyle (réaction de Haber-Weiss) [57].

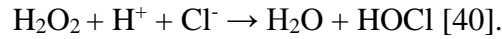


c. D'autres espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène comprennent non seulement les radicaux libres oxygénés mais aussi les radicaux libres dérivant d'autres espèces que l'oxygène par exemple : l'acide hypochloreux (HOCl), le monoxyde d'azote NO^\bullet qui se combine aisément avec le $\text{O}_2^{\bullet-}$ pour former le peroxynitrite (ONOO^-), agent non radicalaire à la fois oxydant et nitrosant [44].

- **L'acide hypochloreux HOCl**

Essentiellement produit par les myéloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure :



- **Le peroxy nitrite ONOO⁻**

En présence de dioxygène, NO[•] donne des oxydes d'azote (ONOO[•], N₂O₃) qui sont généralement des agents nitrosants conduisant à la formation de nitrites et de nitrosothiols dans les milieux biologiques. Par contre en présence de l'anion superoxyde (O₂^{•-}), le couplage avec NO[•] (Fig. 24) produit l'anion oxoperoxonitrate appelé couramment peroxy nitrite (ONOO⁻) [56].

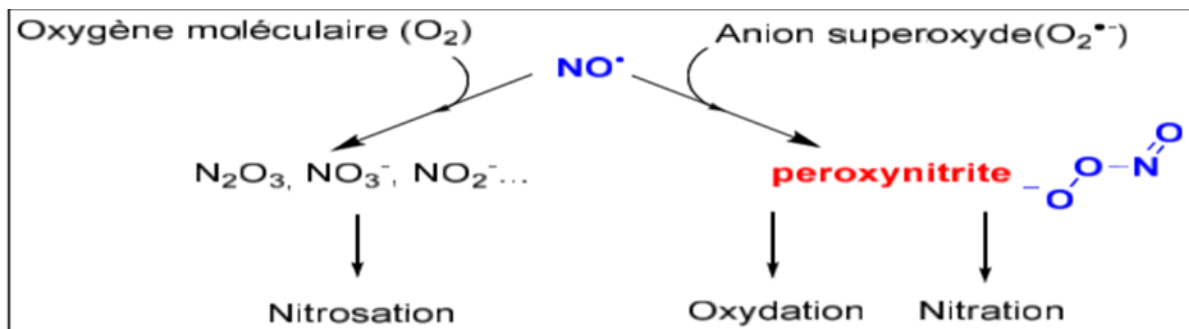


Figure 24 : Espèces réactives de l'azote dérivées de NO[•] [57].

II.3.4. 3. Radicaux libres secondaires

Ces radicaux se forment par réaction des radicaux primaires ci-dessus avec certains composés biochimiques de la cellule [57].

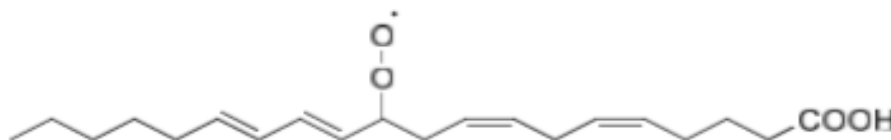


Figure 25 : Radical primaire.

II.3.5. Les sources de radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées: la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (chrome, cuivre). Le métabolisme cellulaire et l'inflammation sont considérés comme les principales sources endogènes de radicaux libres [58].

II.3.6. La production de radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire [59].

II.3.6.1. La production intracellulaire

La production des EOR dans les cellules mammifères découle de plusieurs sources possibles. Mais est essentiellement d'origine enzymatique [50]. Les oxydases (NADPH oxydase) constituent un "point d'entrée" en produisant l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) dont dérivent d'autres ERO. La NOS produit l'oxyde nitrique ($NO\cdot$) indépendamment de $O_2^{\cdot-}$ et constitue un autre "point d'entrée". La myéloperoxydase (MPO) produit HOCl qui amplifie la production des ERO. D'autres enzymes sont également sources de génération des radicaux libres tel que : les déshydrogénases, oxygénases, cyclo- et les lipoxygénases, peroxydases et la xanthine oxydase [60].

Les radicaux libres sont produits *in vivo* sous l'action de plusieurs systèmes biochimiques tel que : les cellules neuronales, endothéliales et phagocytaires (macrophages). Des radicaux libres sont également produits sous l'influence d'autres facteurs endogènes, notamment le stress intellectuel ou thermique [60].

II.3.6.2. La production extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme. Ces facteurs environnementaux incluant des agents cancérigènes non-génotoxiques peuvent directement, ou indirectement, être impliqués dans la génération de radicaux libres (xénobiotiques, activation des leucocytes..). Les rayonnements UV induisent la synthèse de $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , 1O_2 et d' H_2O_2 l'intermédiaire d'agents photosensibilisants [50].

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2) présents dans notre mode de vie (tabagisme, radiations ionisantes, champs électriques, polluants industriels..), ainsi qu'une alimentation « chimique » (raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool...), sont autant d'éléments favorisant la genèse de radicaux libres [50].

II.4. Les Antioxydants

II.4.1. Définitions

Les antioxydants sont des molécules naturellement produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation pour combattre les effets des radicaux lors du stress oxydant. Ils jouent un rôle majeur pour prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant [61].

II.4.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

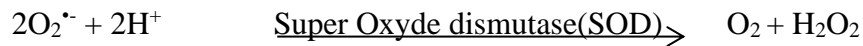
L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif [62].

II.4.2.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques (endogène)

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de Superoxyde dismutase (SOD), Catalase et de Glutathion peroxydase GPx, ces radicaux permettent l'élimination des radicaux libres primaires [63]. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\cdot-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire [64].

➤ **Superoxydes dismutases (SOD)**

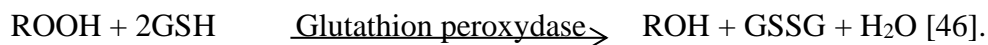
Ce sont des métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydatif et qui assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ par réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.



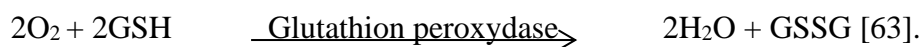
Cette métallo-enzyme se trouve dans tous les organismes aérobies, chez l'homme, on décrit trois isoenzymes : la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la Cu/Zn-SOD qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire [63]. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc [59].

➤ **Glutathions peroxydases (GPxs)**

Le glutathion peroxydase est une sélénoprotéine qui réduit les peroxydes aux dépends de son substrat spécifique. Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés [63].



Cette enzyme a présenté également une très bonne affinité pour le H_2O_2 dont elle est importante à sa décomposition de manière continue à des niveaux physiologiques de la cellule suite à une oxydation de son co-substrat GSH en GSSG qui sera réduit par la suite par l'action de la glutathion réductase :



La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG. Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH :



Cette réaction produit du $NADP^+$ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase) :



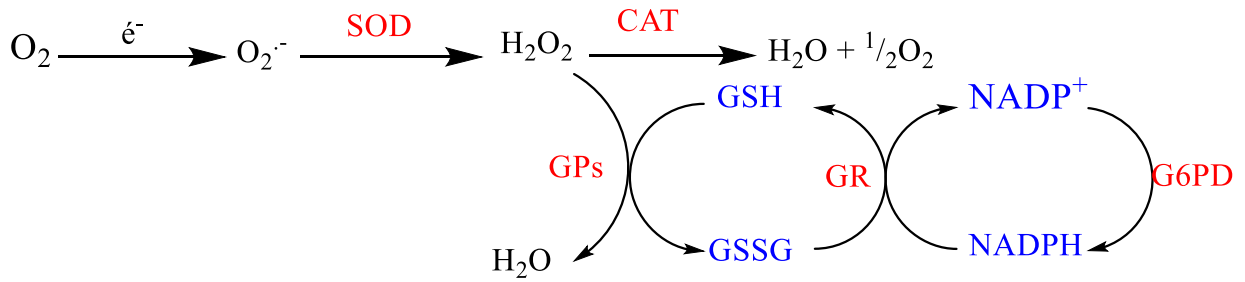


Figure 26 : Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène [62].

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydant, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine réductases, glutathion transférase (Fig. 27) [50].

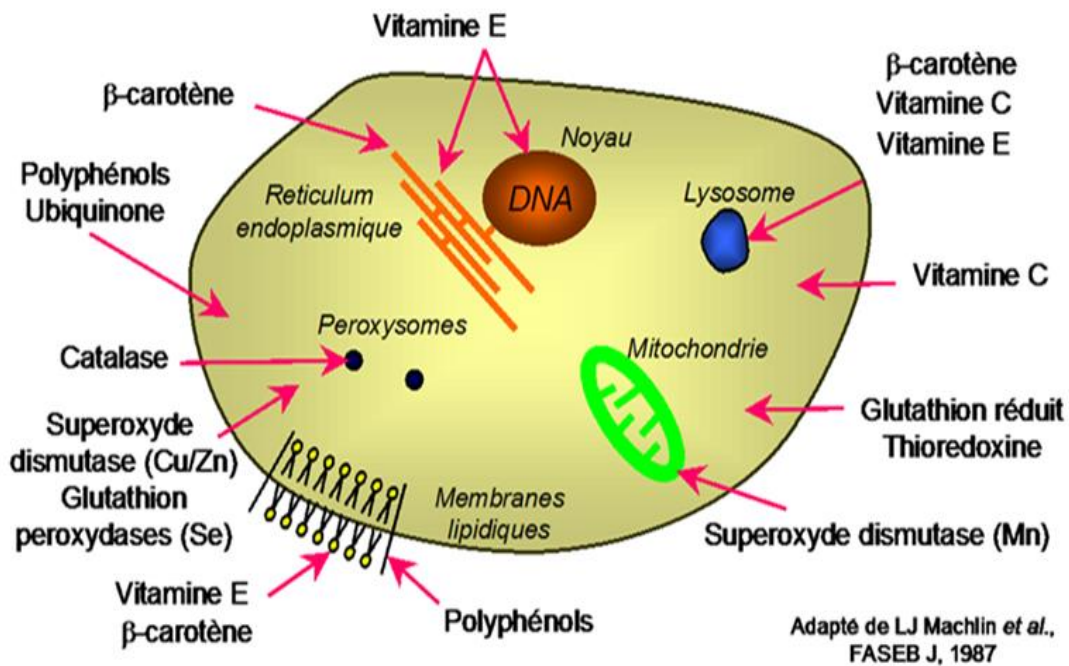
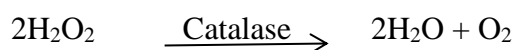


Figure 27: Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires.

➤ Catalases

La catalase est une enzyme très indispensable pour la détoxification des radicaux libres durant le stress dont la fonction principale est de catalyser la décomposition par dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène.



La catalase est une tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH dont la fixation de ce dernier sur la catalase augmente son efficacité et la protège contre l'inactivation, de plus cette enzyme n'utilise pas de cofacteurs enzymatiques. La catalase est présente dans la plupart des organismes procaryotes et eucaryotes, elle est présente dans tous les organes, dans la cellule elle est majoritairement concentrée dans les peroxysomes ou elle règle la production de H_2O_2 issue des enzymes oxydases et elle est présente également à l'état libre dans le plasma (Fig. 28) [63]. Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes [59].

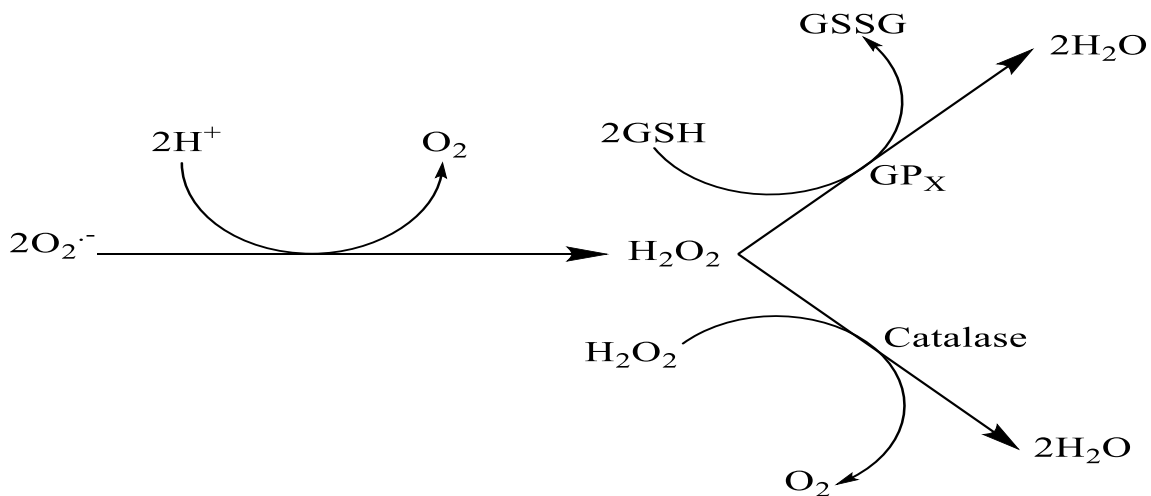


Figure 28 : Réactions de détoxification du radical anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène [63].

II.4.2.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont des nutriments naturellement apportés par l'alimentation ou par des composés endogènes. Ils sont capables de piéger les entités oxydantes ou de ralentir les processus d'oxydation et forment ainsi des entités plus stables qui pourront être éliminées par d'autres systèmes antioxydants. Les principaux antioxydants non enzymatiques sont le glutathion, la vitamine E (α -tocophérol), la vitamine C (acide L-ascorbique), la vitamine A (caroténoïde) et l'acide urique et les composés polyphénoliques [63].

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols [62].

II.4.2.2.1. Systèmes antioxydants endogènes

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est :

- **Le glutathion**

Largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux HO \cdot , RO $_2\cdot$, RO \cdot , $^1\text{O}_2$, ONOO $^-$, des radicaux centrés sur le carbone, mais aussi l'acide hypochloreux HOCl.

Le glutathion est aussi capable de participer à l'activité enzymatique qu'elle détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes [50]. Le glutathion est également indispensable à l'activité enzymatique de la GPx.

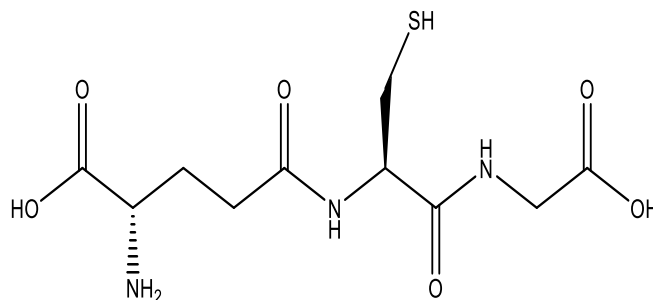


Figure 29: structure chimique du Glutathion (GSH).

- **Le coenzyme Q**

Est un composé hydrophobe, localisé au niveau de la chaîne respiratoire et dans les lipoprotéines. Il exerce à la fois un rôle de transporteur d'électrons et un rôle d'antioxydant. Sous sa forme réduite, il limite la peroxydation lipidique en réagissant directement avec les hydroperoxydes ou indirectement en régénérant la vitamine E [65].

- **l'acide lipoïque**

L'acide lipoïque, autre composé appartenant aux thiols, présentent des propriétés antioxydantes *in vitro* en piégeant les HO \cdot , RO $_2\cdot$, l'HOCl et l' $^1\text{O}_2$. En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de les désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogène [50].

- **L'acide urique**

L'acide urique est un produit terminal du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux notamment OH^\bullet , ROO^\bullet , NOO^\bullet ...etc. Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites notamment par la vitamine C. Cependant, il a été trouvé que l'acide urique n'a pas d'efficacité contre les générateurs liposolubles [63]. L'acide urique est un piègeur de $^1\text{O}_2$, des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO_2^\bullet et HO^\bullet), de l'ozone et de HOCl . La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO^\bullet [3].

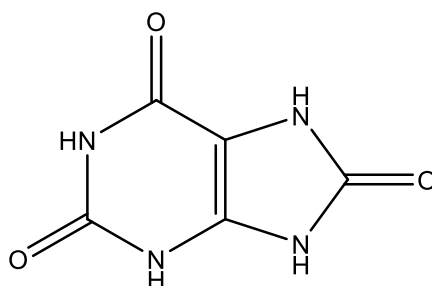


Figure 30 : Structure de l'acide urique.

II.4.2.2.2. Système antioxydant exogène

Les antioxydants chimiques exogènes, eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques [50]. Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes [57].

✚ Les antioxydants naturels

A. Les vitamines

➤ Vitamine E (α -tocophérol)

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature : les α , β , γ - et δ -tocophérols et tocotriénols. Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles. La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique (Fig. 31) [62].

La vitamine E a un rôle préventif dans les maladies cardiovasculaires en limitant l'oxydation des LDL, notamment dans la prévention de l'athérosclérose en contrôlant la génération d'isoprostanes [69].

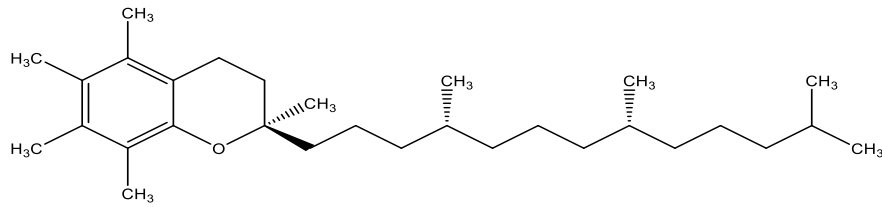


Figure 31 : Structure de la vitamine E.

➤ **vitamine C (acide ascorbique)**

La vitamine C ou acide ascorbique (Fig. 32) est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais. La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine. La plupart des plantes et des animaux peuvent synthétiser l'acide ascorbique sauf les singes et les humains en raison du manque de l'enzyme gulonolactone oxydase [44].

Les études *in vivo* de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation, alors que certains, pro-oxydant *in vitro* de cette molécule dans des milieux tamponnés contenant du fer en accélérant la réaction de Fenton [66].

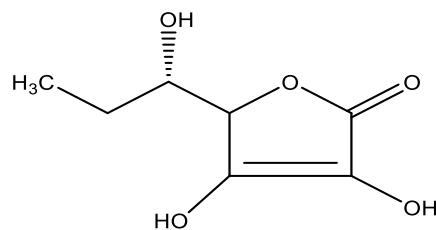


Figure 32 : Structure de l'acide ascorbique.

➤ **Vitamine A (Caroténoïdes)**

Les caroténoïdes, sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui

donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydant (Fig. 33) [50].

Le β -carotène est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités : elle est précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : elle s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents. La présence de nombreuses doubles liaisons au sein de leurs structures (Fig. 33) en fait des antioxydants reconnus, notamment par leur effet protecteur vis-à-vis des radiations solaires [62].

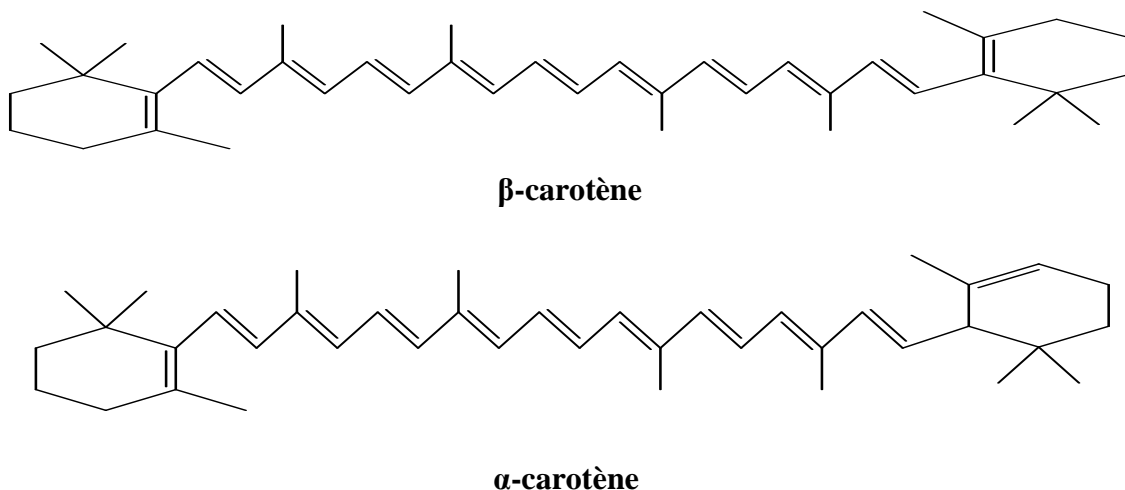


Figure 33 : Deux exemples des structures des caroténoïdes.

B. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques (Ph), et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane (Fig. 34). Leur capacité antioxydante réside à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique [50]. Ils peuvent être extraits à partir de plantes ou synthétiques [3].

Les acides phénoliques sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide gallique ou vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique. Ces derniers ont une bonne activité antioxydant [3].

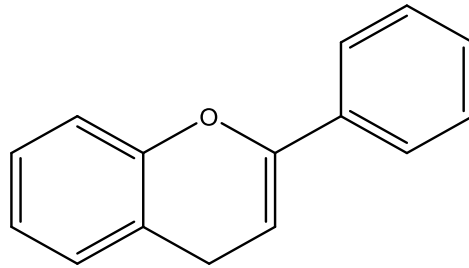


Figure 34: Structure chimique de la 2-phénylbenzopyrane.

C. Les Oligoéléments

Les oligo-éléments (Cu, Zn, Se, Mn, Fe...etc.) ne sont pas des antioxydants en tant que tels, mais agissent comme cofacteurs des enzymes constituant la première ligne de défense face aux attaques oxydatives. Il s'agit en réalité de catalyseurs redox de ces enzymes. Leur apport par l'alimentation permet donc de maintenir le bon fonctionnement de la machinerie antioxydante cellulaire et donc l'équilibre oxydatif [67].

Le zinc (Zn) et le Cu jouent un rôle dans le fonctionnement de SOD. Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires.

Ainsi, le sélénium (Se) joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire [59].

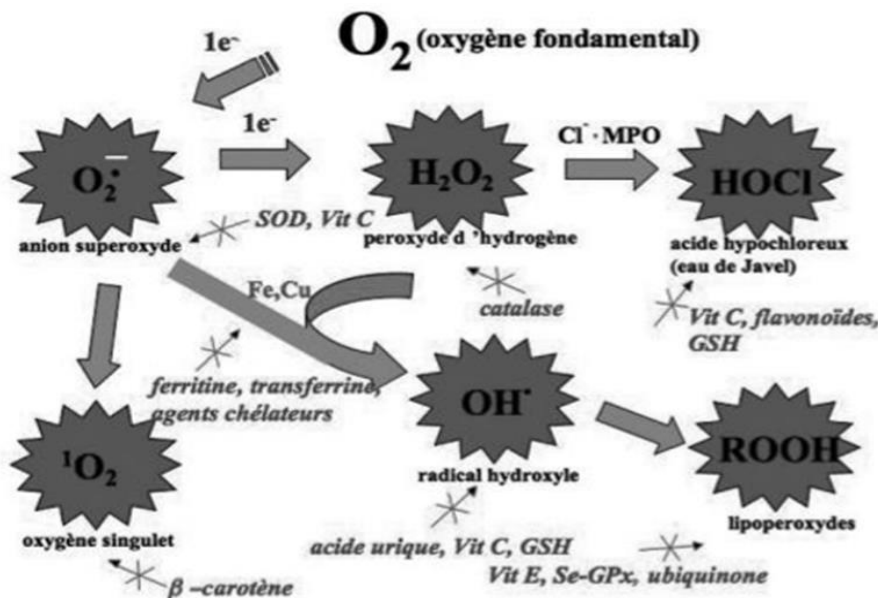


Figure 35: Différentes espèces oxygénées réactivées et les antioxydants régulateurs [8].

Les antioxydants de synthèses

Les antioxydants de synthèse comme les médicaments, les compléments alimentaires ou les additifs alimentaires qui sont, certes, très efficaces mais susceptibles de manifester des effets secondaires et même être toxiques [61].

Il existe de nombreuses molécules synthétiques possédant un caractère antioxydant. La plupart sont des composés phénoliques. Parmi les molécules les plus couramment utilisées, nous pouvons évoquer dans un premier temps le Trolox® dont la structure est représentée en (Fig 36) [68].

- **Le Trolox :** Le Trolox, ou acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique, est un analogue de la vitamine E. Il possède un fort potentiel antioxydant et sert souvent d'antioxydant de référence lors des tests biologiques (Figure 35) [68].
- **BHT :** Le 2,6-di-tertbutyl-4-méthoxyphénol, plus connu sous le nom de BHT (Figure 35) est un antioxydant utilisé comme conservateur dans l'industrie agro-alimentaire [68].
- **BHA :** Le BHA (Figure 35) est également utilisé dans ce domaine et possède deux isomères : le 3-tertbutyl-4-méthoxyphénol (I) et le 2-tertbutyl-4-méthoxyphénol (II). L'isomère II a une activité antioxydante plus élevée que l'isomère I [52].

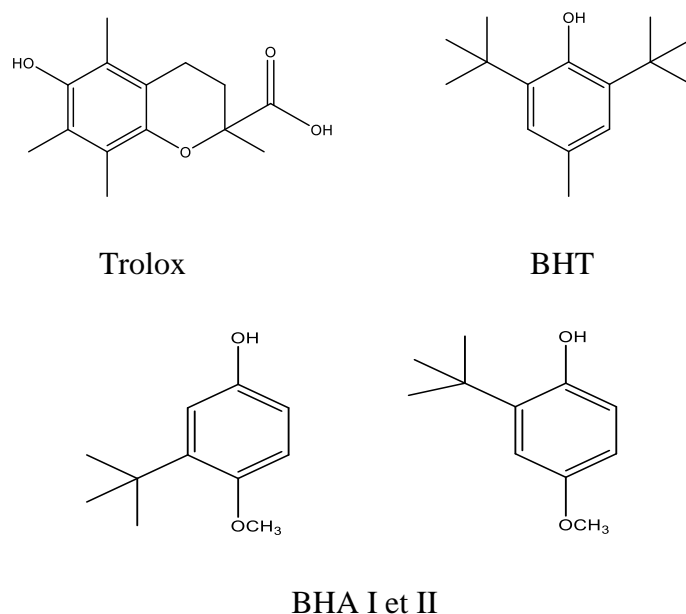


Figure 36 : Structures chimiques du Trolox, BHT, BHA I et II [68].

II.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. De nombreuses méthodologies sont disponibles, permettant d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. Dans cette section, les méthodes expérimentales les plus répandues seront décrites [69].

L'activité antioxydante est considérée comme la capacité à piéger les radicaux libres, par rapport d'un atome d'hydrogène ou d'un électron et la stabilisation des espèces formées. Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante dans le système biologique *in vitro* mais il reste très compliquées *in vivo*. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron. Parmi ces techniques, nous citons:

1. La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle),
2. La méthode TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox),
3. La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants),
4. La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène),
5. La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total) [8].

II.5.1. Test DPPH

Le DPPH[•] (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons π le long de la molécule [69].

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des différents extraits en raison de sa capacité à produire des radicaux libres stables et la simplicité de l'analyse. La présence des radicaux libres DPPH[•] dans la solution donne lieu à une coloration violette foncée à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Les antioxydants réduisent le DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), par conséquent la couleur vire du violet vers le jaune [63]. L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait historiquement par le changement de couleur allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune [63].

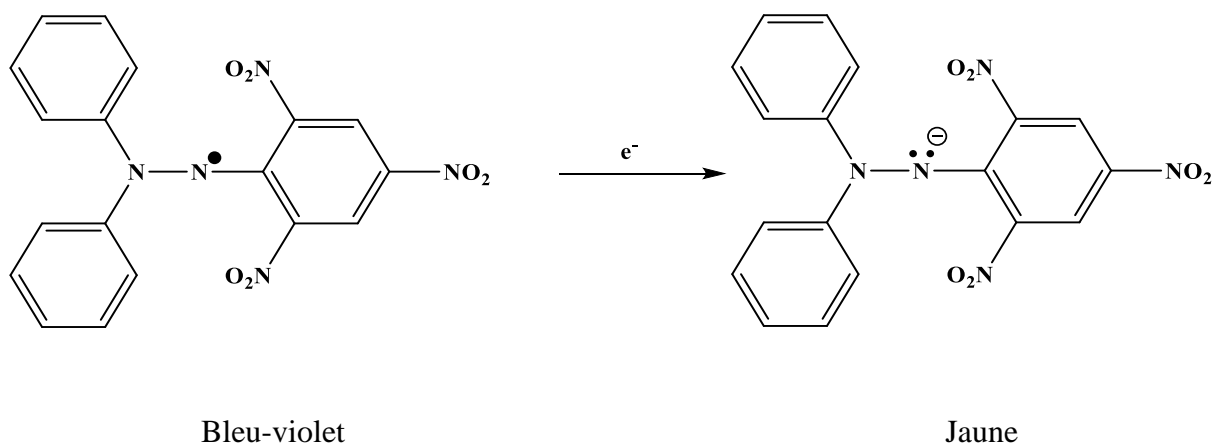


Figure 37 : Modification du DPPH[•] lors du transfert électronique [69].

II.5.2. Test ABTS

La méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS^{•+} [69].

La présente méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical cation ABTS^{•+} ou l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en ABTS. Ce dernier est quantifié par spectrophotométrie entre 600 et 750 nm. L'oxydant ABTS^{•+} est un produit d'oxydation en présence de persulfate de potassium [63]. Le test TEAC est également une méthode colorimétrique où une décoloration de la solution bleu-vert contenant ABTS^{•+} sera observée lors de la formation de ABTSH⁺ (couleur bleu-vert). Cette décoloration pourra également être quantifiée par spectrophotométrie (Absorption UV/Visible) à 734 nm [69].

C'est une méthode, tout comme le DPPH, conceptuellement facile à mettre en place puisque seuls les réactifs et un spectrophotomètre sont nécessaires. Elle est, de plus, rapide et se corrèle bien avec des tests biologiques. En revanche, l'inconvénient majeur de cette méthode relève de l'instabilité des radicaux ABTS^{•+}. Ces derniers doivent être générés à partir de sels d'ABTS et la mesure doit être faite assez rapidement.

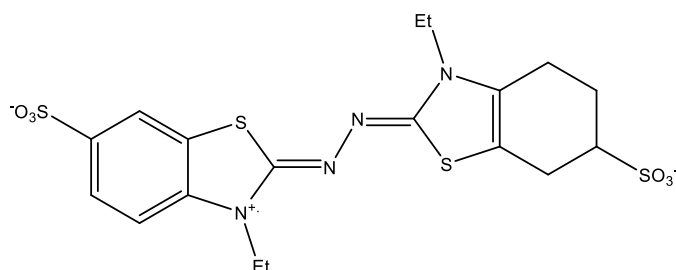


Figure 38 : Structure du radical-cation ABTS^{•+} [69].

I.5.3. Test FRAP

Le test FRAP (ou Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer, de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant. l'antioxydant doit présenter une capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm. Ce test est peu couteux, simple, reproductible et rapide. Toutefois il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydante des thiols (SH), incluant donc les polypeptides et les protéines à groupement cystéine [69].

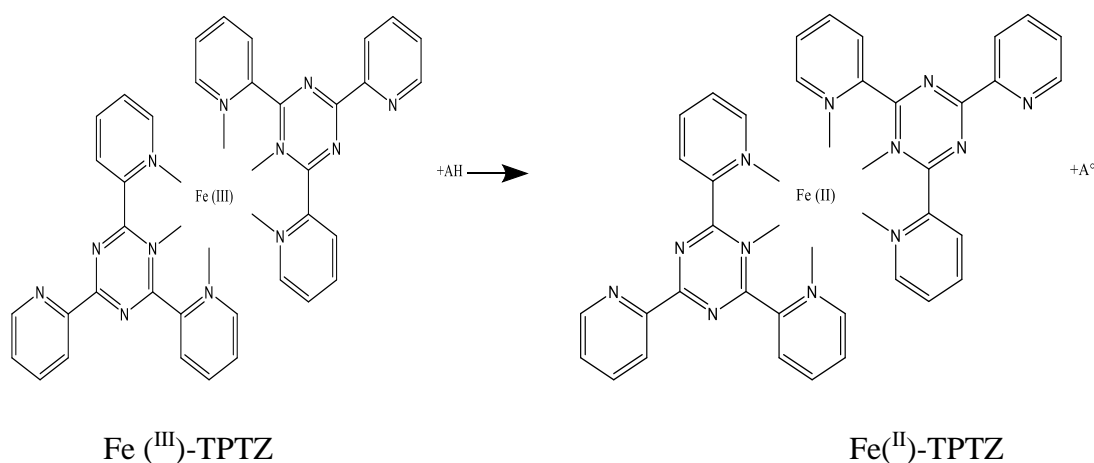


Figure 39 : Mécanisme réactionnel intervenant entre le complexe tripyridyltriazine ferrique $\text{Fe}^{(\text{III})}$ -TPTZ et un antioxydant (AH) [63].

I.5.4. Test ORAC

Le test ORAC (ou Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydante des échantillons biologiques *in vitro*. Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis(2-amidinopropane) (AAPH). La dégradation thermique de cette molécule en présence d'oxygène va provoquer la génération de radicaux libres de façon régulière qui vont pouvoir attaquer la membrane des globules rouges [69].

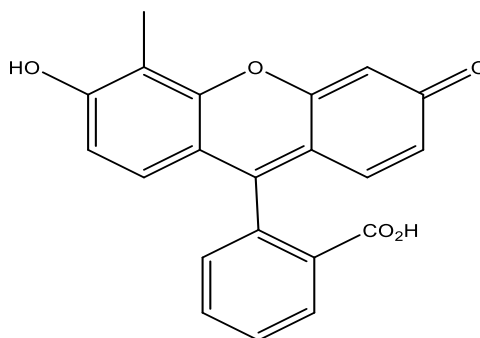


Figure 40 : Structure chimique de la fluorescéine.

L'avantage principal de cette méthode est la capacité d'évaluer dynamiquement les capacités antioxydantes de composés. Elle permet notamment de déceler une latence d'action. Ce point est particulièrement intéressant pour étudier des extraits végétaux, aliments ou des compléments alimentaires contenant plusieurs antioxydants à action rapide et à action retardée, ces effets combinés ne pouvant que difficilement être prédits.

Cette méthode a également des inconvénients. Elle ne va mesurer l'activité antioxydante que sur des radicaux peroxydes. De plus, il n'y a pas de corrélation évidente entre les résultats obtenus avec cette méthode et la consommation d'aliments réputés contenir des antioxydants [69].

II.5.5. Test TRAP

Ce test TRAP (ou Telomeric Repeat Amplification Protocol) est spécifique de l'action des antioxydants sur les radicaux peroxydes $ROO\bullet$. Ces radicaux vont être produits par des générateurs de radicaux libres. Pour ce test, le BAP [2,2-azo-bis(2-amidinopropane) chlorhydrate] ou le AAPH [2,2'-azobis(2- amidinopropane)] seront utilisés [69].

Cette méthode permet de quantifier les antioxydants non enzymatiques (glutathion...) ainsi que de mesurer la capacité antioxydante du plasma et du sérum. En revanche, cette méthode se base sur le fait que chaque antioxydant possède un temps de latence avant son action. Ainsi la corrélation avec d'autres méthodes d'évaluation est particulièrement compliquée. [69].

II.5.6. Méthode par résonance paramagnétique électronique (RPE)

Cette méthode est une technique très utilisée pour visualiser directement les radicaux libres que ce soit *in vitro* ou *in vivo*. Elle suit le même principe que la résonance magnétique

nucléaire, à savoir l'absorption et la réémission d'énergie provenant d'un rayonnement électromagnétique extérieur.

Les radicaux libres se caractérisent par la présence d'un électron libre, qui par son mouvement de spin, va produire un champ magnétique. Si le radical se trouve dans un champ magnétique extérieur puissant et dirigé, il en résultera une absorption d'énergie qui pourra être visualisée sous la forme d'un spectre. Plus la quantité de radicaux libres présents dans le milieu sera importante, plus l'absorbance sera grande. Cette méthode est idéale pour évaluer les emballements de processus oxydatif. Par exemple, l'inhibition de la peroxydation lipidique par des antioxydants est aisément quantifiable. Un antioxydant enrayera rapidement la phase de propagation empêchant la formation de nouveaux radicaux [69].

CONCLUSION

Conclusion

Au cours de notre travail, nous avons mené des recherches bibliographiques contenant des généralités sur l'hypertension artérielle et les ouvreurs des canaux potassiques, leur effet sur le corps et leur contribution à l'équilibre normal de la pression artérielle, en réduisant le risque de cette maladie cardiovasculaire. Certains de ces composés chimiques ont un effet sur un autre profil pharmacologique comme antioxydants.

Nous avons également parlé des généralités sur les radicaux libres, le stress oxydatif, les antioxydants et antioxydants naturels et synthétiques et certaines méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant.

Les antioxydants pourraient être utilisés dans le traitement ou la prévention de certaines maladies.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

- [1]. **I. Guindo**, Etude de Traitement Traditionnel de L'hypertension Artérielle, thèse de doctorat, Université de Bamako, 2006.
- [2]. **M. A. M. Abdelhaq**, Etude du surpoids, de l'obésité et des facteurs associés au surpoids chez les élevés du cycle, thèse de doctorat, Université Djillali liabes, 2017.
- [3]. **Bouider N.**, Conception et synthèse de nouveaux activateurs des canaux potassiques dérivant de l'ouverture du cycle du diazoxide : étude de l'effet vasodilatateur, de la stimulation de la synthèse d'élastine et de l'effet inhibiteur sur la sécrétion de l'insuline, Thèse de doctorat, université de Jijel, Algérie, 2016, 60-64.
- [4]. **Harrouche K.**, Renard J.F., Bouider N., de Tullio P., Goffin E., Lebrun P., Faury G., Pirotte B., Khelili S., Synthesis, characterization and biological evaluation of benzothiazoles and tetrahydrobenzothiazoles bearing urea or thiourea moieties as vasorelaxants and inhibitors of the insulin releasing process, Eur. J. Med. Chem., 2016, 115, 352-360.
- [5]. **B. Bouguerne**, conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires, Thèse Doctorat, Université de Toulouse, 2012.
- [6]. **K. Harrouche**, A. Lahouel, B. Mebrouk, B. Pirotte, S. Khelili, Synthesis, characterization and investigation of the antioxidant activity of some 1,2,4-benzothiadiazine 1,1-dioxides bearing sulfonylthioureas moieties, Can. J. Chem, 2019, 97(12), 824-832.
- [7]. **N. Boutadjine, S. Rouana**, Evaluation de l'activité antioxydante de quelques composés organiques de synthèse portant une fonction thiourée, Mémoire de Master, université de Jijel, 2019.
- [8]. **F. Sebti**, Synthèse, Caractérisation et activités biologiques d'un ligand chélateur des ions métalliques, thèse de doctorat, Université Ferhat abbas_setif-1, 2018, 39, 46, 51.
- [9]. **N. Zeghad_ep_Bououden**, Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de vitis vinifera punica granatum, Citrus aurantium et Opunti ficus-indica, Thèse de doctorat, Université des freres mentouri_Constantine, 2018, 16-17.

- [10]. **T. Barhoumi**, L'hypertension artérielle et les désordres vasculaires induits par L'érythropoïétine recombinante humaine et le système rénine-angiotensine-aldostérone. Effet de l'exercice et des cellules T régulatrices, Thèse de doctorat, Université D'Avignon et des pays de Vaucluse, 2011, 16.
- [11]. **R. Khalil**, Traitement et l'hypertension artérielle dans la pratique, Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad _Marrakech, 2017.
- [12]. **F. Gimenez, M. Brazier, J. Calop, T. Dine, L. Tchiakpe**, pharmacie clinique et thérapeutique, Masson éditeur 120boulevard saint-germain _ Paris, 2 édition, 512.
- [13]. **N. L. T. Esther**, Effets antihypertenseurs des extraits de Terminalia superba Englers & Diels (Combretaceae): étude in vivo et in vitro, Thèse de doctorat, Université de Franche _ Comt.
- [14]. **A. Chevallier**, Prise en charge des patients adultes atteints d'hypertension artérielle essentielle: Actualisation 2005-Recommandations. Journal des Maladies Vasculaires, 2006.
- [15]. **N. P. Vinay, G. Bobrie**, l'hypertension artérielle, Cespharma+_Education Et Brévention Pour La Santé, 5, 2006.
- [16]. **E. Guivarc'H**, Etude de la protection œstrogénique dans l'hypertension artérielle et le vieillissement chez la souris femelle, thèse de doctorat, Université Nantes Angers. Université Bretagne Loire, 2020.
- [17]. Pharmacologie, **M. Moulin, A. Coquerel**, Masson éditeur 120, boulevard saint-germain _ Paris, 2 Edition, 2002
- [18]. **F. dupuis**, Implication du système rénine angiotensine aldostérone dans les altérations de la circulation cérébrale au cours de l'hypertension artérielle chronique, thèse de doctorat, universite Henri poincare_nancy 1, 2005.
- [19]. **F. Dan**, Automesure tensionnelle : intérêts pour le patient, conseils et place du pharmacien d'officine dans la prise en charge du patient hypertendu, thèse de doctorat, Université Toulouse III, 2016.
- [20]. **G. Estenne**, conception et synthèse d'antagoniste non peptidique de l'angiotensine II, thèse de doctorant, Université Joseph Fourier, Grenoble1, France, 1993, 2-7.

- [21]. **J.Leclerc**, Surveillance des consultations à l'urgence et des hospitalisations chez les utilisateurs de médicaments génériques et originaux en cardiologie ,au Québec, Thèse doctorat , université Laval, 2017.
- [22]. **F. Lafolie** , Etude de la tolérance de l'administration concomitante du Ramipril, de la propentofylline et du furosémide chez des chiens insuffisants cardiaques de stades ii et iii de la classification nyha, thèse de doctorat, Ecole nationale Yeterinaire D'alfort,2004.
- [23]. **J. D. Brion, J. Buxeraud, J.Castel, J. Couquelet, M. Cussac, M. Debaert, J. P. Fournier, P. Fulcrand, J. Huet, R. Lacroix, J. Y. Laronze, G. Le Baut, P. Loiseau, V. Loppinet, J. Paris, M. Plat, J. Poisson, P. Tronche**, Traité De Chimie Thérapeutique-Volume 3, Médicament Du Système Cardio-vasculaire, Chapitre 1 : Les Diurétiques, AFFECT, paris,1992, 12-13, 49 et 108-205
- [24]. **A.A. Diall**, étude des aspects pharmaco-épidémiologiques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion au chu du point g, thèse de pharmacie, université de Bamako, 2011.
- [25]. **Y. Adem**, et. al. Traite de chimie thérapeutique : Médicament du système cardiovasculaire, Volume 3, TEC & DOC- lavoisier, 1992, capilre I, 21-46.
- [26]. **Brion. J.D.**, Buxeraud J., Castel J., Couquelet J., Cussac M., Debaert M., Fournier J.P, Fulcrand P., Huet J., Lacroix R., Laronze J.Y., Le Baut G., Loiseau P., Loppinet V., Paris J., Plat M., Poisson J., Tronche P., Traité de chimie thérapeutique-volume 3, médicament du système cardio-vasculaire, Chapitre 1: Les diurétiques, Tec et Doc Lavoisier, Paris, France, 1992a, 3-104.
- [27]. **TG. Well**, The pharmacology and therapeutic in the pediatric patient, Ped Chim north Am, 1992, 37(2), 463-504.
- [28]. **Joffre. M**, Electrophysiologie moléculaire II, Propriétés, structure moléculaire et rôles physiologiques des canaux ioniques, Tome 2, Collection enseignement des sciences, Hermann, Paris, France, 2001, 296.
- [29]. **J. Buyck**, Rôles du calcium et des transports ioniques de l'épithélium des voies aériennes dans la réponse à l'agression septique par Pseudomonas aeruginosa, Thèse de Doctorat, université de Lille 2, 2008.

- [30]. **C. Eichel**, Organisation et régulation des canaux sodiques et potassiques cardiaques par les protéines MAGUK, Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, 2014.
- [31]. **F. Bourdain**, B. Fontaine, Canaux ioniques dépendants du voltage et maladies neuromusculaires Voltage-gating ionic channels and neuromuscular disorders, EMC-Neurologie, 2005, 403–429.
- [32]. **R. Youssouf**, Hyperactivité sympathique dans l’hypertension artérielle, Thèse de Doctorat, Université Mohammed V -Souissi, 2013.
- [33]. **C. Buaz**, Les activateurs des canaux potassiques étude du Nicorandil, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble I, 1995.
- [34]. **G. Edwards**, A.H. Weston, Potassium channel openers and vascular smooth muscle relaxation. *Pharmacol, Ther*, 1990, 48, 58-237.
- [35]. **NS. Cook**, U. Quast, Potassium channel pharmacology: Potassium channel structure, classification, function and therapeutic potential, Ellis Horwood, Chchester, 1990,181-255.
- [36]. **N.W. Davies**, A.E. Spruce, N.B. Standan, and P.R. Stanfield, Multiple blocking mechanisms of ATP-sensitive potassium channel of prog skeletal muscle by tetraethylammonium ions. *Journal of physiology*, 1989, 413, 31-48.
- [37]. **A. Jahangir**, A. Terzic, KATP channel therapeutics at the bedside, *Molecular and Cellular Cardiology*, 2005, 99–112.
- [38]. **N. Kihal**, Synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux peptides biomimétiques et de benzothiadiazines, thèse de doctorat, Université Paris Sud-Paris XI, France, 2013.
- [39]. **R. Mannhold**, KATP Channel Openers: Structure-Activity Relationships and Therapeutic Potential, *Medicinal Research Reviews*, Vol. 24, No. 2, 213-266, 2004
- [40]. **S. Khelili**, P. Lebrun, Pascal de Tullio and Bernard Pirotte, Synthesis and pharmacological evaluation of some N-arylsulfonyl-N-methyl-N'-(2, 2-dimethyl-2H-1-benzopyran-4-yl) ureas structurally related to cromakalim, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14, 3530-3534.
- [41]. **S. Khelili**, X. Florence, M. Bouhedja, S. Abdelaziz, N. Mechouche, M.Yekhlef, Pascal de Tullio, Philippe Lebrun and Bernard Pirotte, Synthesis and activity on rat aorta rings and

rat pancreatic β -cells of ring-opened analogues of benzopyrantype potassium channel activators, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2008, 16, 6124-6130.

[42]. **M. Bouhedja**, B. Peres, W. Fhayli, Z. Ghandour, A. Boumendjel, G. Faury, S. Khelili, Design, synthesis and biological evaluation of novel ring-opened cromakalim analogues with relaxant effects on vascular and respiratory smooth muscles and as stimulators of elastin synthesis, *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, 144, 774-796.

[43]. **R. Labiod**, Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide, thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 2016, 29, 45.

[44]. **Ch. Boubekri**. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, 2014, 45-48, 50-51.

[45]. **L. C.Obame, Engonga**, Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines, thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, 2009, 46-51, 55.

[46]. **N. Smirnoff**, Antioxidants and reactive oxygen species in plants, 2005,

[47]. **A. M. Pisoschi**, A. Pop, The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European journal of medicinal chemistry*, 2015, 97, 55-74.

[48]. **D. A. Bender**, M. Botham, J. P. Kennelly, V. W. Rodwell, A. Weil, *Biochimie de Harper*. De boeck superieur, Louvain-la-Neuve. 2017

[49]. **A. Galano**, Free radicals induced oxidative stress at a molecular level: the current status, challenges and perspectives of computational chemistry based protocols. *Journal of the mexican chemical society*, 2015, 59, 231-262.

[50]. **B.F-Lycaon**, Activité anti-oxydant, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bateau* (patawa), Thèse de Doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, 2012, 46_49, 51, 55.

[51]. **H. Trabsa**, Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales : *Sedum sétiforme* et *Lycium arabicum*, thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif1, 2015.

- [52]. **M. Gutowsk**, S. Kowalczyk, A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance, *ACTA biochimica polonica*, 2013, 60, 1-16.
- [53]. **P. Wardman**, Candeias. Fenton centennial symposium. *Radiation research*, 1996, 145, 523-531.
- [54]. **H. Amzal**, Étude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier, Thèse de doctorat, Université Mohammed V –Rabat, 2010,11, 32, 35.
- [55]. **R.S-Louis**, Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation, Thèse de Doctorat, Université Paris VI, 2011, 35-38.
- [56]. **M. Ahlem**, Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L*, Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas Sétif, 2012.
- [57]. **N. Belkheiri**, dérivés phénoliques a activités antiathérogènes, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2010, 8-12, 32.
- [58]. **J. Carange**, comme exigence partielle de la maîtrise en biophysique et biologie cellulaires, mémoire, université du Québec, 2010.
- [59]. **I. Atti**, Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el Hanouti », Mémoire Master Académique, Université kasdi Merbah Ouargla, 2014.
- [60]. **F. Zerargui**, Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L*. et caractérisation des substances bioactives, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 2015, 25, 28.
- [61]. **H. Kadri**, Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne, thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, 2017, 43_44.
- [62]. **KH. Kanoun**, Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis L*. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine), mémoire de Magister, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, 2011, 25-26.
- [63]. **Lehucher-michel. M P**, Lesgards J F, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M, stress oxydant et pathologies humaines, *la presse medicale*, 2001,1076-1081.
- [64]. **Ch.Bayrasy**, Influence de la lipophilisation de l'acide rosmarinique sur ses propriétés antioxydantes, Thèse de doctorat, Université Montpellier II, 2013.

[65]. **E. Bouchouka**, Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes, Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar –Annaba,2016.

[66]. **H. Djenidi**, Activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale consommés dans les régions de Biskra et Sétif, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif1,2019.

[67]. **K. Maurent**, Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde. Evaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2017.

[68]. **T. Desmier**, les antioxydants de nos jours : définition et applications, thèse de doctorat, Université de Limoges, 2016.

RÉSUMÉ

Au cours de cette étude théorique, qui contient des génériques sur l'élévation de la pression artérielle et les ouvertures des canaux potassiques. cromakalim et diawoxide sont connus comme les stimulants les plus importants de ces canaux et sont utilisés comme antihypertendants. Récemment, d'autres représentants des deux coraux précédents (avec une boucle fermée ou ouverte) ont été découverts sans lesquels ils ont montré cardiovasculaire et anti-activités oxydantes. Pour cela, nous avons recherché la référence, sur les concepts de base à haute teneur en antioxydants tels que les racines libres, le stress oxydatif, les oxydants naturels et synthétiques/antioxydants. Nous avons ensuite abordé certaines méthodes d'évaluation de l'efficacité anti-oxydant (risque de radicaux DPPH, test ABTS et test FRAP....).

Mots-clés : Hypertension artérielle, KCOs, fonction sulfonylthiourée, Activité vasorelaxante, Canal KATP, Activité antioxydante.

ABSTRACT

During this theoretical study, which contains generics about Arterial pressure rise. and potassium channels openings. However; Cromakalim and Diazoxid are known as the most important stimulants of these channels and are used as antihypertendants. Recently, other representatives of the two previous corals (with a close or open loop) have been discovered which they have show cardiovascular and anti-oxident activities. For this, we have tackled a referential research about the basic high antioxidant concepts such as: free roots, oxidative stress, natural and synthetic oxidants /antioxidant. Then we addressed some methods of assessing the antioxidant efficacy (DPPH radical risk, ABTS test and FRAP test...).

Keywords : Arterial Hypertension, KCOs, Sulfonylthiourea moieties, Vasoelaxant activit, KATP channel, Antioxidant activity.

المخلص

خلال هذه الدراسة النظرية التي تحتوي على عموميات حول ارتفاع الضغط الشرياني وفتاحات قنوات البوتاسيوم. حيث يعرف كروماكالم وديازوكسيد كأهم المنشطات لهذه القنوات ويستعملان كخافضين لارتفاع الضغط الشرياني. مؤخرًا تم اكتشاف ممثلات أخرى للجزيئين المرجعيتين السابقتين (بحلقة مغلقة أو مفتوحة)، والتي أظهرت بدورها فعالية ارتخائية للأوعية الدموية وفعالية مضادة للأكسدة. لأجل هذا، قمنا ببحث مرجعي، حول المفاهيم الأساسية للفعالية المضادة للأكسدة مثل الجذور الحرة، الاجهاد التأكسدي، المؤكسدات/مضادات الاكسدة الطبيعية والاصطناعية. بعدها تطرقنا لبعض طرق تقييم الفعالية المضادة للأكسدة (المحاصرة الجذرية DPPH, اختبار محاصرة الموجة ABTS واختبار تقليل الحديد FRAP....).

الكلمات المفتاحية : ارتفاع الضغط الشرياني، فتاحات قنوات البوتاسيوم، الوظيفة سلفونيل ثيوبوريا، الفعالية الإرخائية الوعائية، قنوات البوتاسيوم الحساسة للأدنيوزين ثلاثي الفوسفات، الفعالية المضادة للأكسدة.