

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Mohamed Seddik Ben Yahia-JIJEL



Faculté des Sciences Exactes et Informatique

Département de Chimie

MÉMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie

Option : Chimie Organique

THÈME

Chiralité et activité antihypertensive

Présenté par

ZAHZOUH Lyna

Et

BOUHADJIRA Saida

Soutenu le : 28/10/2020

Devant le jury :

M ^{me} . BOURAOUI Naima	Pr	Université M.S.B.	Présidente
M. BOUHEDJA Mourad	M.A.A	Université M.S.B.	Encadreur
M ^{me} . MECHOUCHE Nadia	M.A.A	Université M.S.B.	Examinatrice

promotion 2019-2020.

Dédicace

A mes très chers parents

Qui ont toujours été là pour moi, Grâce à leurs encouragements continus, leurs amour, leurs aides, leurs soutiens et soucis pour mon avenir et à qui je dois mes sincères et profonds remerciements, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices leurs pour créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer l'immense amour que je vous porte, mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

J'espère que dieu te protège maman et te donnera la santé et long vie, Et que Dieu ait pitié de vous, papa, et vous fasse reposer au paradis.

A ma grande sœur manel

Je vous souhaite tout le bonheur du monde et la réussite dans votre vie personnelle et professionnelle.

À mon grand-père Ahmed et ma grand-mère Meriem

À mes oncles paternels et leurs petites familles (Kamel, halim et Mohamed znr).

À mes oncles maternels et leurs petites familles (Messaoud, Farid et Djamal)

À mes adorable et fidèles cousines Zohra et malak

À ma chère amie et mon binôme lyna qui m'a accompagnée tout au long de mes années d'études.

Saida

Dédicace

Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que je dédie ce travail....

A mes très chers parents,

Je ne saurais exprimer ma gratitude et ma reconnaissance envers vous. Merci d'être présents à tout moment et durant toutes mes années d'études, vous m'avez supportée dans tous mes états. Je ne cesserai de vous remercier, en espérant un jour que vous puissiez voir en moi ce que vous avez toujours voulu.

Puisse Dieu tout puissant vous préserver du mal, vous comblez de santé, de bonheur et vous accorder une longue et heureuse vie.

Je vous aime.

A mon cher frère ANIS et ma chère sœur INES,

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut pour vous dire que vous comptez pour moi. Ce travail est le symbole de tout l'amour et le respect que j'ai pour vous. Je vous remercie de votre gentillesse et de votre humilité. Vous êtes une bénédiction pour nous. Que Dieu vous protège et exauce tous vos vœux.

A mon amie KHAOULA et mon binôme SAIDA vous représentez l'amies qui a toujours été présentes à n'importe quel moment pour me consoler et m'encourager. Je ne cesserai de vous remercier. Que Dieu garde cette précieuse amitiés, je vous souhaite tout le bonheur.

A mon grand-père RABAH et tous les membres de ma famille, mes professeures, mes collègues, et à la pensé de mes grands-parents.

Lyna

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu,

*Le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force
et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons notre sincère remerciement et notre
gratitude à notre encadreur **M. BOUHEDJA Mourad**
maitre-assistant au département de Chimie qui nous a
fourni le sujet de ce mémoire et nous a guidés de ses
précieus conseils et suggestions, et la confiance qu'il nous a
témoignés tout au long de ce travail.*

*Nos vifs remerciements au **Mme. BOURAOUI Naima** ,
d'avoir accepté, d'assurer la présidence du jury de notre
mémoire de master.*

*Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements et
notre profonde gratitude à **Mme. MECHOUCH Nadia** pour
l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'examiner et juger ce
modeste travail.*

Enfin, on adresse nos sincères sentiments de gratitude

Et de reconnaissances à toutes promotions de master et

À toutes les personnes qui ont participé de près ou de

Loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous.

TABLE DES MATIÈRES

Dédicaces.....	i
Remerciements.....	iii
table de matière	v
Abréviations.....	vi
Liste des figures.....	viii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I : HYPERTENSION ARTÉRIELLE ET CANAUX IONIQUES.....	3
I.1. Généralités.....	3
I.2. Différents traitements et perspectives.....	4
I.2.1. Les diurétiques.....	7
I.2.1.1. Les diurétiques thiazidiques et apparentés.....	7
I.2.1.2. Les diurétiques de l'anse.....	7
I.2.1.3. Les diurétiques distaux.....	8
I.2.1.4. Rappels physiologiques rénale.....	8
I.2.2. Médicaments à impact adrénergique.....	9
I.2.2.1. Les alpha-bloquants.....	9
I.2.2.2. Les bêtabloquants.....	9
I.2.2.3. Les antihypertenseurs centraux.....	10
I.2.3. Les vasodilatateurs à action directe.....	11
I.2.4. Médicaments interférant avec le système rénine- angiotensine.....	11
I.2.4.1. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion.....	13
I.2.4.2. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II.....	14
I.2.4.3. Les inhibiteurs de la rénine.....	14
I.2.5. Médicaments interférant avec les canaux ioniques.....	15
I.2.5.1. Les antagonistes du calcium ou inhibiteurs calciques.....	16
I.2.5.2. Les activateurs des canaux potassiques K_{ATP}	17
I.2.5.2.1. Les benzopyranes : Le cromakalim	20
I.2.5.2.2. Les analogues ouverts du cromakalim.....	21

CHAPITRE II: MÉTHODES DE SÉPARATION ÉNANTIOMÉRIQUE.....	23
II.1. Introduction.....	23
II.2. La stéréochimie.....	23
II.2.1. La chiralité et la vie.....	24
II.2.2. Chiralité et carbone asymétrique.....	25
II.2.2.1. Propriétés physico-chimiques des énantiomères.....	26
II.2.2.3. Activité optique (ou pouvoir rotatoire).....	27
II.2.2.4. Enantiométrie et activité optique.....	28
II.2.2.4.1. La pureté énantiomérique.....	28
II.2.2.4.2. L'excès énantiomérique.....	29
II.2.2.5. La diastéréoisométrie.....	29
II.3. Propriétés pharmacologiques des énantiomères.....	30
II.4. Les différentes techniques de la séparation énantiomérique.....	31
II.4.1. La séparation mécanique ou triage manuel.....	32
II.4.2. La cristallisation.....	32
II.4.1.1. La cristallisation préférentielle ou sélective.....	32
II.4.1.2. La cristallisation de sels de diastéréoisomères.....	33
II.4.3. La séparation membranaire.....	35
II.4.4. La résolution cinétique.....	35
II.4.4.1. La voie chimique.....	35
II.4.4.2. La voie biologique.....	35
II.4.5. La chromatographie chirale.....	36
II.4.5.1. La phase stationnaire chirale.....	38
II.4.5.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	38
II.5. Application d'une méthode de séparation énantiomérique à l'analogue ouvert du cromakalim.....	39
 CONCLUSION GÉNÉRALE	 41
 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	 42

Abréviations

VSMC : cellules musculaires lisses vasculaires

HTA : hypertension artérielle

AVC : accident vasculaire cérébral

mmHg : millimètre de mercure

PAS : pression artérielle systolique

PAD : pression artérielle diastolique

NaCl : chlorure de sodium

AHT : antihypertenseur

DIUr : diurétiques

BB : bêta-bloquants

ICA : Antagonistes calciques ou inhibiteurs calciques

IEC II : inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

ARA II : antagonistes des récepteurs de l'angiotensine

IDR : inhibiteurs de la rénine

SRA : système rénine- angiotensine

ATP : Adénosine-triphosphate

KATP : activateurs des canaux potassiques sensibles à l'ATP

KCOs : ouvreurs des canaux potassiques.

C* : carbone asymétrique

R : rctus

S : sinister

l : lévogyre

d : dextrogyre

α : angle de rotation observé

DRO : phénomène de dispersion optique

DC : phénomène de dichroïsme circulaire

e.e : excès énantiomérique

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

CSP : phase stationnaire chirale

CS : sélecteur chirale

Liste des figures

INTRODUCTION GENERALE

Figure 1 : structures chimiques de la thalidomide, du cromakalim, du B16 et du B26 2

Chapitre I : Hypertension Artérielle et canaux ioniques

Figure 2 : les principales classes d'antihypertenseurs et leurs mécanismes d'action	6
Figure 3 : structure chimique du hydrochlorothiazique	7
Figure 4 : structure chimique du furosémide	8
Figure 5 : représentation schématique du néphron et les sites d'action tubulaire des diurétiques	8
Figure 6 : Structures chimiques de quelques α - bloquants	9
Figure 7 : Structure chimique de l'aténolol	10
Figure 8 : Structure chimique de propanolol	10
Figure 9 : Structures chimiques quelques antihypertenseurs centraux	11
Figure 10 : Structures chimiques de Dihydralazine	11
Figure 11 : Le système Rénine-Angiotensine	12
Figure 12 : Structure chimique du captopril	13
Figure 13 : Structure chimique de candésartan	14
Figure 14 : Structure chimique de l'aliskirène	14
Figure 15 : Structure d'un canal ionique	15
Figure 16 : Les différentes conformations d'un canal ionique	16
Figure 17 : Structure chimique du diltiazem	17

Figure 18 : Architecture du canal KATP	18
Figure 19 : Quelques ouvreurs des canaux KATP	19
Figure 20 : Effet des activateurs de canaux KATP sur les fibres musculaires lisses	20
Figure 21 : Structure chimique du cromakalim	21

Chapitre II : Méthodes de séparation énantiomérique

Figure 22: Enantiomères de thalidomide	25
Figure 23 : des objets chiraux	26
Figure 24 : les carbones asymétriques de l'alanine	26
Figure 25 : la molécule d'acide ascorbique	27
Figure 26 : l'énantiomère de l'acide Mantélique	28
Figure 27 : Mise en évidence de l'activité optique d'un composé chiral	28
Figure 28 : Molécules possédant deux centres d'asymétrie donnant 4 stéréoisomères	30
Figure 29 : Interactions différentes au site actif de récepteur	31
Figure 30 : Activités biologiques différentes de couples d'énantiomères, quelques exemples	32
Figure 31 : Les différentes techniques de résolution chirale	33
Figure 32: Résolution de composés chiraux (acide lactique) par conversion en sels diastéréomères	34
Figure 33: Principe de la résolution chromatographique en phase stationnaire chirale	38
Figure 34: Principe de la reconnaissance chirale	38

INTRODUCTION GENERALE

Les molécules chirales sont depuis longtemps utilisées comme médicaments, depuis qu'elles sont extraites des végétaux et ainsi disponibles sous la forme d'un seul énantiomère. Les premiers composés chiraux préparés par synthèse, étaient prescrits sous leur forme racémique. La mise en évidence de la stéréosélectivité de l'action des médicaments a entraîné une nouvelle réglementation pour leur mise en marché : elle doit être précédée de tests d'activité biologique sur chacun des énantiomères. En effet, deux énantiomères peuvent avoir des propriétés biologiques différentes : un seul des énantiomères peut avoir un effet thérapeutique sur l'organisme, l'autre pouvant être inefficace ou toxique [1].

Ce thème est d'un intérêt majeur dans le développement de nouveaux médicaments. Cela revient à l'évènement dramatique lié à l'utilisation de la thalidomide (Fig 1). Ce dernier est commercialisé par la société pharmaceutique allemande Chemie Grunenthal en 1950 en tant que sédatif non barbiturique. Il a été utilisé pour soulager les nausées chez les femmes enceintes. Lenz et McBride ont signalé en 1961 que la thalidomide provoque des malformations congénitales graves. Ceci avait fait que la thalidomide soit retirée du marché [2]. Après, des études ont montré que la thalidomide est un mélange racémique dont l'énantiomère S est la source de l'effet tératogène, alors que l'énantiomère R est doté de l'effet sédatif [3].

C'est pourquoi le besoin de séparer et de déterminer la concentration de chaque énantiomère dans le composé absorbé, est devenu extrêmement important. Cependant serait-il possible un jour de séparer deux énantiomères d'une manière simple, rapide et exclusive de façon à ne conserver que l'énantiomère ciblé ?

Cette question postule une problématique incontournable, en effet, au cours des dernières années des efforts considérables ont été réalisés dans ce domaine qui paraît complexe. Selon la stratégie planifiée, nous avons présenté un travail afin d'illustrer et d'étudier les différentes techniques de séparation chirale. Ce choix a été dicté par la continuité d'un sujet de recherche : « chiralité et activité biologique ».

La prévalence de l'hypertension artérielle, témoigne du manque d'information de la population algérienne, sur les risques de ces comportements sur la santé. L'évolution très importante de cette pathologie inquiète les spécialistes et en particulier les cardiologues qui insistent sur la nécessité d'une sensibilisation permanente des populations à risque [4].

De nombreux médicaments antihypertenseurs sont utilisés dans le traitement de l'hypertension. Certains agissent directement sur les hormones de l'organisme qui régulent la tension artérielle, d'autres rendent les parois des artères plus souples, d'autres encore permettent d'éliminer le surplus de sel et d'eau que contient l'organisme, d'autres enfin tendent à faire diminuer la pression dans les artères. Comme leur mode d'action est différent, ces médicaments peuvent être associés pour avoir un effet plus important [5].

La relaxation des muscles lisses vasculaires est l'une des stratégies, utilisé pour le traitement de l'hypertension artérielle, les KCOs ont été proposés, selon leurs sélectivités tissulaires, comme agents antihypertenseurs, en augmentant l'activité de canaux K_{ATP} , provoquant la relaxation des vaisseaux. Le cromakalim (Fig. 1), qui existe sous forme de mélange racémique, un KCO de la classe des benzopyranes exerce une activité antihypertensive marquée. Durant de nombreuses années, le cromakalim et le levromakalim (l'énantiomère lévogyre (-) -3*S*,4*R*) qui est l'énantiomère le plus actif (approximativement 100 fois plus actif que l'énantiomère (+)), ont été considérés comme des activateurs des canaux K_{ATP} de référence pour leur activité vasorelaxante.

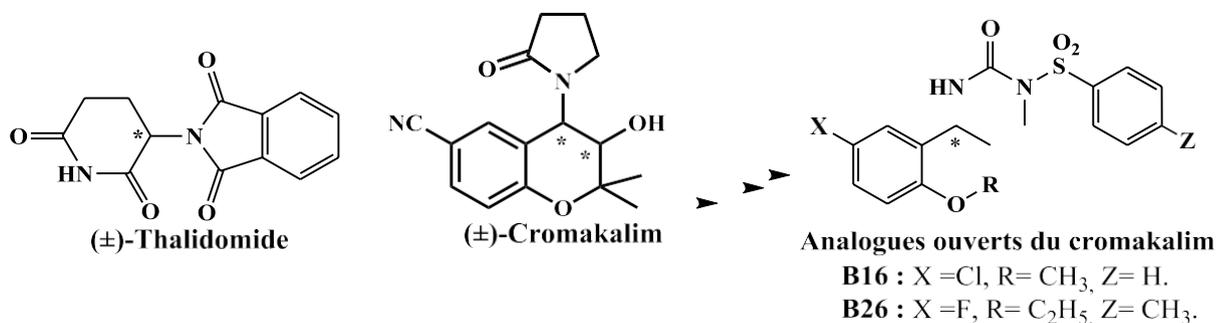


Figure 1 : Structures chimiques de la thalidomide, du cromakalim, du **B16** et du **B26**.

Récemment, deux molécules puissantes ont été découvertes comme étant des agents vasodilatateurs le **B16** et le **B26** (Fig. 1). Ces molécules sont des analogues ouverts du cromakalim, comportant une fonction sufonylurée. D'une autre part, et de point de vue strictement stéréochimique ces composés comportent un centre chiral (*) et sont donc des mélanges racémiques (50% (+) /50% (-)) [6]. Afin d'étudier l'influence de la stéréochimie de ces molécules synthétisées sur l'activité biologique [7], nous commencerons tout d'abord par une recherche bibliographique en deux chapitres :

- ✓ Le premier chapitre sera dédié à la présentation de la maladie de l'hypertension artérielle ainsi que leur différents traitements et perspectives.
- ✓ Le deuxième chapitre sera consacré à l'étude des différentes méthodes de séparation des énantiomères purs, avec une application à l'analogue ouvert du cromakalim.

I. Hypertension artérielle et canaux ioniques

I.1. Généralité

L'hypertension artérielle (HTA), que l'on appelle aussi élévation de la pression sanguine, est un état dans lequel les vaisseaux sanguins sont constamment soumis à une pression élevée. Plus la pression dans les vaisseaux sanguins est forte et plus le cœur doit travailler dur pour envoyer le sang dans les artères [8], ce qui peut conduire à son hypertrophie. L'hypertension artérielle favorise l'insuffisance cardiaque, des maladies vasculaires (athérosclérose), l'insuffisance rénale et l'accident vasculaire cérébral (l'AVC) [9]. Elle s'exprime généralement en mmHg. Cette pression artérielle est essentiellement liée à deux facteurs :

- Leur élasticité,
- Le volume de sang propulsé [8]

La pression ou tension artérielle s'exprime par deux valeurs :

- ✓ La valeur supérieure (supérieure à 140 millimètres de mercure) dite systolique (PAS) correspond à la pression dans les artères au moment où le cœur se contracte (systole) et éjecte le sang dans le réseau artériel (c'est la pression **maximale** du sang).
- ✓ La valeur inférieure (supérieure à 90 millimètres de mercure) dite diastolique (PAD) correspond à la pression dans les artères au moment où le cœur se dilate et se remplit, entre deux contractions (c'est la pression **minimale** du sang) [10].

Tableau 1 : Classification de l’hypertension (adultes >18 ans), sur une moyenne de 3 mesures effectuées à plusieurs occasions (semaines, mois) [11].

Classe	Systolique (mmHg)	Diastolique (mmHg)
Optimale	<120	< 80
Normale	120 – 129	80 - 84
Normale haute	130 – 139	85 - 89
Stade I (légère)	140 – 159	90 – 99
Stade II (modérée)	160 – 179	100 - 109
Stade III (sévère)	>180	>110
HTA systolique isolée	>140	<90

I.2. Différents traitements et perspectives

Il n'existe pas de traitement qui permette de guérir définitivement l'hypertension artérielle. Le traitement a pour but d'abaisser artificiellement la pression sanguine pour prévenir d'éventuels dommages aux organes (cœur, cerveau, reins, yeux) [12]. Le traitement de l'hypertension artérielle est de deux types :

- **Traitement non médicamenteux**

La meilleure façon de prévenir l'hypertension artérielle est de modifier ses habitudes de vie et de suivre certaines règles hygiéno-diététiques suffire en cas d'hypertension légère tel que :

1. Limitation de la consommation en sel (NaCl),
2. Réduction de consommation de sucre,
3. Favorisation des aliments contenant de bons minéraux,
4. L'arrêt du tabac, associé si besoin à un accompagnement du sevrage tabagique, le tabac augmente la pression artérielle et endommage les vaisseaux sanguins, il est essentiel de cesser de fumer même si cela demande plusieurs tentatives,
5. Réduire son niveau de stress : dormir suffisamment, pratiquer un sport ou une activité de relaxation (yoga),
6. Limiter votre consommation de caféine [13].

Ces mesures constituent la base nécessaire du traitement et permettent de retarder la prise de médicaments, voire même parfois de l'éviter [14].

- **Traitement médicamenteux**

Un traitement médicamenteux peut parfois être indispensable et il comprend différents antihypertenseurs qui sont nombreux et appartiennent à différentes classes médicamenteuses divergeant par leur mécanisme d'action et leurs effets indésirables [15].

Il existe huit grandes classes de médicaments antihypertenseurs (AHT):

1. Les diurétiques, (DIUr),
2. Les bêta-bloquants (BB),
3. Les antagonistes calciques (ou inhibiteurs calciques (ICA)),
4. Les activateurs potassiques (KCOs),
5. Les inhibiteurs du système rénine angiotensine :
 - ✓ Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, (IEC II),
 - ✓ Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA II),
 - ✓ Les inhibiteurs de la rénine (IDR),
6. Les alpha-bloquants,
7. Les vasodilatateurs à action directe,
8. Les antihypertenseurs à action centraux.

Les différents types d'antihypertenseurs diminuent la pression artérielle via divers mécanismes (Fig.2), ce qui permet d'envisager de nombreuses stratégies thérapeutiques différentes. Pour certains patients, les médecins abordent le traitement pharmacologique par étapes : Ils commencent avec un certain type d'antihypertenseur et en ajoutent d'autres si nécessaire. Pour d'autres patients, les médecins préfèrent une approche séquentielle : Ils prescrivent un antihypertenseur et, s'il s'avère inefficace, ils l'abandonnent et en prescrivent un autre d'un autre type. Si la tension artérielle est de 140/90 mm Hg ou plus, deux médicaments sont généralement commencés simultanément. Les médecins choisissent un antihypertenseur en considérant des facteurs comme :

- L'âge, le sexe, et l'origine ethnique de la personne,
- La gravité de l'hypertension artérielle,
- La présence d'autres troubles, comme le diabète ou des taux élevés de cholestérol sanguin,
- Les effets secondaires potentiels, qui varient d'un médicament à l'autre [16].

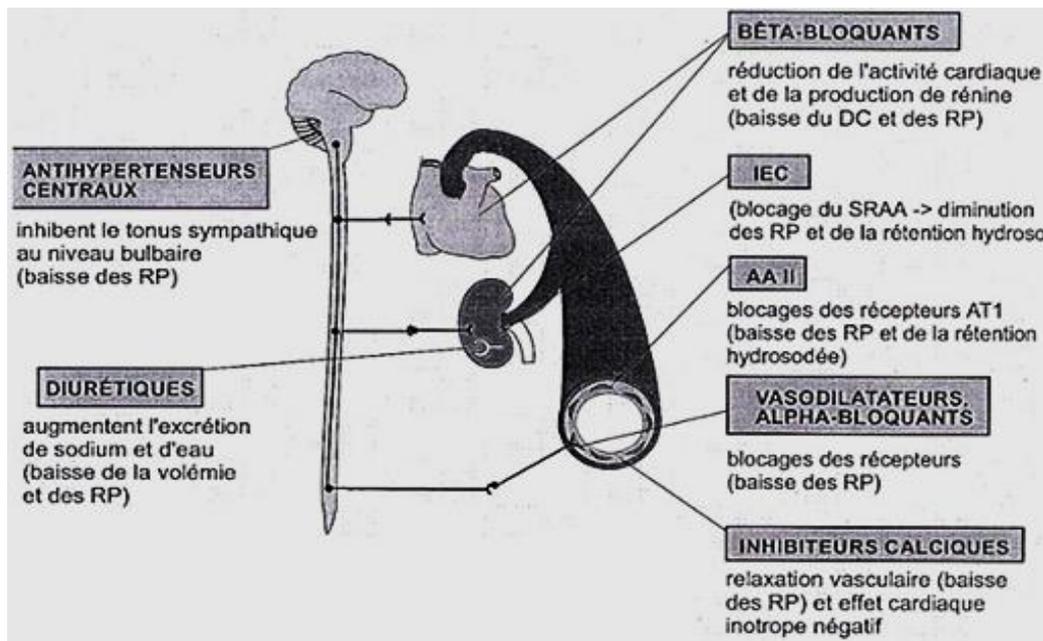


Figure 2 : Les principales classes d'antihypertenseurs et leurs mécanismes d'action [17].

La majorité des patients ont besoin de 2 médicaments ou plus pour atteindre les valeurs cibles de pression artérielle. Voici les plus couramment utilisés : (Diurétiques,

Bêtabloquants, Inhibiteurs calciques, Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et Bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine) [12].

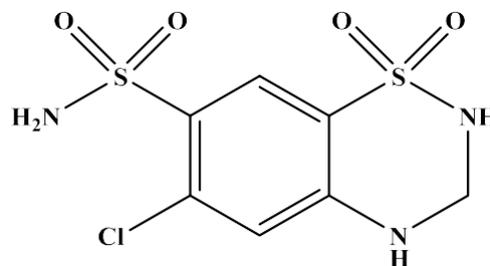
I.2.1. Les diurétiques (DIUr)

Les diurétiques diminuent la pression artérielle via une action sur l'élimination d'une partie du sodium sérique [18]. Il existe trois types principaux de diurétiques dont le site d'action se place différemment au niveau du néphron:

I.2.1.1. Les diurétiques thiazidiques et apparentés (DIUth)

- **Chef de file** : hydrochlorothiazide (Esidrex®) [19].

L'action de ces diurétiques se situe entre la branche ascendante de Henlé et le segment de dilution distal. Ils n'ont pas d'action sur la concentration urinaire proximale, mais ils inhibent la réabsorption du chlorure de sodium [20].



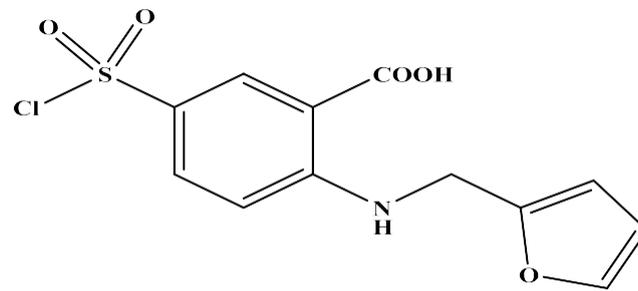
Hydrochlorothiazide

Figure 3 : Structure chimique du hydrochlorothiazide [21].

I.2.1.2. Les diurétiques de l'anse :

- **Chef de file** : furosémide (Lasilix®) [17].

Ils inhibent la réabsorption du chlore et, par suite, du sodium au niveau de la branche ascendante de l'anse de Henlé et augmentent le flux sanguin rénal [18].



Furosémide

Figure 4 : Structure chimique du furosémide [21].

I.2.1.3. Les diurétiques distaux

Leur action se fait au niveau du tube contourné distal, ils diminuent l'excrétion du potassium et d'ion H^+ et augmentent la fraction de sodium excrétée d'environ 2%. Ce sont des épargneurs potassiques, faiblement natriurétiques et contre-indiqués en cas d'insuffisance rénale [20].

I.2.1.4. Rappels physiologiques rénale

Le néphron, unité fonctionnelle du rein, remplit trois fonctions essentielles (Fig.5) : filtration glomérulaire, réabsorption et sécrétion tubulaires [22].

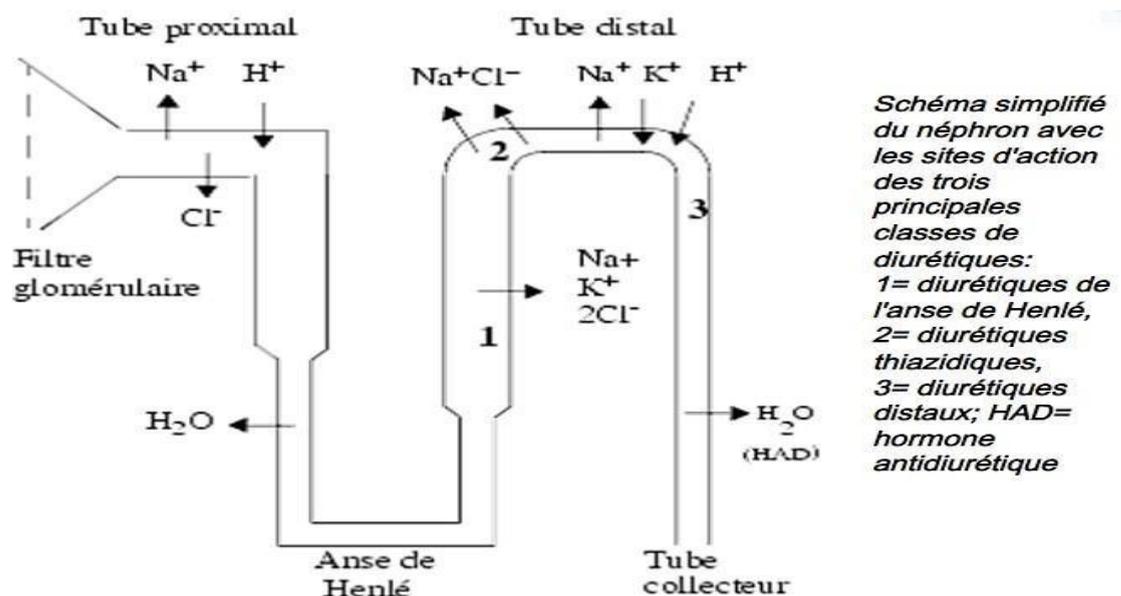


Figure 5 : Représentation schématique du néphron et les sites d'action tubulaire des diurétiques [22].

I.2.2. Médicaments à impact adrénergique

I.2.2.1. Les alphabloquants

Les alpha-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 d'alpha-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) [23].

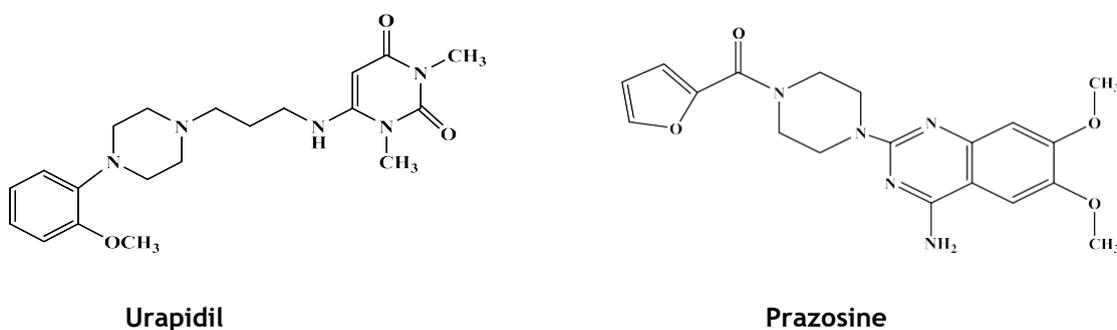


Figure 6 : Structures chimiques de quelques α - bloquants.

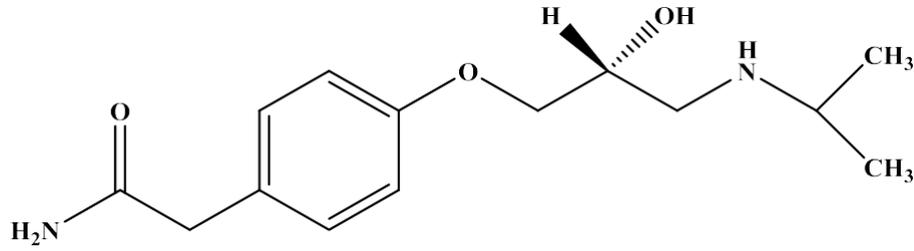
I.2.2.2. Les bêtabloquants (BB)

Les bêtabloquants agissent principalement en réduisant l'activité des catécholamines sur le cœur et en diminuant la sécrétion de rénine (ils agissent donc aussi à l'encontre du système rénine angiotensine aldostérone). Ils exercent une diminution du débit cardiaque et donc une vasodilatation.

Deux grandes familles sont disponibles :

- **Les BB cardio-sélectifs** : qui possèdent une activité bêtabloquante β_1 -sélective de cœur, limitant les effets liés au blocage des récepteurs bêta-2 (Fig. 7).
- **Les BB non sélectifs** : qui bloquent également les récepteurs bêta-2, exposant plus que les précédents aux effets indésirables de type bronchoconstriction (Fig. 8) [18].

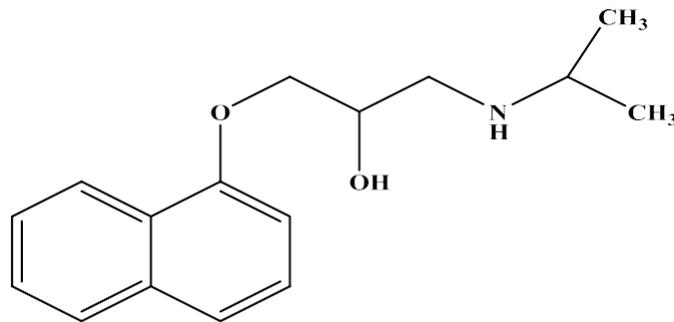
Les Beta-bloquants « cardio- sélectifs » (Béta1) les plus importants :



Aténolol

Figure 7 : Structure chimique de l'aténolol [21].

Les Beta-bloquants non sélectifs les plus importants :



Propranolol

Figure 8 : Structure chimique de propranolol [21].

I.2.2.3. Les antihypertenseurs centraux

Inhibent le système nerveux sympathique au niveau central (Fig. 9). Il s'agit principalement de l'alphaméthyl dopa, de la clonidine, de la guanfacine, de la rilmenidine, du guanoxabenz et de la moxonidine (Fig. 9). [20].

niveau de ces récepteurs. Cela a pour effet de diminuer la tension artérielle (en cas d'hypertension, par exemple) [25].

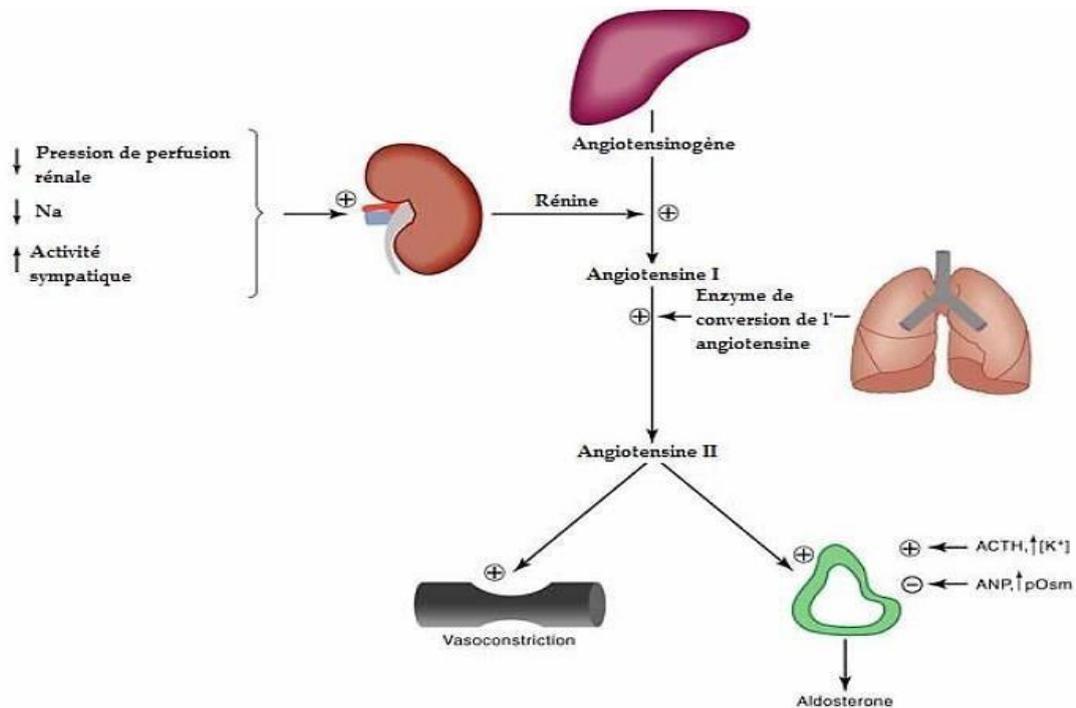


Figure 11 : Le système Rénine-Angiotensine [26].

L'angiotensinogène (produit par le foie) est clivé par la rénine (produite par le rein) en angiotensine I qui est ensuite clivée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (produite par les poumons) en angiotensine II qui induit la sécrétion d'aldostérone (par les surrénales) et la vasoconstriction (schéma 1) [27].

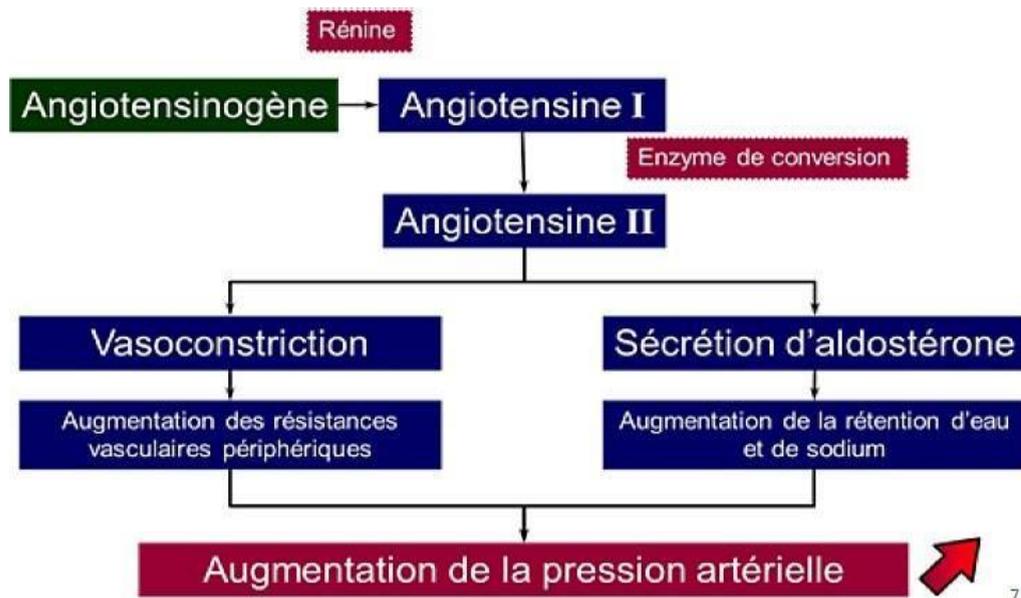
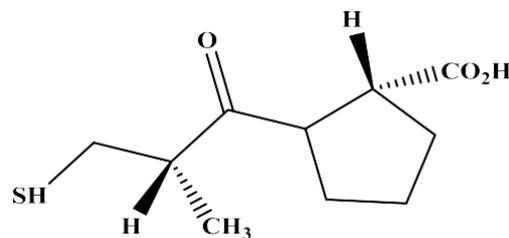


schéma 1: Mécanisme de régulation de la pression artérielle au niveau du système rénine- angiotensine.

Les médicaments inhibiteurs du système rénine angiotensine agissent à 3 niveaux :

I.2.4.1. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) diminuent la pression artérielle en partie par la dilatation des artérioles. Ils dilatent les artérioles en évitant la formation d'angiotensine II, qui provoque la contraction des artérioles. Spécifiquement, ces inhibiteurs bloquent l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II (Régulation de la pression artérielle : Le système rénine- angiotensine-aldostérone) [16].



Captopril

Figure 12 : Structure chimique du captopril.

I.2.4.2. Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA II)

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II ou sartans) diminuent la pression artérielle via un mécanisme proche de celui des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Ils bloquent l'action de l'angiotensine II directement en provoquant le rétrécissement des artérioles. Comme leur mécanisme d'action est plus direct, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II peuvent entraîner moins d'effets secondaires [23].

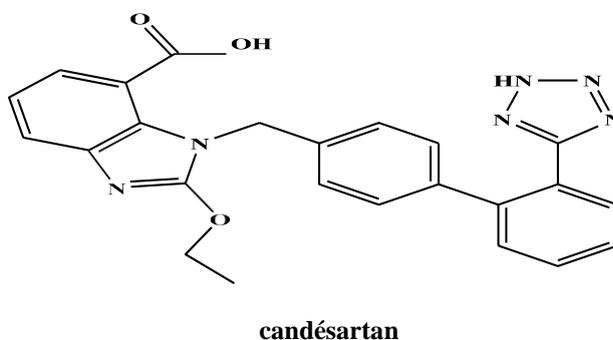


Figure 13: Structure chimique de candésartan.

I.2.4.3. Les inhibiteurs de la rénine (IR)

Possède une action inhibitrice directe et sélective de la rénine qui diminue l'activité rénine plasmatique en bloquant la conversion de l'angiotensinogène en angiotensine I et en réduisant les taux d'angiotensine I et d'angiotensine II [19].

L'aliskirène est commercialisé récemment. Il peut être utilisé seul ou en association avec d'autres antihypertenseurs.

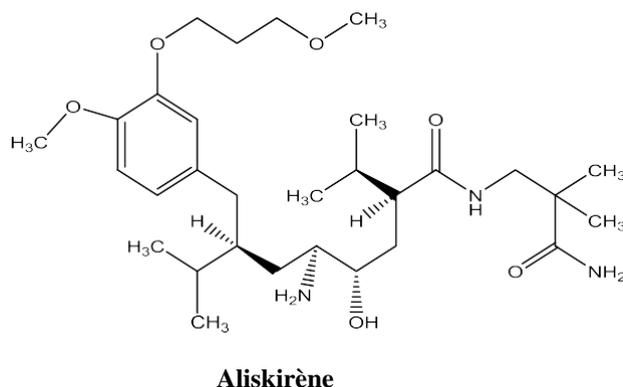


Figure 14 : Structure chimique de l'aliskirène.

Ces trois classes de médicaments agissent en limitant les effets de l'angiotensine II, qui a des propriétés vasoconstrictrices, ce qui entraîne notamment une baisse des résistances périphériques totales avec une action préférentielle sur les territoires musculaire et rénal [19].

I.2.5. Médicaments interférant avec les canaux ioniques

Les canaux ioniques sont des protéines de membrane, qui jouent un rôle principal en réglant le mouvement des ions (essentiellement le sodium, le calcium, le potassium ou l'ion chlorure) à travers la membrane plasmique. (ils sont trouvés pratiquement dans toutes les cellules). Les canaux ionique présentent souvent une sélectivité aux ions, permettant à certains ions de passer mais pas à d'autres, ou bien à plusieurs ions à la fois [28-29].

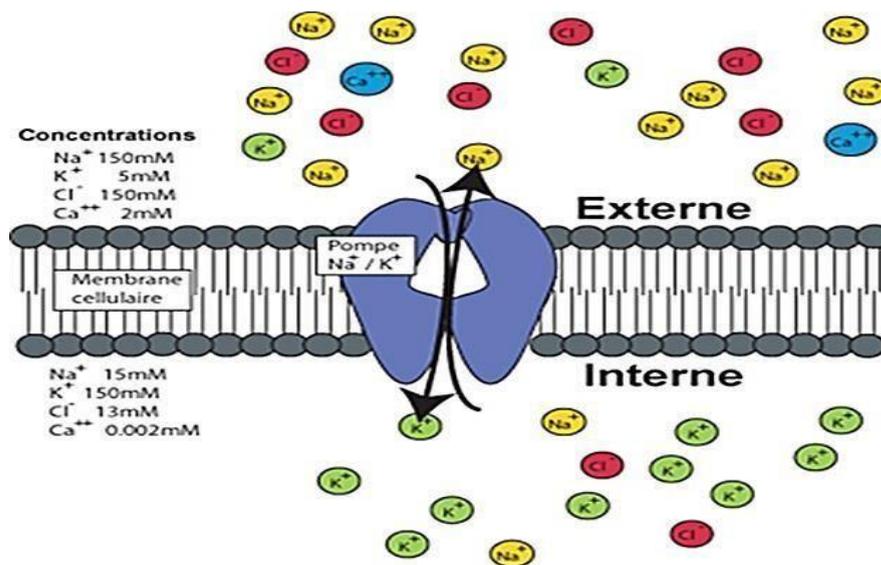


Figure 15 : Structure d'un canal ionique [30].

Les canaux ioniques sont des protéines capables de changer de conformation et d'osciller entre des états fermés, inactivés et ouverts (Fig. 16), selon des équilibres qui peuvent être caractérisés, comme pour tous les édifices macromoléculaires, par des constantes cinétiques, ou constantes de temps [31].

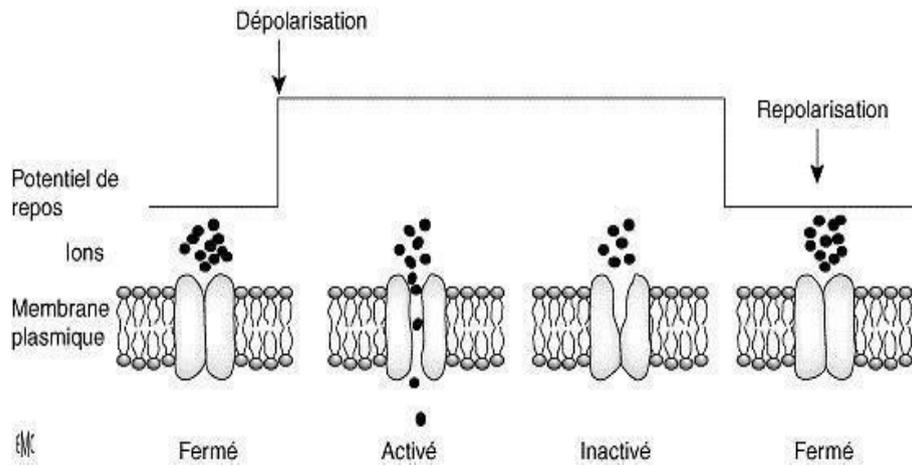


Figure 16 : Les différents conformations d'un canal ionique [32]

Les médicaments actifs sur les canaux ioniques, se divisent en deux groupes (schéma 2) :

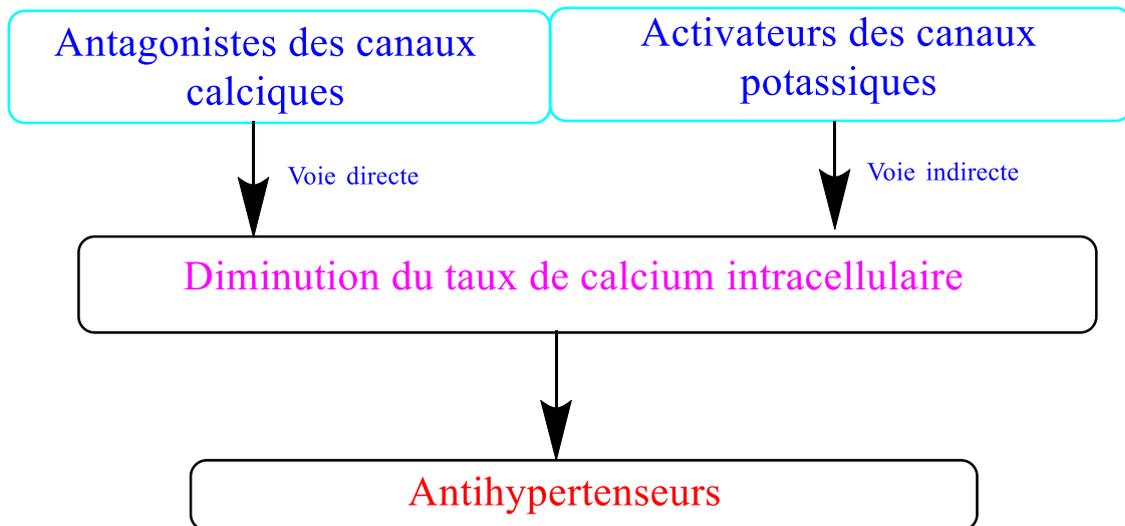


Schéma 2: Les deux groupes des médicaments vasodilatateurs qui agissent sur les canaux ioniques.

I.2.5.1. Les antagonistes du calcium ou inhibiteurs calciques

Les inhibiteurs calciques, que l'on appelle aussi des antagonistes du calcium, inhibent le transfert membranaire du calcium dans les cellules musculaires cardiaques et vasculaires.

Ils freinent la pénétration du calcium dans les cellules des parois des vaisseaux sanguins et du cœur. Cela entraîne une vasodilatation (augmentation du calibre) des artères, les inhibiteurs calciques améliorent ainsi l'oxygénation du cœur et diminuent la tension artérielle. Ils sont donc utilisés pour traiter les insuffisances coronariennes et l'hypertension

artérielle. Par ailleurs, le diltiazem permet aussi de corriger certains troubles du rythme cardiaque [33].

Le diltiazem (Fig. 17) appartient à la classe des médicaments appelés antagonistes du calcium. Il s'utilise seul ou avec d'autres médicaments pour traiter une pression artérielle élevée et l'angine de poitrine (douleur thoracique). Il agit en relâchant les vaisseaux sanguins et en réduisant l'effort du cœur. La forme injectable de ce médicament est parfois utilisée à l'hôpital pour stabiliser les troubles du rythme cardiaque [34].

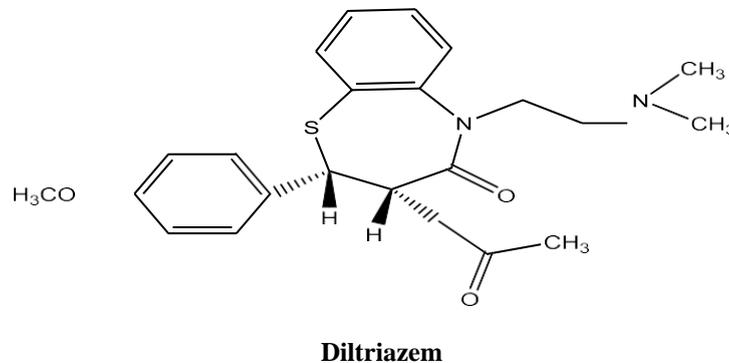


Figure 17 : Structure chimique du diltiazem.

I.2.5.2. Les activateurs des canaux potassiques K_{ATP}

Les canaux potassiques sont des protéines transmembranaires qui laissent passer les ions potassium de part et d'autre de la membrane plasmique. Ils sont exprimés dans tous les types cellulaires, des plantes à l'Homme, où ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme les potentiels d'action, le rythme cardiaque et l'absorption rénale [35].

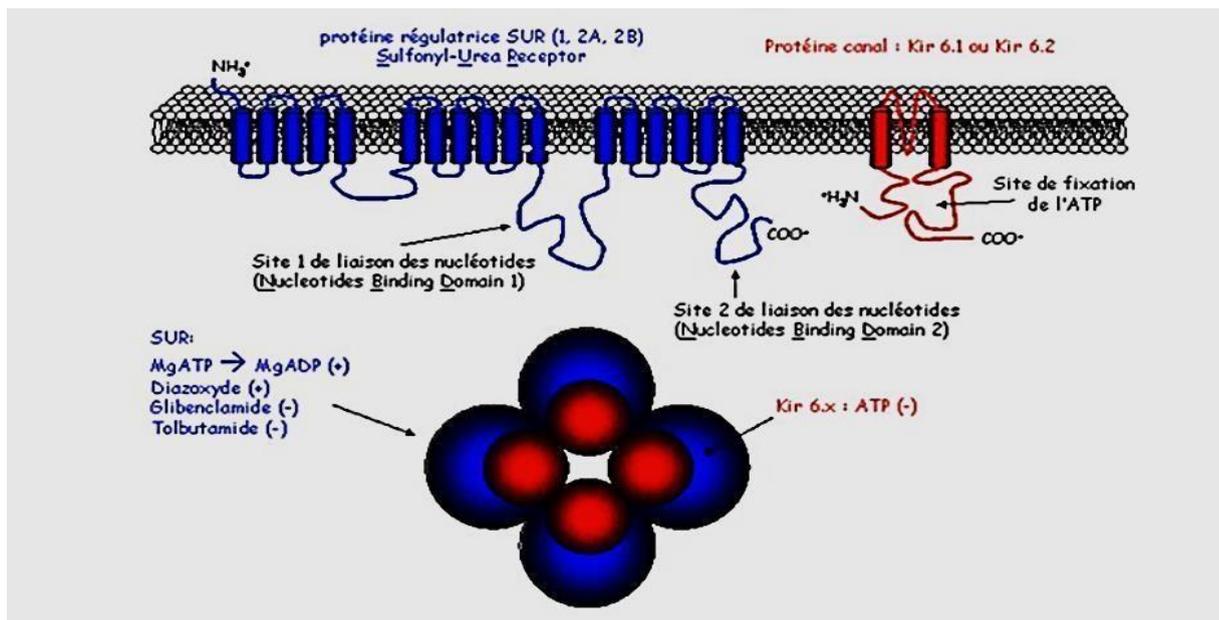


Figure 18 : Architecture du canal K_{ATP} [36].

Le nombre d'agents possédant des propriétés activatrices des canaux potassiques ATP-dépendants (KCOs : K_{ATP} channel openers) a fortement augmenté au cours de ces dernières années. Ces composés sont susceptibles de constituer de nouveaux agents thérapeutiques utiles dans le traitement de très multiples pathologies, touchant différents organes, en stimulant le flux des ions potassium à travers cette classe de canaux ioniques (Fig. 19). Ils sont chimiquement hétérogènes et ne présentent pas de pharmacophore commun. Ces composés sont généralement classés en familles suivant leur structure chimique, parmi lesquelles on trouve notamment les benzothiazidines (Diazoxide), les benzopyranes (Levcromakalim), les cyanoguanidines (Pinacidil), les thioformamides (Aprikalim), les nicotinamides (nicorandil) et les dérivés pyrimidiniques (minoxidil).

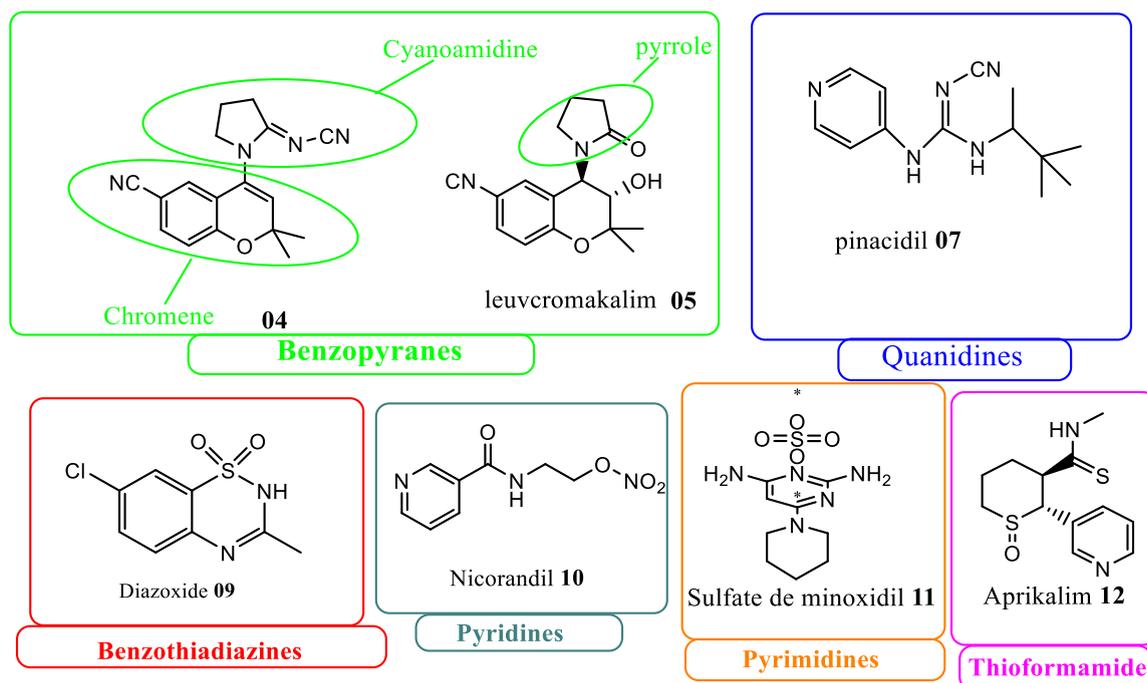


Figure 19 : Quelques ouvreurs des canaux K_{ATP} .

Les ouvreurs du canal potassique (KCOs) exercent leur effet sur les cellules sécrétoires, les neurones, les muscles lisses vasculaires et non vasculaires et les muscles cardiaques et squelettiques par l'ouverture du canal K_{ATP} et le changement du potentiel membranaire à travers l'inversement du potentiel de potassium et en réduisant l'activité électrique cellulaire. Ceci déclenche la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants, ce qui entraîne la diminution de l'entrée du calcium. La chute de la concentration du calcium intracellulaire entraîne à son tour l'inhibition de la sécrétion d'insuline, et la relaxation des muscles lisses vasculaires ce qui entraîne une hypotension (Fig. 20) [37].

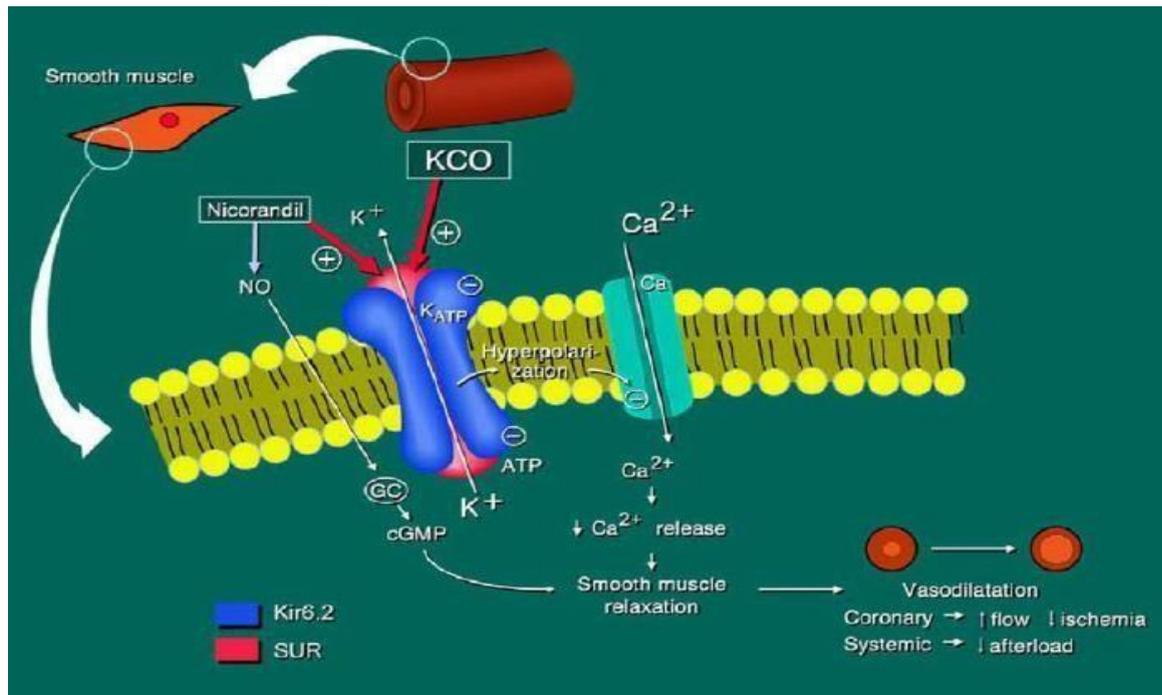
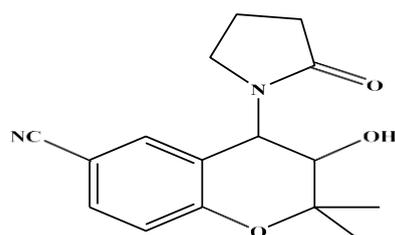


Figure 20 : Effet des activateurs de canaux K_{ATP} sur les fibres musculaires lisses [38].

I.2.5.2.1. Les benzopyranes : le cromakalim

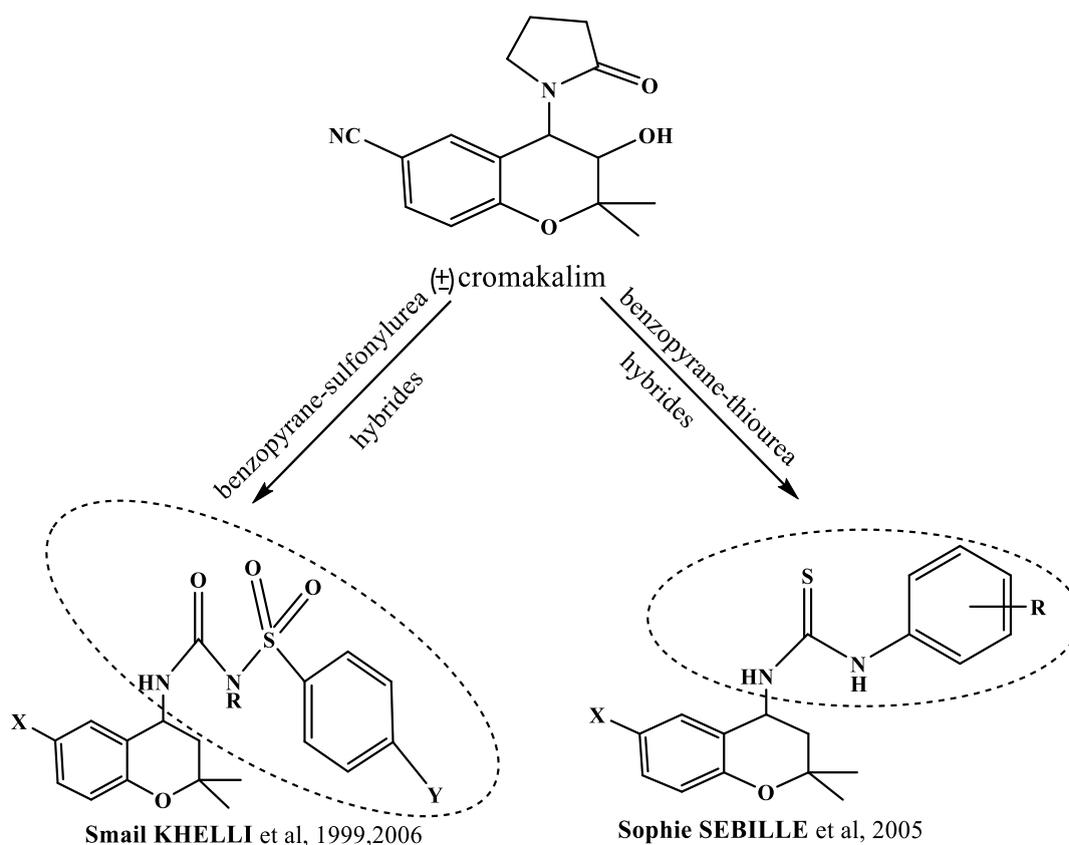
Le cromakalim (Fig.21) est le prototype de cette famille d'ouvriers des canaux K_{ATP} . Il existe sous forme de mélange racémique dont l'énantiomère levcromakalim est le plus actif. Cette molécule, présentant un effet vasodilatateur des muscles lisses vasculaires. En raison de problème de toxicité, en particulier au niveau rénal, le développement du cromakalim a été suspendu en faveur de l'énantiomère lévogyre, le BRL 38227 ou encore appelé levcromakalim [37-39].

Des études ont été réalisées pour comparer les profils hémodynamiques cardiovasculaires de l'activateur des canaux potassiques, le cromakalim (BRL 34915), avec ceux du pinacidil et du nicorandil. Le cromakalim était 10 fois plus puissant que le pinacidil comme agent antihypertenseur tandis que le nicorandil était 10 fois moins puissant que le pinacidil. Le cromakalim et le pinacidil ont une durée d'action similaire tandis que le nicorandil agit brièvement [40].

**(±)-Cromakalim****Figure 21 :** Structure chimique du cromakalim.

I.2.5.2.2. Les analogues ouverts du cromakalim

Durant de nombreuses années, plusieurs analogues du cromakalim ont été synthétisés, deux grandes séries de composés reliés structurellement au cromakalim et ses dérivés ont été synthétisés en ajoutant des fonctions hybrides comme la thiourée, l'urée ou la sulfonyluré en position 4 du cycle benzopyranique (Schéma 3). Deux types de molécules ont montré un très bon effet vasodilatateur sur l'aorte [41-42].

**Schéma 3:** Pharmacomodulations effectuées sur le Cromakalim [38-39].

Récemment, deux nouvelles séries d'analogues à cycle ouvert du cromakalim portant des sulfonylurées (Famille **A**, Famille **B**) (Schéma 4) ont été synthétisées et testées sur l'activité relaxante des muscles lisses vasculaires et respiratoires (aorte de rat et trachée, respectivement) [6].

Le composé **B26** est un racémique, donc dans le chapitre suivant on s'intéresse aux méthodes de séparation énantiomérique.

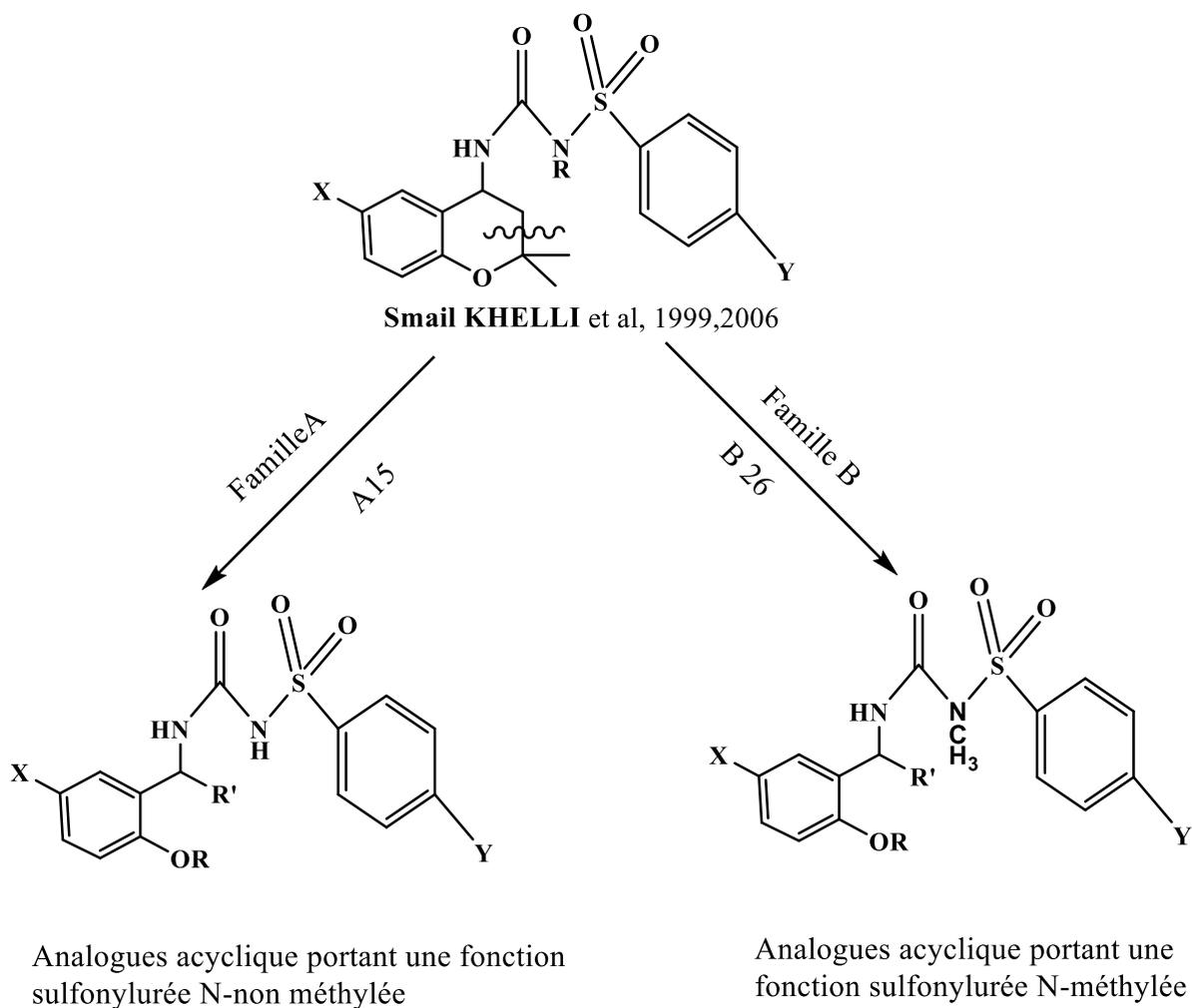


Schéma 4 : Pharmaco-modulations effectuées sur les analogues hybrides de Cromakalim [6].

II. METHODES DE SEPARATION ENANTIOMERIQUE

II.1. Introduction

La chiralité joue un rôle clé dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire dans le monde du vivant [43], Si une molécule est chirale, alors nous savons que la molécule a deux formes énantiomères (qui sont presque identiques mais sont en fait des molécules différentes) [44], Cette propriété détermine les fonctions biologiques et physiologiques des protéines, récepteurs et des différents acides nucléiques des organismes vivants ainsi que les phénomènes régulateurs du développement [45].

Des énantiomères sont des stéréoisomères de configuration, images non superposables l'une de l'autre dans un miroir, comme les deux mains (ou pieds...) D'un individu. Ces composés possèdent des propriétés physico-chimiques identiques, à l'exception de leur pouvoir rotatoire. L'énantiomère qui dévie la lumière polarisée vers la droite est dit dextrogyre (+) celui qui la dévie vers la gauche est dit lévogyre (-). Le mélange, en proportions équivalentes, des deux énantiomères est qualifié de racémique (+/-). Il peut être séparé par des techniques particulières (chimiques, enzymatiques, chromatographiques...) pour fournir chacune des deux espèces à l'état isolé [46].

La plupart des cas d'énantiomérisation concerne des composés présentant un carbone asymétrique (noté C*), c'est-à-dire porteur de quatre substituants différents. La façon dont ceux-ci s'organisent dans l'espace permet d'attribuer par convention une configuration dite absolue à chacun des énantiomères. Ces configurations sont dites le plus souvent R (rectus) ou S (sinister). En chimie des sucres et des acides aminés, ces configurations sont quelques fois dites D ou L. Dans tous les cas, la nature de la configuration adoptée par convention, sur la base d'un classement par rang de priorité des substituants (règle de Cahn, Ingold et Prelog), est indépendante du pouvoir rotatoire mesuré expérimentalement (un énantiomère de configuration S peut être lévogyre ou dextrogyre et inversement) [46].

II.2. La stéréochimie

La stéréochimie est le domaine de la chimie qui étudie les représentations tridimensionnelles des molécules, ainsi que les mécanismes de réaction en trois dimensions. La stéréoisomérisation (ou isomérisation stérique) se rapporte donc aux molécules, dont la structure en deux dimensions (l'enchaînement des atomes) est identique, mais l'arrangement spatial est différent. Ces molécules sont appelées des stéréoisomères [47].

II.2.1. La chiralité et la vie

Les travaux de Malus, de Biot, de Mitscherlich, puis de Louis Pasteur conduisirent à la découverte de la dissymétrie moléculaire, qui fut ensuite nommée chiralité par Lord Kelvin. L'importance de la chiralité pour l'activité thérapeutique des médicaments et sur leur toxicité fut progressivement mise en évidence [48].

Le rôle joué par la chiralité dans la vie fut reconnu très tôt. Les sucres et les acides aminés permirent en particulier de comprendre l'importance de la structure spatiale dans les processus biologiques. On avait bien constaté que des alcaloïdes de Solanaceae, par exemple, comme l'atropine racémique et l'hyoscyamine lévogyre, ne différaient que par leur stéréochimie et que cela expliquait l'activité pharmacologique supérieure de l'hyoscyamine, mais on continua longtemps à mettre sur le marché, sans précaution particulière, des médicaments dont le principe actif était à l'état de mélange racémique. On se doutait bien que l'un des énantiomères, pur, aurait pu manifester une activité supérieure, mais on n'imaginait pas que l'autre énantiomère pouvait s'avérer beaucoup plus toxique [48].

Dans le domaine médical par exemple, la thalidomide est administrée aux femmes enceintes pour réguler leurs nausées en début de grossesses. La thalidomide est une molécule chirale dont l'énantiomère S est un calmant doux (Fig. 22), alors que l'énantiomère R n'a aucun effet comme calmant, mais est tératogène (qui conduit à des malformations irréversibles chez les nouveau-nés). Il semblerait que le médicament soit administré sous forme d'un mélange racémique et à cette époque on ne connaît pas les effets secondaires irréversibles de ce tranquillisant. Les premiers cas de malformation apparaissent en 1962 en Allemagne puis en Grande-Bretagne. Il a fallu beaucoup de temps pour répertorier tous les cas, les analyser et comprendre d'où venait le problème avant d'enlever la Thalidomide du marché [49].

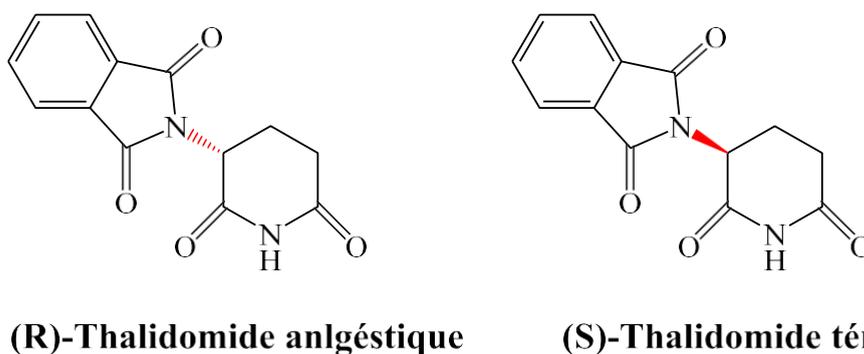


Figure 22 : Enantiomères de thalidomide [47].

II.2.2. Chiralité et carbone asymétrique

La chiralité d'une molécule ou de n'importe quelle forme indique le fait qu'elle ne peut être superposée d'aucune façon à son image dans un miroir. Un objet présentant cette propriété est dit chiral. Une illustration simple est celle d'une paire de gants. Le mot chiral vient d'ailleurs du mot grec signifiant la main (Fig. 23) [50].

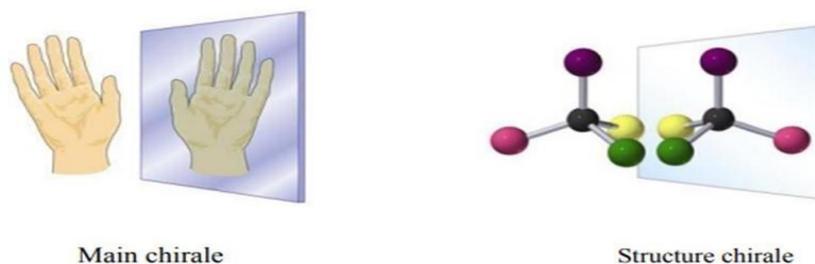


Figure 23: Exemples des objets chiraux.

La notion de chiralité s'applique également aux molécules en trois dimensions. En revanche, une molécule plane (Les carbones des liaisons doubles ou triples par exemple ne seront pas non plus des centres chiraux car ils ne peuvent pas avoir de liaisons avec quatre groupes différents). Les deux formes chirales d'une molécule, sont appelées énantiomères. Aussi proches soient-elles ces molécules peuvent avoir des propriétés différentes [51].

Les molécules chirales contiennent généralement au moins un atome de carbone hybridé (sp^3) lié avec quatre substituants non identiques. Un tel atome de carbone est appelé un centre chiral (ou parfois un centre stéréogène), en utilisant le langage organique. Toute molécule qui contient un centre chiral sera chirale (à l'exception d'un composé méso). Par exemple, le composé montré ici contient un atome de carbone avec quatre substituants non identiques; cet atome de carbone est un centre chiral, et la molécule elle-même est chirale, car elle n'est pas superposable à son image miroir (Fig. 24) [52].

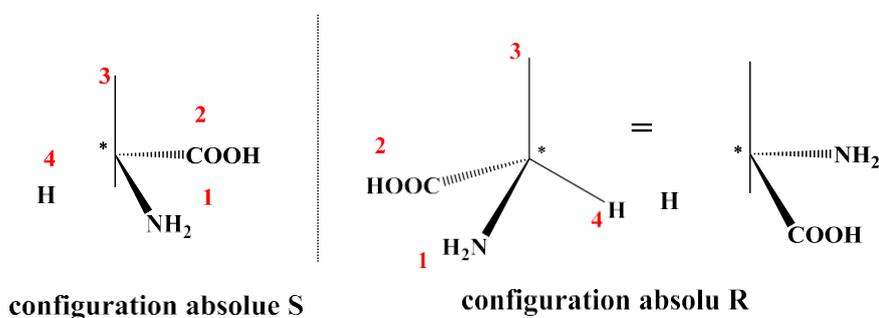


Figure 24 : Les carbones asymétriques de l'alanine.

Lorsqu'il y a plusieurs atomes de carbone asymétriques dans la molécule, celle-ci peut être chirale comme l'acide ascorbique ou bien achiral car la chiralité est une propriété globale de la structure (Fig. 25) [52].

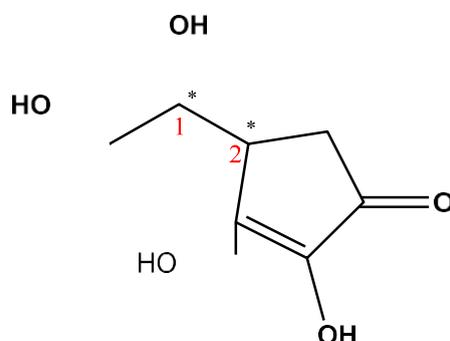


Figure 25 : La molécule d'acide ascorbique.

Un mélange racémique est un mélange de composés organiques appelés énantiomères. Ce mélange contient des quantités égales d'énantiomères gauches et droitiers. Les énantiomères sont des isomères optiques qui sont des images miroir non superposables les uns des autres. Ils ne sont pas identiques car ils ne sont pas superposables [53].

Ce mélange racémique est optiquement inactif en raison de la présence d'une quantité égale d'images miroir non superposables. Comme ce mélange est optiquement inactif, il n'y a pas de rotation nette de la lumière polarisée en plan qui passe à travers un mélange racémique. Bien que les deux types d'énantiomères font tourner la lumière dans des directions opposées [53].

II.2.2.1. Propriétés physico-chimiques des énantiomères

Les énantiomères sont des stéréoisomères, c'est-à-dire des molécules ayant la même formule moléculaire mais dont l'arrangement dans l'espace est différent. Dans la plupart des cas, deux énantiomères possèdent les mêmes propriétés physiques (température de fusion et d'ébullition, masse volumique, solubilité dans l'eau et dans les solvants organiques ordinaires) et chimiques. La seule différence entre ces deux molécules est l'activité optique ou pouvoir rotatoire qui a la même valeur numérique pour les deux entités mais de signe opposé. [50], si le pouvoir rotatoire de l'un vaut α alors celui de l'autre énantiomère vaudra $-\alpha$ [51], propre aux molécules chirales. Les molécules achirales ne possédant pas d'activité optique. Leurs propriétés physico-chimiques identiques ne permettent pas de les séparer facilement par des techniques ordinaires [54].

Si $\alpha = 0$, soit la molécule est achirale, soit il s'agit d'un mélange racémique, par exemple, l'acide mandélique (Fig. 26).

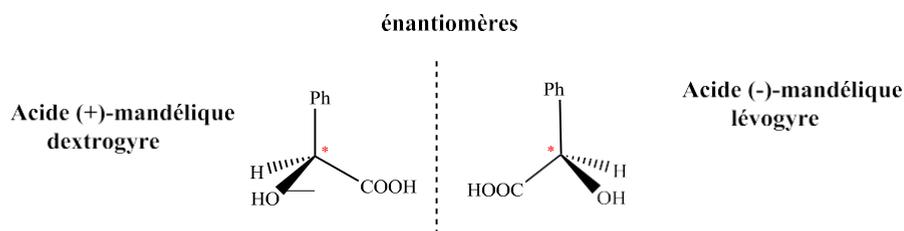


Figure 26 : Les énantiomères de l'acide mandélique.

Par contre les diastéréoisomères chiraux sont optiquement actifs et ont des propriétés physiques différentes (températures de changement d'état, densité...) et sont donc facilement séparables [55].

II.2.2.3. Activité optique (ou pouvoir rotatoire)

L'activité optique est la propriété que possède une structure chirale d'interagir avec un rayonnement électromagnétique. Elle se manifeste par l'existence du pouvoir rotatoire, le phénomène de dispersion optique (DRO), le dichroïsme circulaire (DC) et la polarisation circulaire d'émission. Le terme chiroptique qualifie les techniques optiques utilisées pour l'étude de la chiralité des molécules. Il s'applique, à la polarimétrie, aux mesures de la dispersion rotatoire optique et du dichroïsme circulaire [56].

Mise en évidence expérimentale l'activité optique se manifeste à l'état solide, à l'état liquide ou pour des substances dissoutes. Dans ce qui suit on s'intéresse au dernier cas [56]. D'après la figure 27, la mesure de l'angle « α » correspond à la rotation optique observée. Sa valeur dépend de la concentration du substrat présent dans la cellule, du solvant, de la longueur d'onde, de la température et de la longueur de la cuve.

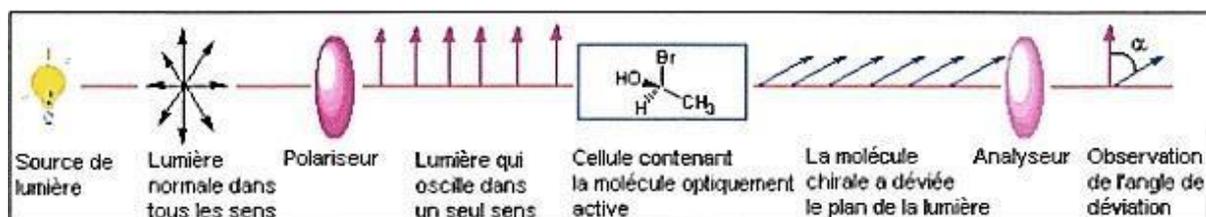


Figure 27 : Mise en évidence de l'activité optique d'un composé chiral [57].

Pour le calcul du pouvoir rotatoire spécifique d'un composé optiquement actif on utilise la loi de BIOT :

$$\alpha = [\alpha]_D \cdot l \cdot C$$

$$[\alpha]_D = \alpha / l \cdot C$$

Avec :

- α : angle de rotation observé en degrés ($^{\circ}$),
- l : longueur de la cuve en dm,
- C : concentration de la solution en g.L⁻¹,
- $[\alpha]_D^T$: pouvoir rotatoire spécifique défini à une température T et mesuré pour une longueur d'onde donnée λ , exprimée en $^{\circ} \cdot L \cdot g^{-1} \cdot dm^{-1}$ [58].

II.2.2.4. Enantiométrie et activité optique

La plupart des énantiomères possèdent des propriétés physicochimiques identiques, à l'exception de leur pouvoir rotatoire. Deux énantiomères purs font dévier le plan de la lumière polarisée d'une valeur égale mais en sens opposé. On dit que ces molécules sont optiquement actives ou douées de pouvoir rotatoire :

- L'énantiomère faisant tourner le plan de polarisation de la lumière vers la droite est dit dextrogyre, noté (*d*) ou (+); (« qui tourne à droite », en latin dextro : droite),
- Celui faisant tourner le plan vers la gauche est dit lévogyre, noté (*l*) ou (-) ; (« qui tourne à gauche », en latin laevus : gauche),
- Un mélange racémique est optiquement inactif car il contient les deux énantiomères en quantité équimolaire et a un pouvoir rotatoire nul. Le "racémique" est noté (\pm) [59].

II.2.2.4.1. La pureté énantiomérique :

Elle représente le pourcentage de l'énantiomère majoritaire dans un mélange d'énantiomères. Elle s'exprime par la relation suivante :

$$\text{P.e. (R) (\%)} = \frac{[R]}{[R]+[S]} \times 100$$

Où [R] et[S] sont les concentrations respectives des deux énantiomères [60].

II.2.2.4.2. L'excès énantiomérique

Ce terme exprime l'excès de l'un des énantiomères par rapport à l'autre et est défini de la manière suivante [61].

$$\text{e.e. (R) (\%)} = \frac{[R] - [S]}{[R] + [S]} \times 100$$

II.2.2.5. La diastéréoisomérisation

Les diastéréoisomères sont des composés ayant deux ou plusieurs centres asymétriques. Ils se réfèrent à tous les autres stéréoisomères qui ne sont pas images l'un de l'autre dans un miroir, comme les isomères géométriques (Cis ou Z-isomère; Trans ou E- isomère) et les isomères méso. La plupart de leurs propriétés sont différentes, y compris leur activité optique et ils se comportent par conséquent comme deux substances chimiques différentes qui peuvent être séparées par des techniques chromatographiques courantes, comme pour un composé achiral (molécule possédant un centre de symétrie et une image miroir superposable) [62].

Le nombre de carbones asymétriques nous donne le nombre de stéréoisomères de la molécule, en effet, Une molécule possédant n centres d'asymétrie donne naissance à 2^n stéréoisomères et 2^{n-1} couples d'énantiomères (Fig. 28) [63-60].

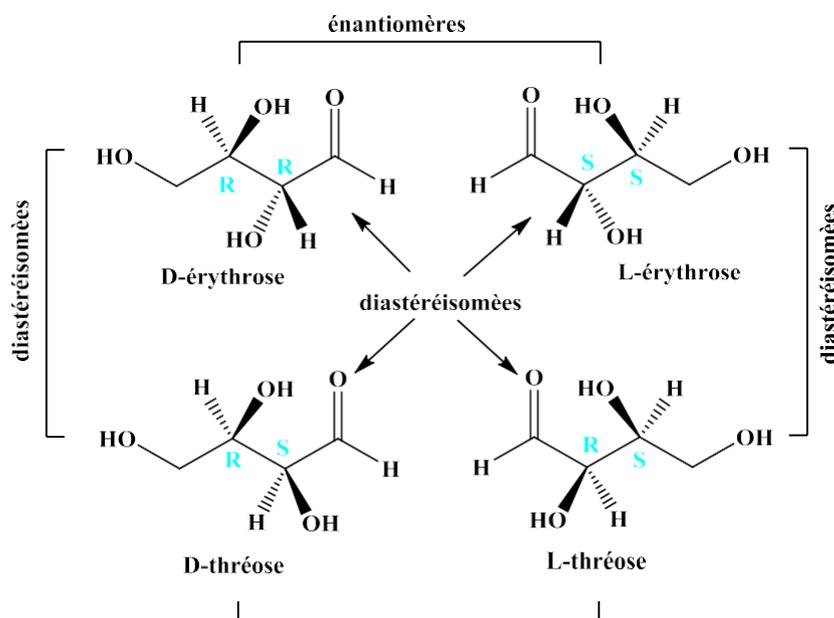


Figure 28 : Molécules possédant deux centres d'asymétrie donnant 4 stéréoisomères [64].

II.3. Propriétés pharmacologiques des énantiomères

Au début du 20^{ème} siècle, Ehrlich a noté l'importance des rapports entre la structure d'une substance et son activité. Mais c'est à partir de 1984 que Ariens soulignait l'importance de la stéréoisomérie en pharmacologie [65]. En considérant que les énantiomères possèdent des propriétés chimiques identiques vis-à-vis d'un réactif non chiral. Par contre, vis-à-vis d'un récepteur chiral, leur réactivité peut être très différente (une chaussure droite distingue un pied droit d'un pied gauche, alors qu'une chaussette ne le fait pas). Cela induit des propriétés biologiques très différentes voire opposés. Pour qu'une molécule ait un effet biologique, elle doit interagir avec un site récepteur particulier dans l'organisme (membranes, enzymes...). Les systèmes biologiques récepteurs sont eux-mêmes chiraux car ils sont constitués de molécules chirales (protéines glucides, acides nucléiques...), ils interagissent différemment avec les deux énantiomères d'une molécule chirale externe (fig.29) [59].

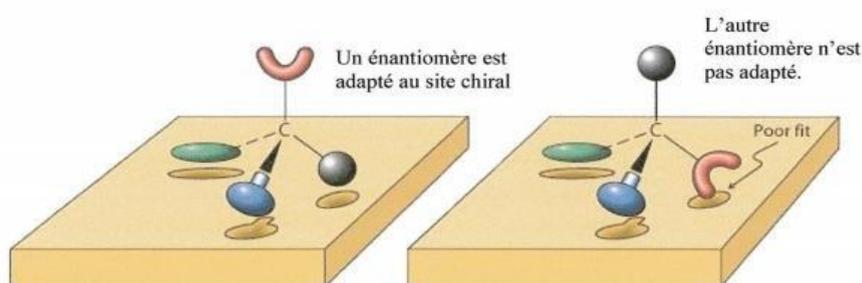


Figure 29 : Interactions différentes au site actif de récepteur [59].

Souvent un seul énantiomère, l'énantiomère actif, a une activité pharmacologique alors que l'autre énantiomère est inactif et peut au contraire conduire à l'apparition d'effets secondaires. Ainsi, cet énantiomère toxique peut être considéré comme une impureté importante (50 %) d'un mélange racémique selon ARIENS (1984).

En effet, les activités biologiques de deux énantiomères peuvent être différentes comme le montrent les différents exemples de la Figure 30 [54].

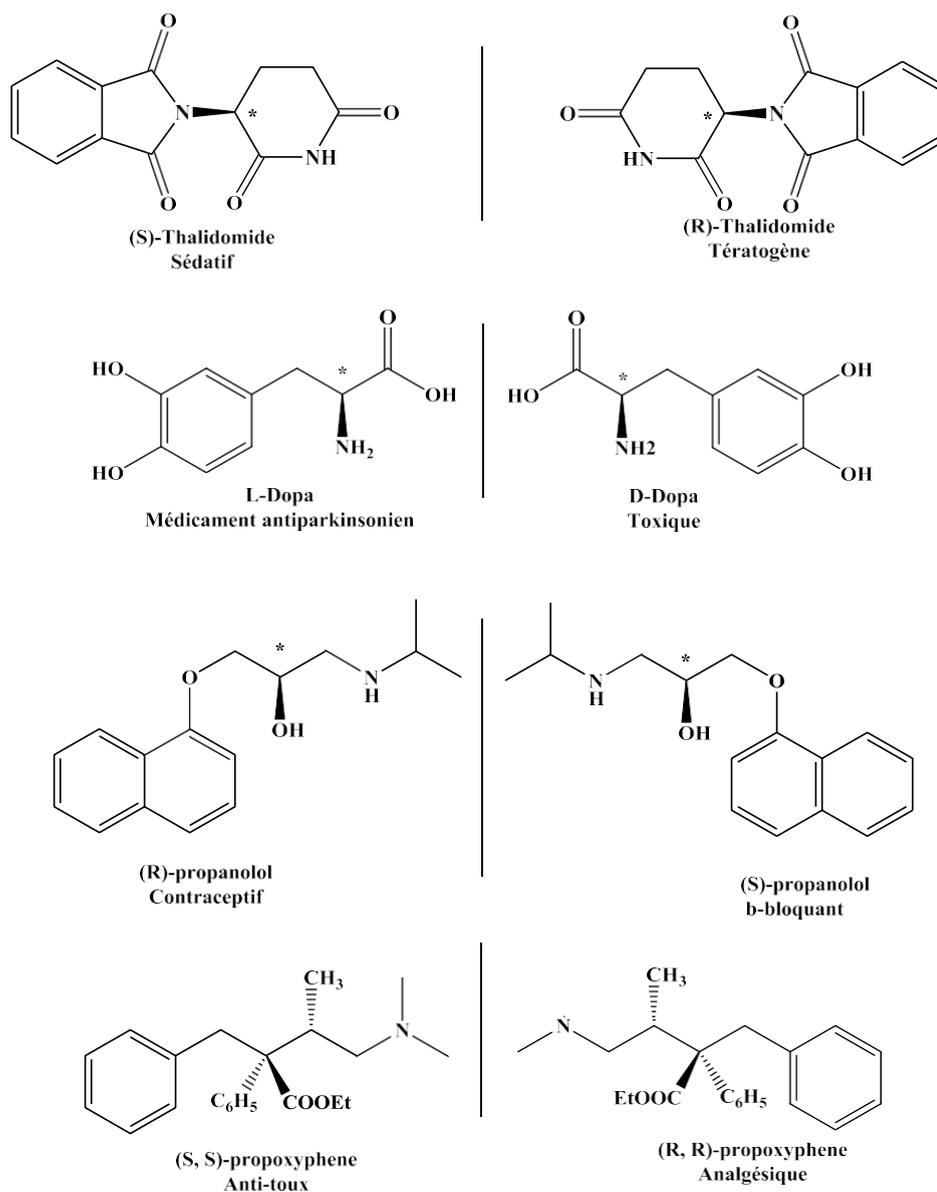


Figure 30 : Activités biologiques différentes de couples d'énantiomères, quelques exemples [66].

II.4. Les différentes techniques de la séparation énantiomérique

La séparation d'un mélange contenant des quantités égales d'une paire d'énantiomères (mélange racémique) est appelée résolution ou encore dédoublement racémique [67].

Il existe différentes méthodes pour séparer un mélange racémique : La séparation mécanique ou triage manuel, la cristallisation (préférentielle ou cristallisation de sels de diastéréoisomères), la séparation par chromatographie chirale, la résolution cinétique (Fig. 31).

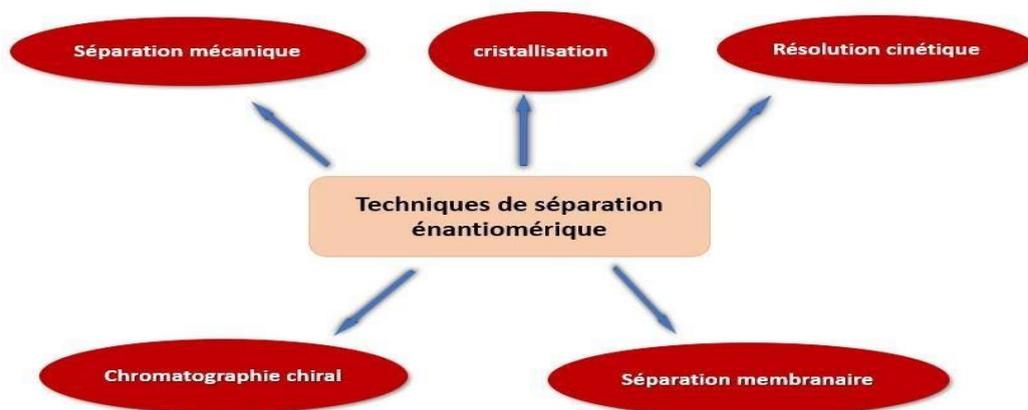


Figure 31 : Les différentes techniques de résolution chirale.

II.4.1. La séparation mécanique ou triage manuel

Employer par PASTEUR en 1848, cette méthode consiste à dissoudre le racémique dans un solvant adéquat et à le recristalliser soigneusement. Il peut alors arriver que les deux énantiomères cristallisent sous deux formes différentes (symétriques par rapport à un plan), on les trie à la pince et au microscope [67].

II.4.2. La cristallisation

La cristallisation a été utilisée pour isoler des produits solides des impuretés formés durant leur synthèse. Cette méthode peut être appliquée pour la séparation des énantiomères d'un mélange racémique sous forme de conglomérat (deux énantiomères dans deux unités de cellule différente du cristal).

La cristallisation est divisée en deux classes :

- Cristallisation par formation de sel diastéreoisomère ;
- Cristallisation préférentielle.

II.4.2.1. La cristallisation préférentielle ou sélective

La cristallisation préférentielle est une méthode utilisée à l'échelle industrielle, elle repose sur la cristallisation de l'un des deux énantiomères par l'ajout des cristaux purs de cette énantiomère à cristalliser, tandis que l'autre énantiomère reste sursaturé en solution [68]. Il s'agit d'une méthode qui n'est applicable qu'avec certains racémiques appelés conglomérats. Ils ont la particularité de former des cristaux non identiques ne renfermant qu'un seul des énantiomères. Seulement 20 % des racémiques possèdent cette propriété. Cette technique

Les sels obtenus sont des diastéréoisomères et ont des propriétés différentes. La propriété la plus souvent utilisée pour effectuer la séparation est la solubilité. Le mélange de sels diastéréoisomères est cristallisé dans un solvant approprié. Puisque les solubilités sont différentes, les premiers cristaux formés sont enrichis en un diastéréoisomère (Fig. 34). A ce stade, une filtration permet déjà d'effectuer une résolution partielle. Malheureusement, les différences de solubilité sont rarement suffisantes pour permettre une séparation totale en une seule cristallisation. Habituellement, le long et fastidieux procédé de la cristallisation fractionnée doit être utilisé.

Une fois que les deux diastéréoisomères ont été séparés, il est facile d'isoler l'amine optiquement pur et l'acide, récupéré, peut à nouveau être utilisé (Schéma 5) [70].

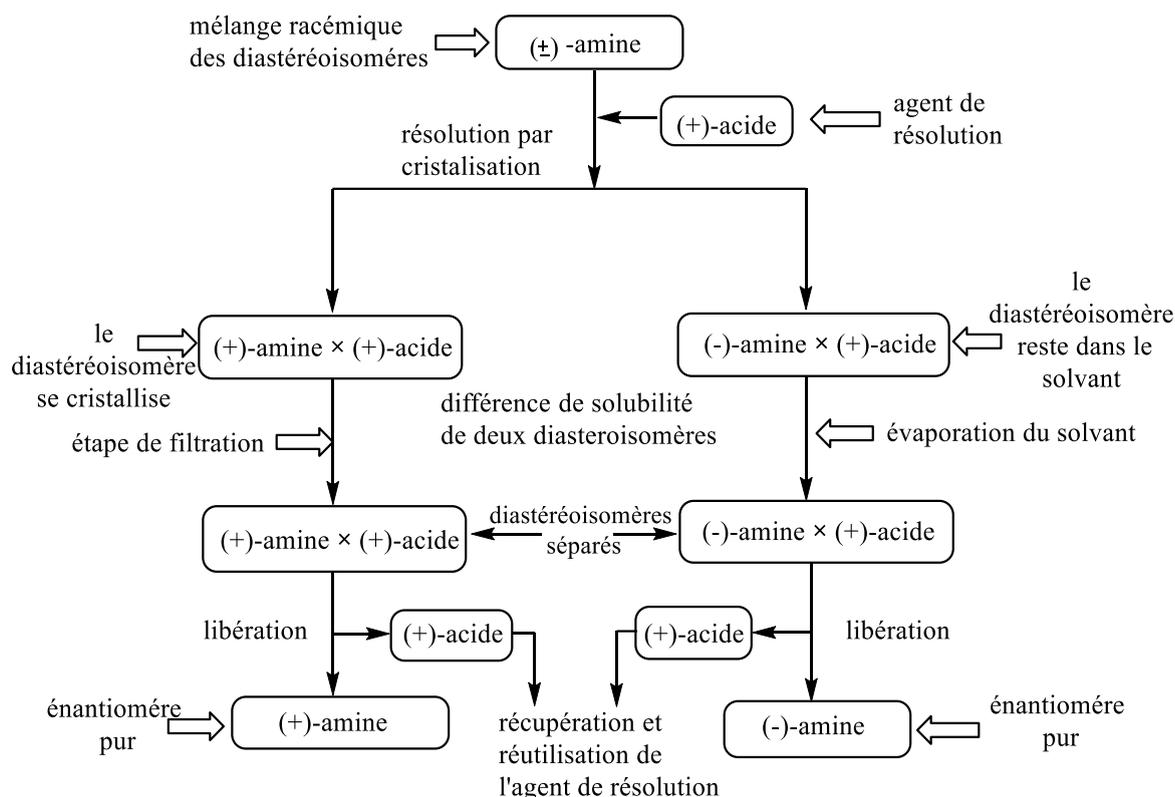


Schéma 5: Principe de la résolution par formation de sels diastéréoisomères [68].

Lorsqu'une molécule ne contient pas de groupe carboxylique, elle peut être convertie en un acide carboxylique avant la réalisation de la résolution. Cependant, le principe de conversion en diastéréoisomères n'est pas limité aux acides carboxyliques, d'autres groupements fonctionnels peuvent être couplés à un réactif optiquement actif. Les bases racémiques peuvent être salifiées avec un acide optiquement actif. Les alcools peuvent être convertis en esters diastéréoisomères, les aldéhydes en hydrazones diastéréoisomères, etc... [70].

Bien que la cristallisation fractionnée soit une méthode fréquemment utilisée pour la séparation de diastéréoisomères, elle reste fastidieuse et limitée aux formes solides. La distillation fractionnée n'a donné que de faibles séparations, mais la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie liquide se sont révélées très utiles et, dans de nombreux cas, ont supplanté la cristallisation fractionnée, en particulier lorsque les quantités à résoudre sont faibles [70].

II. 4.3. La séparation membranaire

La technique de discrimination chirale par des membranes a été explorée il y a une quinzaine d'années et peut être divisée en deux catégories :

- Soit la séparation est « directe » sur une membrane « intrinsèquement » énantiosélective.
- Soit la séparation se produit par l'intermédiaire d'une membrane non sélective assistant le processus énantiosélectif, c'est le cas des membranes liquides comportant un transporteur chiral [71].

II.4.4. La résolution cinétique

II.4.4.1. La voie chimique

La différence de vitesse de réaction de chaque énantiomère avec un réactif chiral est également utilisée comme autre moyen de résolution. En effet, les énergies des états de transition de chaque diastéréoisomères sont différentes, car les deux états sont diastéréoisomères, d'où la différence de vitesse. Si la réaction est conduite avec une proportion de réactif inférieure aux conditions stœchiométriques, il s'en suit un enrichissement dans les produits et dans le mélange n'ayant pas réagi [57].

II.4.4.2. La voie biologique

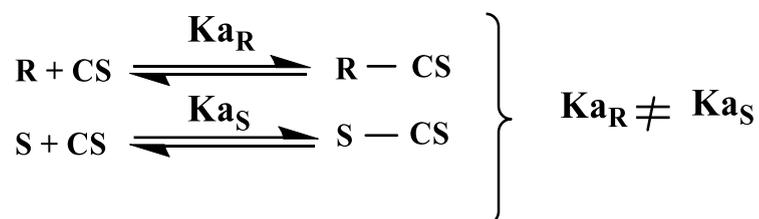
On peut également utiliser des catalyseurs chiraux (les enzymes par exemple) pour résoudre un racémique. Les enzymes peuvent donner un grand nombre de réactions ; ce sont des catalyseurs très efficaces et hautement sélectifs. Dérivant des acides aminés L naturels, ce sont des composés optiquement purs et généralement un des énantiomères du substrat est nettement plus réactif que l'autre. La catalyse enzymatique est fondée sur une adaptation tridimensionnelle de la molécule sur un site actif [57].

II.4.5. La chromatographie chirale

La chromatographie chirale est une technique très importante pour l'étude des molécules chirales grâce à la séparation analytique et préparative des énantiomères. Elle permet au niveau analytique de mesurer des excès énantiomériques et au niveau préparatif d'isoler des énantiomères purs [72].

Le principe de la chromatographie chirale repose sur la formation de diastéréoisomères labiles entre un sélecteur chiral et chacun des énantiomères. Le succès de la séparation des énantiomères repose sur la différence d'énergie des deux complexes diastéréo- isomériques labiles. Cette formation de diastéréoisomères passe par la reconnaissance de forme, qui implique les interactions intermoléculaires où aucune liaison covalente n'est établie entre les espèces qui interagissent [73]. La Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) sur colonne chirale est utilisée industriellement pour la séparation de mélanges racémiques [69].

La chromatographie énantiosélective en CSP repose sur la différence d'adsorption des énantiomères par une phase stationnaire chirale (adsorbant énantiométrique) comprimée dans une colonne percée par un éluant. Autrement dit, la phase stationnaire chirale est greffée par un sélecteur chiral (CS) immobilisé physiquement ou chimiquement. Ce dernier est réagi avec les énantiomères par des liaisons non covalentes pour former des adsorbats Diastéréoisomères. La stabilité des deux adsorbats sont différentes ce qui facilite la séparation [68].



L'énantiosélectivité est exprimée par le facteur de rétention k' : $k' = [(t-t_0)/t_0]$ où t est le temps de rétention de l'énantiomère, et t_0 le temps de rétention d'un analyte. Le rapport des facteurs de rétention des énantiomères reflète le degré de séparation de la chromatographie qui est décrit par le facteur de séparation ou sélectivité chromatographique $\alpha = k'_2 / k'_1$. Une sélectivité égale à 1 signifie que la séparation n'était pas réalisée (Fig. 33) [68].

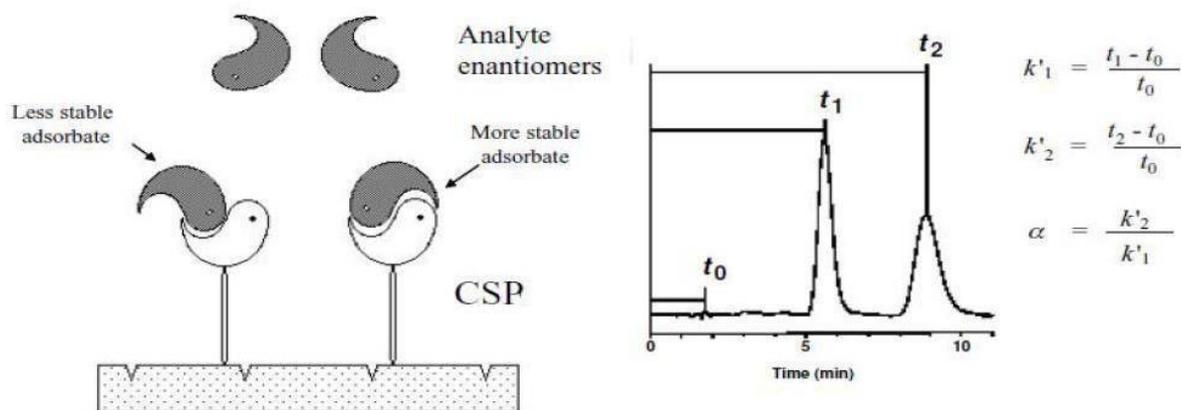


Figure 33 : Principe de la résolution chromatographique en phase stationnaire chirale [68].

La résolution par chromatographie liquide passe par plusieurs étapes successives dont le choix de CSP est l'étape clé avant toute résolution. La suite de la séparation peut être améliorée par le contrôle du reste des paramètres tels que le débit, la température et la phase mobile. La stratégie générale de la résolution chromatographique est la suivante [68] :

Sélection du CSP approprié dans un système de criblage analytique



Optimisation de la sélectivité et du temps de rétention



Optimisation du débit de la chromatographie



Séparation préparative des énantiomères



Isolement et caractérisation chiroptique



Études de la racémisation, du métabolisme, de la pharmacocinétique, et de la toxicité.

Même s'il existe plusieurs types de chromatographie, la chromatographie liquide à Haute performance (HPLC) est la plus utilisée dans le développement des médicaments [68].

II.4.5.1. La phase stationnaire chirale

La phase stationnaire chirale est l'élément le plus important dans la chromatographie. Aujourd'hui des centaines de CSP sont commercialisées à fin d'améliorer la reconnaissance chirale entre le sélecteur chiral et les énantiomères à séparer (Fig 34), et par conséquence l'amélioration de l'énantiosélectivité. La meilleure CSP doit répondre aux critères suivants :

- Elle doit avoir une grande capacité de reconnaissance ;
- Elle doit être stable chimiquement et physiquement ;
- Elle doit être applicable pour une grande variété de phase mobile ;
- Elle doit être économique et disponible en quantité importante.

Il existe trois grandes classes de phases stationnaires chirales :

- ✓ Les polymères chiraux organiques (type I) : polysaccharides telle que la cellulose et l'amylose,
 - ✓ Les sorbants chiraux (type II) : élément chirale lié à un support non chirale,
 - ✓ Les polymères à empreintes moléculaires (type III) : polymères à empreinte chirale.
- Elles réagissent toutes par différentes interactions : ionique, dipolaires, liaisons hydrogènes, hydrophobes, et les interactions π - π [69].

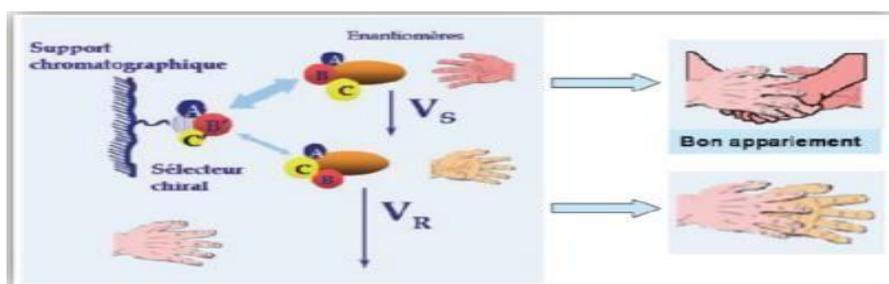


Figure34 : Principe de la reconnaissance chirale en HPLC [62].

II.4.5.2 La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est la méthode de séparation la plus utilisée lors des différentes étapes du développement des médicaments, cela dû à son utilisation à la fois pour la préparation (résolution) et l'analyse des composés chiraux avec une haute efficacité et flexibilité. Elle suit le même principe de la chromatographie liquide général, la seule différence réside dans la sélectivité et la résolution hautement améliorée par le choix d'une phase stationnaire très efficace. Différents types de CSP sont utilisés pour l'HPLC, dont les polysaccharides sont les plus performant du fait qu'elles augmentent considérablement la sélectivité de la résolution par leurs grandes charges pour plusieurs produits racémiques [68].

La première étape consiste à mélanger le cromakalim B26 en mélange énantiomérique (R,S) et (S)- acide Mandélique en solution. La réaction donne deux sels diastéréoisomères (sel 1 et sel 2) dont le sel 1 précipite, l'autre reste en solution sous forme d'ions.

La seconde étape consiste à séparer le sel 1 insoluble dans la solution par filtration par exemple, d'un filtre Büchner. Le filtrat contient l'autre diastéréoisomère, le sel 2, et des traces du sel 1 dans sa limite de solubilité. Il convient ensuite de purifier le filtrat et de faire cristalliser le diastéréoisomère 2 (sel 2) par évaporation du solvant et recristallisation.

La troisième étape consiste à récupérer l'acide Mandélique qui peut être utilisée à nouveau.

La Détermination du pouvoir rotatoire des énantiomères isolés se fait par le polarimètre. Il peut être positif (+) dans le cas de substances dextrogyres (plan de polarisation dévié vers la droite) ou négatif (-) dans le cas de substances lévogyres (plan de polarisation dévié vers la gauche).

CONCLUSION

Au cours de ce travail nous nous sommes intéressée à un analogue ouvert du cromakalim (B26) qui est utilisée dans le traitement de l'hypertension artérielle.

Nous avons subdivisé cette recherche en deux chapitres :

- Le premier est consacré à une mise au point bibliographique sur l'hypertension artérielle et leurs différents traitements des antihypertenseurs, nous avons aussi présenté quelques exemples de médicaments de chaque classe de ces antihypertensive.
- Le deuxième chapitre, après un rappel sur la chiralité, nous avons décrit les différentes techniques de la séparation énantiomérique, et nous avons appliqué la méthodes de séparation par formation de diastéréoisomère en utilisant l'acide Mandélique.

Références Bibliographiques

- [1]. Abdallah larbi doukara , synthèse et séparation des sélecteurs chiraux nouvelle voie de synthèse des S- Alkyl thiocarbamates, **2010**, université d'Oran Es-sénia, thèse, p 1.
- [2]. Vargesson N. thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms,**2015**,p105
- [3]. Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG. The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents, **2004**, p 4-314-322.
- [4]. Extrait de <https://www.sanofi.dz>
- [5]. Extrait de <https://www.ameli.fr>
- [6]. 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,**2018**, p 144-774-796.
- [7]. Smail Khelili, a Pascal de Tullio, Philippe Lebrun, Marianne Fillet, Marie-HeÂ leÂne Antoine, Raogo Ouedraogo, LeÂon Dupont, Jeanine Fontaine, Apostolos Felekidis, a GeÂrard Leclerc, f Jacques Delarge a and Bernard Pirotte Preparation and Pharmacological Evaluation of the R- and, S-Enantiomers of 3-(20-Butylamino)-4H- and 3-(30-Methyl-20- butylamino)-4H-pyrido[4,3-e]-1,2,4-thiadiazine 1,1-dioxide, Two Tissue Selective ATP- sensitive Potassium Channel Openers,**1999**, p 7-1513-1520.
- [8]. Fernet Dan, automesure tensionnelle : intérêts pour le patient, conseils et place du pharmacien d'officine dans la prise en charge du patient hypertendu, **2016**, Université toulouse Iii paul sabatier, Thèse, p 15-25.
- [9]. Extrait de <https://www.futura-sciences.com>
- [10]. Extrait de <https://www.ameli.fr>
- [11]. S. Zisimopoulou, Hypertension artérielle - Service de médecine de premier recours, **2017**, p 4.
- [12]. <https://www.passeportsante.net>
- [13]. Extrait de <https://eurekasante.vidal.fr>
- [14]. Extrait de <https://www.federationdesdiabetiques.org>
- [15]. Item 130 : Hypertension artérielle de l'adulte,**2011**, Université Médicale Virtuelle Francophone.
- [16]. George L. Bakris, Traitement médicamenteux de l'hypertension artérielle, **2018**, University of Chicago School of Medicine.

- [17]. Extrait de <https://slideplayer.fr>
- [18]. Évaluation par classe des médicaments Antihypertenseurs, **2013**, p 22.
- [19]. Extrait de <https://www.univsba.dz>
- [20]. L'intérêt des inhibiteurs du système rénine-angiotensine dans le traitement de l'HTA, p19.
- [21]. Issiaka Guindo, Etude Du Traitement Traditionnel De L'hypertension Arterielle, **2006**, Université De Bamako, Faculte De Medecine, De Pharmacie Et D'odonto- Stomatologie, p 53.
- [22]. Extrait de <https://www.pinterest.com>
- [23]. Jean-François Pillou, Alpha bloquant – Définition, **2013**.
- [24]. Extrait de <https://www.infirmiers.com>
- [25]. Jean-François Pillou, Antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II – Définition, 2013.
- [26]. Extrait de <https://www.researchgate.net>
- [27]. Extrait de <https://www.researchgate.net/>
- [28]. Ratan-NM, M. Pharm., Types of Ion Channels in the Body ,**2018**.
- [29]. D. Tritsch, Les canaux ioniques : une introduction, **1999**.
- [30]. jean-louis Garillond N.D, stimule le processus fonctionnels du drainage de l'organisme pour favoriser l'auto-régulation de l'auto-guérison grâce à la repolarisation cellulaire à l'aide de physio détox, p 9.
- [31]. Laurent Counillon, Les caractéristiques structurales des canaux ioniques, université de Nice-Sophia-Antipolis.
- [32]. F.Bourdain, B.Fontaine, Canaux ioniques dépendants du voltage et maladies neuromusculaires, **2005**, p 403-429.
- [33]. Jean-François Pillou, Inhibiteur calcique - Définition, **2013**.
- [34]. Extrait de <https://ressourcessante.salutbonjour.ca>
- [35]. florian lesage ,delphine bichet, heteromerisation des canaux potassiques a deux domaines pore, **2016**, université cote d'azur, p 7.

- [36]. Extrait de <https://slideplayer.fr>
- [37]. Sandrine Onger, Smaïl Khelili, Synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux Peptides biomimétiques et de benzothiadiazines, **2013**, université de Jijel- Université Paris- Sud 11, Thèse De Doctorat, p 20-22.
- [38]. Belghoul Imane, Bensaada Khayra, Synthèse et séparation énantiomérique de quelques analogues ouverts du cromakalim portant une fonction thiourée, **2019**, université de Jijel, p 20.
- [39]. A. Aissanni, Etude pharmacologique d'analogues de benzothiadiazine-1-1-dioxydes comportant une fonction Sulfonylurée, Mémoire de magister, **2006**, université de Jijel, p 19-39.
- [40]. S D Longman, J C Clapham, C Wilson, T C Hamilton, Cromakalim, a potassium channel activator: a comparison of its cardiovascular haemodynamic profile and tissue specificity with those of pinacidil and nicorandil, **1988**, US National Library Of Medicine National Institutes Of Health Search Database.
- [41]. 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.
- [42]. S. Khelili, X. Florence, M. Bouhedja, S. Abdelaziz, N. Mechouche, M. Yekhlif, 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 benzopyran type potassium channel activators, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, p 6124-6130.
- [43]. Extrait de <https://www.lactualitechimique.org>
- [44]. Extrait de <http://shimizu-uofsc.net/orgo>
- [45]. Amna Zaidi Bounouala, Étude de la résolution cinétique de molécules d'intérêt pharmacologique par alcoololyse et aminolyse enzymatiques : Influence de quelques paramètres, **2016**, université Badji Mokhtar, p 25-41.
- [46]. Patrick Dallemagne, La stéréoisométrie, Article.
- [47]. Aziza Nabila, Abdiche Nadia, Purification, caractérisation et évaluation de l'activité antimicrobienne d'une nouvelle molécule bioactive ferrocénitique synthétique chirale, **2013-2014** université Constantine 1, p 20-24
- [48]. Olivier Lafont, chiralité et médicaments une très importante découverte scientifique européenne, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, p 7-10.

- [49]. Extrait de <http://perso.numericable.fr/chimorga>
- [50]. Laurent Sacco , Chiralité : une des grandes énigmes de la vie peut-être élucidée ,**2018**.
- [51]. Extrait de. <https://www.superprof.fr/ressources/scolaire/physique-chimie/terminale-s/chimie-organique/en-savoir-plus-sur-la-chiralite.html>
- [52]. Arthur Winter, How to Identify Chiral Centers in a Molecule.
- [53]. Extrait de. <https://fr.strephonsays.com/difference-between-racemic-mixture-and-meso-compound>
- [54]. Fanny Sardou, fabrication industrielle de principes actifs pharmaceutiques par séparation chirale et racémisation, **2014**, université de lorraine, thèse, p 12-17.
- [55]. Extrait de. <https://www.lct.jussieu.fr/pagesperso/fuster/1C001/stereochemie.pdf>
- [56]. G. Dupuis, Chiralité et activité optique, **2012**, Lycée Faidherbe de Lille, Cours de chimie Organique.
- [57]. Gamond Valérie, séparation des énantiomères : innovation thérapeutique et/ou stratégie industrielle ?, **2006**, université Joseph Fourier, thèse, p 19-32.
- [58]. Agro Taacco, Méthodes physiques d'analyses, 2020, Cours Techniques d'Analyses, p 46.
- [59]. Nadia Boulekras, Isoméries et stéréoisoméries, cour, p 52-53
- [60]. K. Mori, Kenji. Pheromones: synthesis and bioactivity. Chemical Communications, **1997**, p 1153-1158.
- [61]. A. Collet, J. Crassous, J.-P. Dutasta, L. Guy, Molécules chirales : stéréochimie et propriétés, **2006**, paris, livre, p 1-70
- [62]. Nawal Lahmer, étude de la séparation chirale des divers flavanone, **2018**, université Kasdi Merbah Ouargla, p 14.
- [63]. Extrait de <https://jeretiens.net>
- [64]. Extrait de <http://www.differencebetween.net>
- [65]. Serge Kirkiacharian, Stéréoisomères en pharmacologie, Académie de Versailles, p 3.
- [66]. K. Kagan, La synthèse asymétrique de composés biologiquement actifs. Actualité Chimique, **2003**, p 10-14.

- [67]. Gamond Valérie, séparation des énantiomères, **2006**, université joseph fourir, p 29.
- [68]. Latifa Hmimou, dérivé isomère et autorisation de mise sur le marché, **2020**, université Mohammed-v de rebat, thèse, p 55-59-61.
- [69]. Doriane Gerard, Séparation par voie enzymatique d'énantiomères de profènes optimisation du biocatalyseur et mise en oeuvre en dioxyde de carbone supercritique, **2016**, université de toulouse, thèse, p 42-44.
- [70]. Michael B. Smith, Jerry March, March's advances organic chemistry reactions, mechanisms, and structure, **2001**, New-York, p 125-155
- [71]. Mustapha Zaher, Nouveaux sélecteurs chiraux à base d'aminoglycosides pour la séparation chirale par échange de ligands, **2010**, université joseph Fourier, thèse, 35.
- [72]. Nicolas Vanthuyne, La chromatographie sur supports chiraux : présentation de la technique et applications, **2010**, Université Montpellier II, cours, p 1.
- [73]. Cristina Minguillon, Mathieu Achard, Effets inusuels en chromatographie chirale, influence des alcools sur les phases stationnaires à base de polysaccharide, **2016**, Université d'Aix-Marseille, thèse, p 13.

RÉSUMÉ

La chiralité joue un rôle clé dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire dans le monde du vivant, dans notre travail nous nous sommes intéressés à un analogue ouvert du cromakalim (B26) décrit par son activité vasorelaxante, à travers le blocage des canaux calciques. Cette molécule est une racémique (\pm), donc pour obtenir les énantiomères (+) et (-) purs et déterminer l'influence possible de la stéréochimie sur l'activité biologique de nos molécules au niveau vasculaire, on a effectué une recherche bibliographique sur l'hypertension artérielle et sur les différentes méthodes de séparation énantiomérique, et nous avons proposé la séparation des énantiomères de (B26) par l'acide Mandélique.

Mots-clés : Chiralité, Cromakalim, Hypertension artérielle, Activité vasorelaxante, Canal KATP, Canaux calciques, Mélange racémique, Séparation énantiomérique.

ABSTRACT

Chirality plays a key role in the phenomena of the molecular recognition in the living world. In our work we are interested in an open analogue of cromakalim (B26) described by its Relaxant activity, through the blockage of calcic channels. This molecule is a racemic (\pm), so in order to obtain the pure enantiomers (+) and (-) and to determine the possible influence of the stereochemistry on the biological activity of our molecules at the vascular level, we did a bibliographic research on the arterial hypertension and enantiomeric separation methode, and we proposed the separation of the enantiomers of (B26) by Mandelic acid.

Keywords : chirality, cromakalim, Arterial Hypertension, Relaxant activity, KATP channel, calcium channels, Racemic mixture, Enantiomeric Separation.

المخلص

الكيرالية تلعب دوراً رئيسياً في ظاهرة التعرف على المركبات في العالم الحي، في عملنا هذا اهتمنا بمماثل مفتوح لجزيئة الكرومكاليم ((B26، الذي عرف بفعاليتيه في ارخاء الاوعية الدموية من خلال كبح قنوات الكالسيوم. هذا المركب يتواجد على شكل خليط راسمي (\pm)، لذلك للحصول على المتمارنات النقية (+) و (-)، من أجل تحديد التأثير المحتمل للبنية الفراغية على النشاط البيولوجي لجزيئاتنا على مستوى الأوعية الدموية، قمنا ببحث بيبيولوجرافي على مرض ارتفاع الضغط الشرياني وعلى الطرق المختلفة لفصل المتمارنات من الخليط الراسمي، وقد اقترحنا طريقة لفصل متمارئ (B26) باستعمال حمض الماندليك.

الكلمات المفتاحية : الكيرالية، كرومكاليم، ارتفاع الضغط الشرياني، الفعالية الإرخائية، قنوات البوتاسيوم الحساسة للأدنيوزين ثلاثي الفوسفات، قنوات الكالسيوم، الخليط الراسمي، فصل المتمارنات.