



HAL
open science

Avancées thérapeutiques des dérivés nitrés et donneurs de monoxyde d'azote

Mathilde Genestier

► **To cite this version:**

Mathilde Genestier. Avancées thérapeutiques des dérivés nitrés et donneurs de monoxyde d'azote. Sciences pharmaceutiques. 2016. hal-01731814

HAL Id: hal-01731814

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731814>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE DE LORRAINE

2016

FACULTE DE PHARMACIE

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 29 avril 2016, sur un sujet dédié à :

**AVANCEES THERAPEUTIQUES DES
DERIVES NITRES ET DONNEURS DE
MONOXYDE D'AZOTE**

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Mathilde GENESTIER

Née le 28 Novembre 1989

Membres du Jury

Président :	Dr Stéphane GIBAUD,	Maître de Conférences, Nancy
Juges :	Dr François DUPUIS,	Maître de Conférences, Nancy
	Dr Marianne PARENT,	Pharmacien – Post doctorante, Nancy
	Dr Claire CORNELISE,	Docteur en pharmacie, Golbey

UNIVERSITE DE LORRAINE

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2015-2016

DOYEN

Francine PAULUS

Vice-Doyen

Béatrice FAIVRE

Directeur des Etudes

Virginie PICHON

Conseil de la Pédagogie

Président, Brigitte LEININGER-MULLER

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Président, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine

Responsables de la filière Industrie

Responsable de la filière Hôpital

Responsable Pharma Plus ENSIC

Responsable Pharma Plus ENSAIA

Responsable de la Communication

**Responsable de la Cellule de Formation Continue
et individuelle**

**Responsable de la Commission d'agrément
des maîtres de stage**

Responsables des échanges internationaux

Responsable ERASMUS

Béatrice FAIVRE

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Raphaël DUVAL

Marie-Paule SAUDER

Béatrice FAIVRE

Béatrice FAIVRE

Bertrand RIHN

Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY

Pierre DIXNEUF

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Janine SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Francine KEDZIEREWICZ
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDIAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS

Section
CNU*

Discipline d'enseignement

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Alain NICOLAS	80	<i>Chimie analytique et Bromatologie</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Biologie cellulaire, Hématologie</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Pierre LEROY	85	<i>Chimie physique</i>
Philippe MAINCENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Alain MARSURA	32	<i>Chimie organique</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	87	<i>Parasitologie</i>
Xavier BELLANGER	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François BONNEAUX	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>

Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	85/86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>
ENSEIGNANTS (suite)	Section CNU*	Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Christophe MERLIN	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Francine PAULUS	85	<i>Informatique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Anne SAPIN-MINET	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>
Gabriel TROCKLE	86	<i>Pharmacologie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIUO	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>
Colette ZINUTTI	85	<i>Pharmacie galénique</i>

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	86	<i>Sémiologie</i>
--------------------	----	-------------------

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
-----------------	----	--

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>
--------------------	----	----------------

*Disciplines du Conseil National des Universités :

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A mon président de jury & directeur de Thèse,

Monsieur Stéphane GIBAUD,

Maître de conférences de Pharmacie Clinique à la faculté de pharmacie de Nancy.

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ma thèse,

Pour votre disponibilité, et la réactivité dont vous avez fait preuve.

Recevez ici le témoignage de mes sincères remerciements.

A mes juges,

Monsieur François DUPUIS,

Maître de conférences de Pharmacologie à la faculté de pharmacie de Nancy.

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse,

Veillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

Madame Marianne PARENT,

Pharmacien – Chercheur post-doctorant à la faculté de pharmacie de Nancy.

Pour avoir pris le temps de vous intéresser à mon travail,

Soyez assurée de la sincérité de mon estime.

Madame Claire CORNELISE

Docteur en pharmacie.

Pour votre générosité et votre précieux soutien,

Pour m'avoir transmis votre passion du métier,

Travailler à vos côtés est une vraie chance, je vous témoigne ici ma profonde reconnaissance et vous remercie de votre confiance.

A mes parents,

Pour m'avoir accompagnée dans les moments difficiles que la vie nous impose,

Pour m'avoir offert la chance de pouvoir étudier sereinement,

Pour votre soutien et vos encouragements,

Je vous remercie infiniment.

Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible.

Je vous dédie cette thèse avec tout mon amour.

A ma grande sœur Mélanie,

Pour m'avoir soutenue (et supportée) durant ces 26 années, je te remercie.

Je serai toujours là pour toi,

dans les bons comme dans les mauvais moments.

Je te souhaite tout le bonheur du monde.

A mes grands-parents,

Pour m'avoir offert la chance de grandir entourée d'une grande famille remplie d'amour,

Pour vos encouragements et votre soutien, je vous remercie.

A mon papi Robert, qui m'a accompagnée tous ces lundis à la gare,

Pour m'avoir dit un jour « il ne te reste plus qu'à travailler »,

J'aurais tellement voulu te voir ici aujourd'hui pour te montrer que j'ai suivi ton conseil.

A mon papi Claude, parti trop tôt,

J'espère de tout cœur que de la haut, tu es fier de moi.

A mes mamies, Annie & Marie-Thérèse,

Mon plus beau cadeau est de vous avoir auprès de moi.

Merci.

A toute ma famille,

A mes oncles et mes tantes,

A mes cousins, mes cousines et leurs petits bouts de chou,

Vous êtes trop nombreux pour que je vous cite tous !

Merci à tous d'avoir cru en moi.

A mes amies de la fac

A Marie,

Ma première rencontre à la fac de pharma, mon binôme de choc.

Je te remercie pour tous ces bons moments.

A Céline,

Mon acolyte de soirée.

Pour m'avoir accompagnée pendant ces nuits nancéennes,

Pour m'avoir soutenue dans les coups durs,

Pour m'avoir accueillie régulièrement chez toi,

Je ne te remercierai jamais assez.

A Mathilde,

Ta joie de vivre a été une réelle bouffée d'air pendant toutes ces années.

Je ne peux que te remercier pour ce bonheur qu'ont été ces deux dernières années en filière officine.

A Cécile,

Ta motivation et ta rigueur de travail ont été un exemple pour moi.

Je te remercie pour le bonheur et la joie que tu m'as apportés pendant toutes ces années.

A mes amis de la fac,

Alban, Edouard, Alex, Loïc, Nico, Paul, ...

*Je vous souhaite à tous une belle carrière professionnelle et beaucoup de bonheur dans votre vie
personnelle.*

A mes amis de longues dates,

Céline, Emeline, Floriane, Sophie, Julian, Rémi, Benjamin, Nataf ...

Pour certains d'entre vous je vous connais depuis l'école primaire, le collège ou encore le lycée.

Ces années en votre compagnie m'ont donné la force d'allier étude et amitié.

Pour tous ces bons moments partagés ensemble, Merci !

A mes amours spinaliens,

*Alice, Baz, Camille, Cha, Flo, Florian, Heveur, Hugues, Jules, Laura, Léo, Lucie, Mathieu, Marco,
Nico, Omar, Peppo, Peter, Spynoo, Théo, Toff, ...*

Pour notre complicité,

Pour nos journées, soirées, week-end passés ensemble,

Merci à vous tous !

A toute l'équipe de la pharmacie HEINRICH-TEROILLE,

Merci pour votre accueil et votre disponibilité lors de mes stages de 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} année.

Ces moments passés avec vous m'ont donné l'envie de choisir la filière officinale.

A toute l'équipe de la pharmacie hospitalière d'Emile Durkheim,

Merci pour votre accueil lors de mon stage de 5^{ème} année.

C'est avec plaisir que je viens vous voir à nouveau de temps en temps.

A toute l'équipe de la pharmacie Cornélise,

Pour m'avoir accueillie il y a 6 ans au sein de votre superbe équipe,

Pour avoir fortement participé à ma formation,

Pour votre disponibilité lors de mon stage de 6^{ème} année,

Pour m'avoir adoptée en tant que pharmacien,

Je vous remercie. C'est un plaisir de travailler avec vous.

A ceux qui sont partis trop tôt

Yves & Tom.

A tous ceux que j'ai pu oublier et qui pourraient s'en vexer.

2.1. L'angor	33
2.2. Implication du NO dans l'angor	33
2.3. Traitement de l'angor : les dérivés nitrés et les sydnonimines	34
2.3.1. Molécules utilisées : lien entre la galénique et la pharmacocinétique	34
2.3.1.1. La trinitrine	35
2.3.1.2. Le dinitrate d'isosorbide	36
2.3.1.3. Le mononitrate d'isosorbide	38
2.3.1.4. La molsidomine	38
2.3.2. Effets indésirables et surdosage	39
2.3.3. Phénomène d'échappement thérapeutique.....	39
2.3.4. Recommandations pour le bon usage	39
 3. Exemples de nouvelles molécules hydrides donneuses de NO	 41
3.1. Les NO-statines	42
3.1.1. L'hypercholestérolémie	42
3.1.2. Implication du NO dans l'athérosclérose	42
3.1.3. Traitement actuel de l'hypercholestérolémie	43
3.1.3.1. Les statines.....	43
3.1.4. Avancée thérapeutique : Les NO-statines.....	45
3.1.4.1. Molécules à l'étude : les NO-statines	45
3.1.4.2. Propriétés des NO-statines	47
3.2. Les prostaglandines donneuses de NO	58
3.2.1. Généralités sur l'œil et le glaucome	58
3.2.1.1. L'œil.....	58

3.2.1.2. Le glaucome à angle ouvert	59
3.2.2. Implication du NO et d'eNOS	60
3.2.2.1. eNOS, un régulateur de la PIO	60
3.2.2.2. Implication du NO dans la physiopathologie du GPAO	62
3.2.3. Traitement actuel du glaucome par voie oculaire	66
3.2.3.1. Les analogues des prostaglandines et les parasymphomimétiques.....	66
3.2.3.2. Les bêta-bloquants et les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique	68
3.2.3.3. Les symphomimétiques.....	68
3.2.4. Avancée thérapeutique dans le traitement oculaire du glaucome : Le latanoprostène bunod	69
3.2.4.1. Molécule : le latanoprostène bunod	69
3.2.4.2. Les Brevets	70
3.2.4.3. Etude du latanoprostène bunod dans le GPAO	70
3.3. Les anti-inflammatoires donneurs de NO : traitement des dystrophies musculaires	75
3.3.1. Les dystrophies musculaires	75
3.3.1.1. Physiopathologie des dystrophies musculaires.....	75
3.3.1.2. Clinique et diagnostique des dystrophies musculaires	77
3.3.1.3. Traitement actuel	78
3.3.2. Lien entre le NO et les dystrophies musculaires	79
3.3.3. Avancées thérapeutiques : Composés donneurs de NO utilisés dans le traitement des dystrophies musculaires	81
3.3.3.1. Le naproxcinod.....	81
3.3.3.2. Le NO-ibuprofène, NCX 320	84

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU I : LIEUX D'EXPRESSION ET ROLES DES DIFFERENTES ISOFORMES DE LA <i>NITRIC OXYDE SYNTHASE</i>	16
TABLEAU II : EFFETS PHYSIOLOGIQUES DE L'ACTIVATION DE LA GUANYLATE CYCLASE PAR LE MONOXYDE D'AZOTE.....	20
TABLEAU III : DENOMINATION COMMUNE INTERNATIONALE (DCI), NOM DE SPECIALITES ET DATE D'OBTENTION DES AUTORISATIONS DE MISE SUR LE MARCHE (AMM) DES TRAITEMENTS UTILISES DANS L'ANGOR.....	35
TABLEAU IV: DENOMINATION COMMUNE INTERNATIONALE (DCI) DES STATINES COMMERCIALISEES : LEURS NOMS DE SPECIALITES, LEURS DOSAGES ET LEURS DATES D'OBTENTION D'AUTORISATION SUR LE MARCHE.	44
TABLEAU V : ADHESION PLAQUETTAIRE, EXPRIMEE EN POUR CENT, APRES ADMINISTRATION DE NCX 6560 ET D'ATORVASTATINE.....	50
TABLEAU VI : ADHESION PLAQUETTAIRE, EXPRIMEE EN POUR CENT, APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINE, DE CLOPIDOGREL ET D'ISOSORBIDE MONONITRATE (ISMN).....	52
TABLEAU VII : PRESSION ARTERIELLE SYSTOLIQUE AVANT ET APRES ADMINISTRATION DE NCX 6560, MONONITRATE D'ISOSORBIDE (ISMN), ATORVASTATINE EN FONCTION DU TYPE DE SOURIS.....	55
TABLEAU VIII : EFFETS DE L'INHIBITEUR DE NOS (L-NAME) ET DU DONNEUR DE NO (DETA-NO) SUR LE VOLUME CELLULAIRE DANS DIVERS MILIEUX (ISOTONIQUE, HYPOTONIQUE ET HYPERTONIQUE).	64
TABLEAU IX : POURCENTAGE D'AMELIORATION DES SOURIS EN FONCTION DES TRAITEMENTS ADMINISTRES ET DE LA DUREE DU TRAITEMENT..	84

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : FORMULE SEMI-DEVELOPEE DU MONOXYDE D'AZOTE..	13
FIGURE 2 : SYNTHÈSE DU MONOXYDE D'AZOTE (NO).	14
FIGURE 3 : EXPRESSION CONSTITUTIVE DE LA <i>NITRIC OXIDE SYNTHASE</i> (NOS).	15
FIGURE 4 : FIXATION DU MONOXYDE D'AZOTE (NO) SUR LA GUANYLATE CYCLASE.	18
FIGURE 5 : CASCADE DE REACTIONS IMPLIQUANT LE MONOXYDE D'AZOTE (NO) ET LA GUANYLATE CYCLASE SOLUBLE.	19
FIGURE 6 : S-NITROSATION.	20
FIGURE 7 : LA CIRCULATION FŒTALE.	22
FIGURE 8 : LA CIRCULATION POST-NATALE.	24
FIGURE 9 : MECANISME D'ACTION DU MONOXYDE D'AZOTE (NO) POUR INDUIRE UNE VASODILATATION.	26
FIGURE 10 : PRESSION PARTIELLE DE L'OXYGENE ARTERIEL (PAO ₂) AVANT ET APRES LE TRAITEMENT PAR DU MONOXYDE D'AZOTE INHALE (iNO).	30
FIGURE 11 : INDEX D'OXYGENATION (IO) AVANT ET APRES LE TRAITEMENT PAR DU MONOXYDE D'AZOTE INHALE (iNO).	30
FIGURE 12 : FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA TRINITRINE.	36
FIGURE 13 : FORMULE SEMI-DEVELOPEE DUDINITRATE D'ISOSORBIDE.	37
FIGURE 14 : FORMULE SEMI-DEVELOPEE DU MONONITRATE D'ISOSORBIDE.	38
FIGURE 15 : FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA MOLSIDOMINE.	38
FIGURE 16 : A DROITE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA PRAVASTATINE. AU GAUCHE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA NO-PRAVASTATINE (NCX 6550).	46
FIGURE 17 : A GAUCHE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA FLUVASTATINE. A DROITE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE LA NO-FLUVASTATINE (NCX 6653).	46
FIGURE 18 : A GAUCHE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE L'ATORVASTATINE. A DROITE, FORMULE SEMI-DEVELOPEE DE L'ATORVASTATINE DONNEUSE DE NO (NCX6560).	47
FIGURE 19 : TAUX DE CHOLESTEROL SERIQUE DES SOURIS APRES TRAITEMENT PAR NCX 6560 ET ATORVASTATINE.	48
FIGURE 20 : POURCENTAGE DE MORTALITE APRES INJECTION D'UN ANALOGUE SYNTHETIQUE DE PROSTAGLANDINE (U46619) CHEZ LES SOURIS TRAITES PAR DU NCX 6560 ET DE L'ATORVASTATINE.	53
FIGURE 21 : POURCENTAGE DE MORTALITE APRES INJECTION D'EPINEPHRINE CHEZ LES SOURIS TRAITES PAR DU NCX 6560 ET DE L'ATORVASTATINE.	54

FIGURE 22 : POURCENTAGE DE MORTALITE APRES UNE MICRO-EMBOLIE MECANIQUE CHEZ LES SOURIS TRAITES PAR DU NCX 6560 ET DE L'ATORVASTATINE..	54
FIGURE 23 : PRESSION ARTERIELLE SYSTOLIQUE (PAS)DES SOURIS QUI PRESENTENT UNE DEFICIENCE EN ENOS « ENOS KNOCKOUT MICE » EN FONCTION DES SUBSTANCES ADMINISTREES : TEMOIN, ATORVASTATINE, NCX 6560 ET MONONITRATE D'ISOSORBIDE (ISMN)	56
FIGURE 24 : PRESSION ARTERIELLE SYSTOLIQUE (PAS) DES SOURIS DE TYPE SAUVAGE « WILD TYPE MICE » EN FONCTION DES SUBSTANCES ADMINISTREES : TEMOIN, ATORVASTATINE, NCX 6560 ET MONONITRATE D'ISOSORBIDE (ISMN)	56
FIGURE 25 : EVACUATION DE L'HUMEUR AQUEUSE.	59
FIGURE 26 : PRESSION INTRAOCULAIRE (PIO) CHEZ LES SOURIS EXPRIMANT L'ISOFORME ENOS « ENOS-GFP POSITIF », N'EXPRIMANT PAS L'ENOS « ENOS-GFP NEGATIF » ET LES SOURIS DE TYPES SAUVAGE « WT »	61
FIGURE 27 : VITESSE D'ECOULEMENT DE L'HUMEUR AQUEUSE CHEZ LES SOURIS EXPRIMANT ENOS ET LES SOURIS DE TYPE SAUVAGE ⁵⁵	62
FIGURE 28 : VARIATION DU VOLUME CELLULAIRE EN PRESENCE D'UN INHIBITEUR DE LA NITRIC OXIDE SYNTHASE, L-NAME.	64
FIGURE 29 : VARIATION DU VOLUME CELLULAIRE DES CELLULES EN CULTURE EN FONCTION DE L'OSMOLARITE.	65
FIGURE 30 : VARIATION DU VOLUME CELLULAIRE EN FONCTION DE DIFFERENTES CONCENTRATIONS D'UN DONNEUR DE MONOXYDE D'AZOTE, DETA-NO.	65
FIGURE 31 : FORMULE SEMI-DEVELOPPEE DU LATANOPROST..	67
FIGURE 32 : FORMULE SEMI-DEVELOPPEE DU LATANOPROSTENE BUNOD..	70
FIGURE 33 : VARIATIONS DELA PRESSION INTRAOCULAIRE (PIO) EN FONCTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE LATANOPROSTENE BUNOD (LBN) ET DE LATANOPROST.	72
FIGURE 34 : POURCENTAGE DE PATIENTS AVEC UNE PRESSION INTRAOCULAIRE < A 18MMHG EN FONCTION DES DIFFERENTES CONCENTRATIONS DE LATANOPROSTENE BUNOD (LBN) ET DE LATANOPROST A J7, J14, J28 ET J29.	73
FIGURE 35 : LA PROTEINE DYSTROPHINE DANS LA FIBRE MUSCULAIRE	76
FIGURE 36 : LES ISOFORMES DE L'OXYDE NITRIQUE SYNTHASE DANS UN MUSCLE SAIN.	80
FIGURE 37 : FORMULE SEMI-DEVELOPPEE DU NAPROXCINOD.	82
FIGURE 38 : FORMULE SEMI-DEVELOPPEE DU NO-IBUPROFENE, NCX320	85

FIGURE 39 : DISTANCE PARCOURUE EN FONCTION DU TRAITEMENT ADMINISTRE, IBUPROFENE ET NCX 320.....	86
FIGURE 40 : TEMPS D'EPUISEMENT EN FONCTION DU TRAITEMENT ADMINISTRE, IBUPROFENE ET NCX 320.....	86
FIGURE 41 : TAUX DE CPK AU COURS DU TRAITEMENT PAR IBUPROFENE ET NCX 320.	87
FIGURE 42 : NOMBRE DE FIBRES NECROTIQUES PAR MM ² REPRESENTE EN FONCTION DU TRAITEMENT ADMINISTRE, IBUPROFENE ET NCX320	88
FIGURE 43 : NOMBRE DE FIBRES NOUVELLEMENT FORMEES PAR MM ² DANS LE MUSCLE DU DIAPHRAGME ET DU TIBIA ANTERIEUR EN FONCTION DU TRAITEMENT ADMINISTRE, IBUPROFENE ET NCX320	89
FIGURE 44 : POURCENTAGE REFLETANT LE NOMBRE DE CELLULES PRECURSEURS MYOGENIQUES EN FONCTION DU TRAITEMENT ADMINISTRE, IBUPROFENE ET NCX 320..	90

ABREVIATIONS

AMM	autorisation de mise sur le marché
CiNODs	inhibiteurs de cyclo-oxygénase donneurs de NO
COX	cyclo-oxygénase
CPK	créatine phosphokinase
DETA-NO	diéthylènetriamine NONOate
DMD	dystrophie musculaire de Duchenne
EDRF	facteur de relaxation dérivé de l'endothélium
FDA	<i>food and drug administration</i>
GMPc	guanosine monophosphate cyclique
GPAO	glaucome primitif à angle ouvert
GSH	glutathion réduit
GTP	guanosine triphosphate
HDL	<i>high-density lipoprotein</i>
HNO ₂	acide nitreux
HTAPP	hypertension artérielle pulmonaire persistante
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
L-NAME	L-N-nitroarginine methyl ester
NMDA	N-methyl-D-aspartate
NO	monoxyde d'azote
NO ₂	dioxyde d'azote
NOS	<i>nitric oxide synthase</i>
O ₂ ⁻	anion superoxyde
ONOO ⁻	anion peroxydinitrite

PaO ₂	pression artérielle en oxygène
ppb	partie pour milliard
PIO	pression intraoculaire
PK	protéine kinase
ppm	partie pour million
SOD	superoxyde dismutase
SU	sous-unité

INTRODUCTION

Le monoxyde d'azote (NO) est un polluant atmosphérique émis, par exemple, par les installations de chauffage, les centrales thermiques de production électrique et les automobiles. En parallèle, c'est un neurotransmetteur gazeux connu chez les mammifères. Il est synthétisé dans l'organisme à partir d'un acide aminé, la L-arginine, grâce à l'intervention d'une famille d'enzyme, les *nitric oxide synthase*. Sa nature de radical libre lui permet d'interagir avec de nombreuses molécules.

En 1986, Louis Ignarro montre que le NO est le facteur de dilatation provenant de l'endothélium artériel, EDRF. En effet, le NO est un puissant vasodilatateur artériel et veineux. Cette propriété lui permet d'intervenir dans de nombreuses pathologies telles que l'angine de poitrine et l'hypoxémie présente dans l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né. Pour certains spécialistes en neurobiologie, le NO interviendrait au niveau synaptique et plus particulièrement au niveau de la signalisation du glutamate. Ces constatations ont mené à des études cliniques, notamment dans le traitement de la schizophrénie. L'activité du NO sur la pression intraoculaire de l'œil, quant à elle, a mené à l'étude d'un nouveau donneur de NO dans le traitement du glaucome à angle ouvert. Enfin, son activité anti-inflammatoire au niveau musculaire a conduit à l'étude de nouveaux donneurs de NO dans le traitement de l'hypercholestérolémie et des dystrophies musculaires.

L'objectif de cette thèse est de répertorier les donneurs de NO déjà existants en thérapeutique et de présenter quelques exemples de nouvelles molécules hydrides donneuses de NO. Le NO peut être utilisé directement sous sa forme gazeuse, mais également sous forme de dérivés nitrés. Les molécules hydrides donneuses de NO sont constituées d'une molécule déjà commercialisée sur laquelle a été greffé un groupement donneur de NO.

La première partie de ce travail présentera le NO, ses caractéristiques physicochimiques, ses origines exogène et endogène, son métabolisme et ses mécanismes d'action dans l'organisme. Mais également son utilisation pharmacologique sous forme gazeuse dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né. La seconde partie nous permettra de détailler les donneurs de NO déjà existants et leurs indications dans l'angine de poitrine. Pour

finir, la troisième partie nous permettra de développer quelques exemples de nouvelles molécules hydrides donneuses de NO actuellement à l'étude dans le traitement de l'hypercholestérolémie, du glaucome à angle ouvert et des dystrophies musculaires. Dans cette dernière partie, seules les études les plus avancées seront présentées.

1. Généralités sur le monoxyde d'azote

Le monoxyde d'azote (NO) est un neurotransmetteur présent naturellement dans l'organisme. C'est le seul gaz incolore et inodore à avoir un rôle de messenger.

1.1. Généralités

Dans cette partie, quelques brèves généralités concernant le NO vont être abordées, telles que sa découverte, ses caractéristiques physico-chimiques, son origine exogène et endogène ainsi que son métabolisme.

1.1.1. Découverte du NO en physiologie

- 1977** Ferid Murad étudie les composés vasodilatateurs utilisés dans les traitements des patients atteints d'angine de poitrine. Ses nombreuses études montrent que ces composés libèrent du NO après métabolisation par l'organisme. Ce phénomène entraîne une augmentation de l'activité d'une enzyme, la guanylate cyclase¹.
- 1980** Robert Furchgott met en évidence la présence d'une substance vasodilatatrice produite par les cellules endothéliales. Il la nomme « Endothelium derived relaxing factor », EDRF².
- 1986** Robert Furchgott montre que le NO est un médiateur cellulaire gazeux². Louis Ignarro montre que le NO est en réalité le facteur de transmission EDRF¹.
- 1998** Ferid Murad, Robert Furchgott et Louis Ignarro reçoivent le prix Nobel de physiologie et de médecine pour leurs travaux sur l'endothélium et le NO¹.

1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques du NO

Le NO (Figure 1) est une molécule constituée de deux atomes (azote et oxygène) liés par une double liaison. La nature radicalaire du NO est due à la présence d'un électron libre non apparié. Par conséquent, c'est une molécule instable qui peut réagir avec de nombreux composés³.

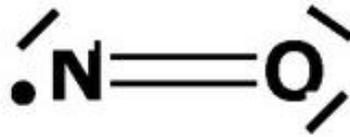


Figure 1 : Formule semi-développée du monoxyde d'azote. Formule brute : NO. Masse molaire : 30 g/mol. Le NO est constitué d'un atome d'azote (N) lié à un atome d'oxygène (O) par une double liaison. La nature radicalaire du NO est due à la présence d'un électron libre non apparié.

Le NO a une faible solubilité dans l'eau, 57 mg/L à 20°C⁴. Cependant, il est soluble dans les solvants apolaires ce qui lui permet de traverser les membranes cellulaires³. Il diffuse rapidement à travers les tissus où il réagit avec de nombreuses espèces⁵. Dans les milieux biologiques, le NO a une demi-vie très courte allant de 1 à 5 secondes². Sa faible solubilité et sa demi-vie courte expliquent son action locale, notamment au niveau pulmonaire lorsqu'il est inhalé^{5,6}.

1.1.3. Origine exogène et endogène du NO

Comme nous allons le voir dans la partie suivante, la synthèse endogène du NO a lieu à partir d'un acide aminé grâce à une famille d'enzyme, les nitric oxide synthase (NOS)⁷. Il peut également provenir de la réduction des ions nitrites déjà présents dans l'organisme⁸.

Toutefois, dans l'environnement extérieur, l'air peut être un vecteur exogène du NO. En effet, il peut provenir des installations de chauffage, des centrales thermiques de production électrique, des usines d'incinération et des automobiles⁹. A température ambiante, le NO est instable et réagit avec l'oxygène pour former du dioxyde d'azote selon la réaction suivante,



Le dioxyde d'azote, NO₂, est une molécule toxique. Elle est présente dans la phase aqueuse de l'atmosphère et réagit avec les radicaux hydroxyles afin de former l'ozone⁹.

Dans l'air, le taux de NO varie en fonction des zones, allant de quelques parties par milliard (ppb) en zone rurale à 100 ppb en zone urbaine. Les zones urbaines et

industrielles sont d'autant plus concernées par ce phénomène que la présence d'axes routiers est importante⁴.

1.1.4. Métabolisme du NO

Dans cette sous-partie, nous allons brièvement détailler la synthèse endogène du NO, son transport, son mécanisme d'action et pour finir son catabolisme.

1.1.4.1. Synthèse endogène du NO

Le NO est synthétisé à partir d'un acide aminé, la L-arginine¹⁰. Cette réaction a lieu grâce à une famille d'enzymes héminiques, les NOS, et à des cofacteurs¹¹. En effet, sous l'action des NOS, la L-arginine est transformée en N-hydroxyarginine qui après réduction donne du NO et de la L-citrulline¹⁰ (Figure 2). La L-arginine est un acide aminé non essentiel sur le plan nutritionnel chez l'adulte mais indispensable durant la croissance¹⁰.

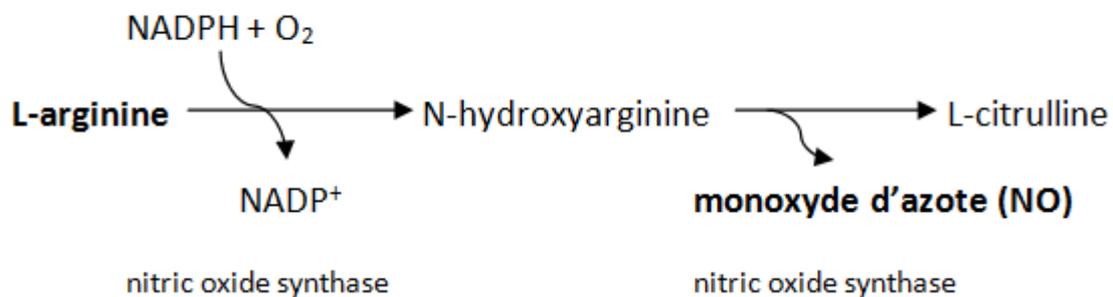


Figure 2 : Synthèse du monoxyde d'azote (NO). Le NO est synthétisé à partir de la L-arginine, grâce à la « nitric oxide synthase » (NOS). La L-arginine est transformée en N-hydroxyarginine puis réduit en NO et L-citrulline.

La NOS a été identifiée et décrite pour la première fois en 1989. Trois isoformes majeures ont été clonées et purifiées entre 1991 et 1994 (Tableau I)¹². Il existe deux types d'expression de NOS : constitutive et inducible. Les NOS sont apparentées à la famille des cytochromes P450, par conséquent ce sont des protéines ayant comme cofacteur l'hème.

NOS constitutives

Les deux isoformes constitutives sont les suivantes ; le type I [NOS neuronale (nNOS)] et le type 3 [NOS endothéliale (eNOS)]. Ces deux isoformes sont exprimées continuellement dans la cellule⁷. L'activité enzymatique de ces deux isoformes est

calcium et calmoduline dépendante¹³. Lors de l'élévation de la concentration calcique intracellulaire, ce dernier active la NOS (Figure 3). La conséquence de cette activation est une libération immédiate de NO à des concentrations picomolaires et de courte durée⁷. Il agit en tant que médiateur physiologique.

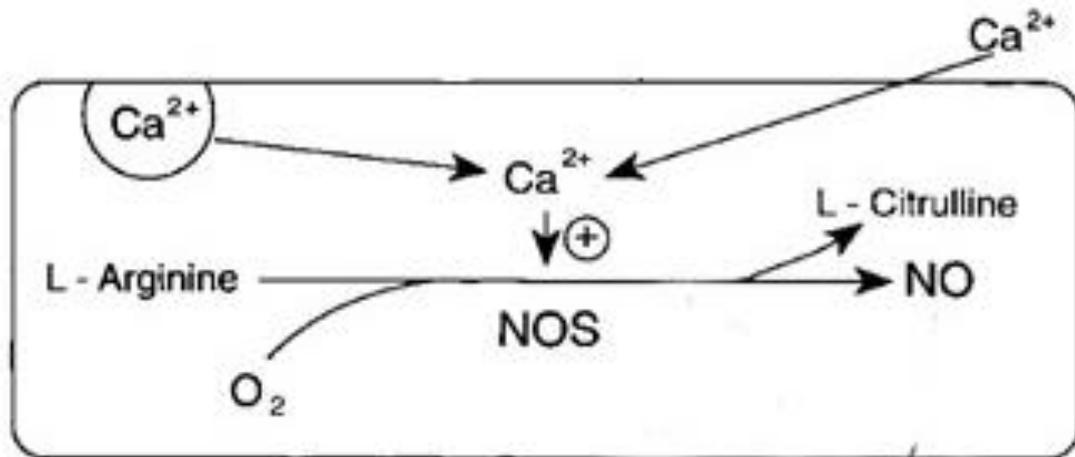


Figure 3 : Expression constitutive de la *nitric oxide synthase* (NOS).Le monoxyde d'azote (NO) est synthétisé en présence de dioxygène (O_2) à partir d'un acide aminé, la L-arginine, grâce à la famille des nitric oxide synthase (NOS).

NOS inductible

La NOS de type II (iNOS) a une expression inductible. C'est-à-dire qu'elle n'est pas exprimée en continu dans les cellules. Son expression a lieu après induction par des stimuli pathogènes ou par des cytokines pro inflammatoires (interleukine 1, tumor necrosis factor, interferon gamma, lipopolysaccharide)^{7,13}.

Tableau I : Lieux d'expression et rôles des différentes isoformes de la *nitric oxide synthase*¹³.

Type	nNOS	eNOS	iNOS
	I	III	II
	NOS constitutive	NOS constitutive	NOS inducible
Principaux lieux d'expression	1. Neurones du système nerveux central 2. Neurones du système nerveux périphérique	Endothélium	Macrophages
Rôles	1. Plasticité synaptique, Régulation de la pression artérielle 2. Vasodilatation, Erection pénienne.	Vasodilatation Vasoprotection Prevention de l'athérosclérose.	Défense immunitaire non spécifique. Médiation de l'inflammation

1.1.4.2. Transport du NO : couplage à des protéines et à des peptides

Dans les conditions physiologiques, le transport du NO s'effectue par couplage à des protéines ou à des peptides porteurs de groupements thiols. Ce couplage permet de le stabiliser et de former des molécules biologiquement actives⁷. Comme nous l'avons vu précédemment, sa faible solubilité lui permet de diffuser à travers les membranes cellulaires.

S-nitrosohémoglobine La S-nitrosohémoglobine est produite par S-nitrosation. Le groupement NO se fixe sur un groupement thiol de l'hémoglobine par une liaison covalente. L'hémoglobine est une protéine présente à l'intérieur des globules rouges. En 1996, Stamler et coll découvrent que l'hémoglobine fixe le NO au niveau des poumons où elle est nitrosée. Le NO est libéré dans le système cardiovasculaire¹⁵.

S-nitrosoglutathion Le S-nitrosoglutathion est un tripeptide composé d'un résidu L-γ-glutamyl, d'un résidu glycine et enfin d'un résidu L-cystéinyl où se trouve le groupement thiol. Il peut être obtenu par métal-nitrosation ou par addition directe du NO sur le glutathion réduit¹⁶. Le tripeptide est dégradé dans le

sang grâce à une cascade de réactions. Il en découle une libération du NO. Le glutathion sert de réservoir endogène de NO¹⁵.

S-nitrosoalbumine La S-nitrosoalbumine est formée par fixation du NO sur un résidu cystéine de l'albumine. En 1992, Stamler et coll ont montré que la S-nitrosoalbumine est un S-nitrosothiol possédant une demi-vie de quelques heures et une activité vasodilatatrice. Ce complexe est le principal réservoir de NO au niveau du plasma¹⁵.

1.1.5. Mécanisme d'action du NO

Le NO peut agir selon les trois mécanismes d'actions suivants. Il peut agir par métal-nitrosylation pour réguler l'activité enzymatique. Il peut également former des S-nitrosothiols ou du péroxynitrite lorsqu'il réagit avec l'anion superoxyde.

1.1.5.1. Métal-nitrosylation et guanylate cyclase

La métal-nitrosylation est une réaction réversible qui met en jeu le NO et une métalloprotéine afin de créer un complexe métal-nitrosyl. Par exemple, la guanylate cyclase est une enzyme hémérique activée par métal-nitrosylation¹⁷.

Deux formes de guanylate cyclase ont été découvertes au milieu des années 1970. La première forme nommée « soluble GC » ou « cytosolic GC » est soluble. La seconde forme, appelée « NO sensitive » est associée à une membrane cellulaire¹⁸. Nous allons tout d'abord décrire l'activation de la guanylate cyclase par le NO, puis les réactions qui en découlent. Pour finir, nous détaillerons brièvement les conséquences de cette activation au niveau de l'organisme.

Activation de la guanylate cyclase par le NO

Le NO se lie réversiblement à l'atome de fer de la guanylate cyclase et l'active (Figure 4). Son activation induit la réduction de la guanosine trisphosphate (GTP) en guanosine mono phosphate cyclique (GMPc).

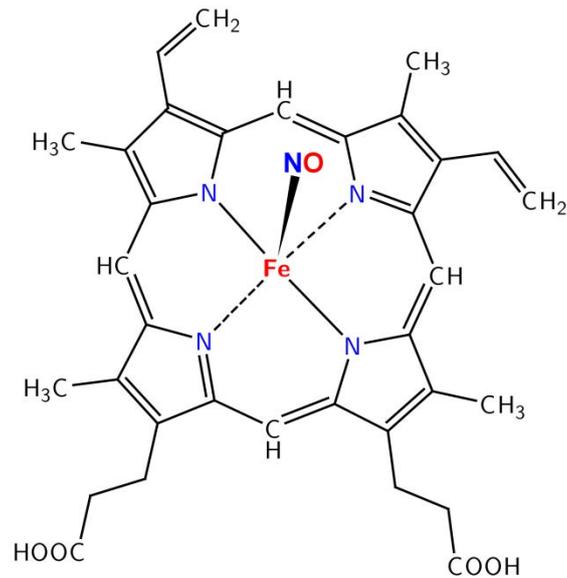


Figure 4 : Fixation du monoxyde d'azote (NO) sur la guanylate cyclase. Le NO se fixe par métal-nitrosylation sur l'atome de fer (Fe) présent sur le groupement hème de la guanylate cyclase. La métal-nitrosylation permet d'activer la guanylate cyclase.

Cascade de réactions induite par cette activation

Le GMPc est un second messager cellulaire qui active sélectivement les protéines kinase (PK) (Figure 5). Les PK sont des médiateurs intracellulaires de la voie de signalisation de GMPc¹⁹. Il en existe deux types, PKG et PKA.

PKG La PKG est une sérine/thréonine kinase. Deux sous-types de protéines existent, PKG I et PKG II²⁰. La PKG I est exprimée dans les tissus, notamment au niveau des muscles lisses, du cervelet et des plaquettes. La PKG II est un homodimère lié à la membrane, également appelé protéine membranaire. Elle est absente du système cardiovasculaire, cependant elle est exprimée au niveau du cerveau, des cartilages et de l'épithélium intestinal²⁰.

PKA La PKA est semblable à la PKG, cependant son activité est dépendante du niveau d'AMPc dans la cellule et non de celui du GMPc.

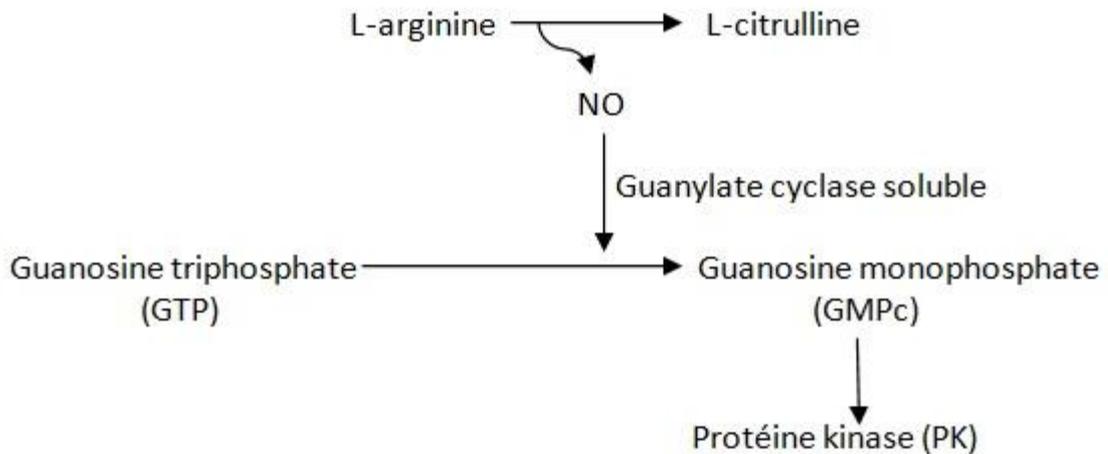


Figure 5 : Cascade de réactions impliquant le monoxyde d'azote (NO) et la guanylate cyclase soluble. Le NO est produit à partir de la L-arginine. Il se lie à la guanylate cyclase et l'active. Cela induit la formation de guanosine monophosphate (GMPc) à partir de guanosine triphosphate (GTP). Le GMPc est un messager cellulaire qui à son tour peut activer un médiateur intracellulaire, la protéine kinase (PK).

Effets de l'activation de la guanylate cyclase au niveau de l'organisme

(Tableau II)

Le NO est un activateur de la guanylate cyclase soluble. Dans les cellules musculaires lisses vasculaires, l'accumulation de GMPc induit une vasodilatation via les PKG²¹.

Dans les plaquettes, le NO provient de l'endothélium vasculaire ou des plaquettes elles-mêmes. Une accumulation de GMPc conduit à l'inhibition de l'agrégation des plaquettes. Cette fonction biologique sera évoquée dans la partie concernant les NO-statiques à l'étude dans le traitement des hypercholestérolémies²¹.

Dans le système nerveux central (SNC), le NO est formé dans les cellules post-synaptiques des nerfs après activation des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate). Il agit comme messager rétrograde et diffuse dans les cellules nerveuses présynaptiques.

Le NO joue également un rôle essentiel sur le volume cellulaire. Cette fonction intervient en ophtalmologie, au niveau des cellules constituant le *trabeculum* et le canal de Schlemm afin d'améliorer l'écoulement de l'humeur aqueuse²².

Enfin, dans les réactions inflammatoires et immunologiques, le NO est produit par les macrophages et les neutrophiles. Ainsi, lorsqu'il est produit en grande quantité, le NO est cytotoxique²¹.

Tableau II : Effets physiologiques de l'activation de la guanylate cyclase par le monoxyde d'azote. D'après^{18, 21, 23}.

Localisation	Effet physiologique
Cellule musculaire lisse	Relaxation
Plaquette	Inhibition de l'agrégation plaquettaire
Membrane synaptique	Modulation de la transmission synaptique
Macrophage	Réponse immunitaire non spécifique
Cytochrome C oxydase (CcOX)	Inhibition réversible de la CcOX

1.1.5.2. Formation de S-nitrosothiols à partir du NO

La S-nitrosation peut impliquer des acides aminés, des peptides et des protéines. Elle est caractérisée par la formation réversible d'une liaison covalente entre le NO et l'atome de soufre d'un résidu cystéine (Figure 6). Le mécanisme de S-nitrosation peut impliquer des métalloprotéines, comme l'hémoglobine.

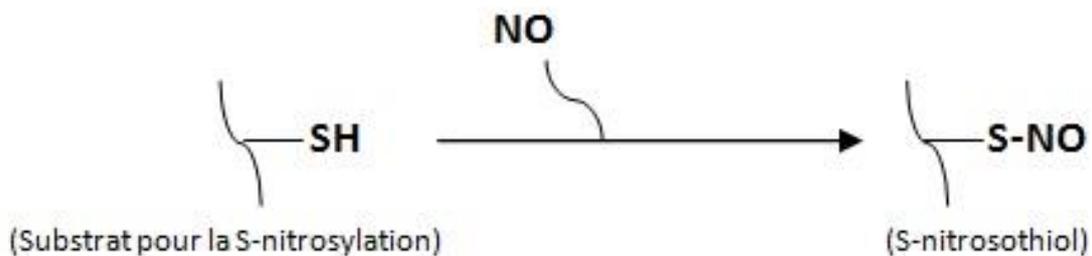
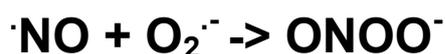


Figure 6 : S-nitrosation. Formation réversible d'une liaison covalente entre le monoxyde d'azote (NO) et l'atome de soufre (S) d'une protéine. Il en découle la formation d'un S-nitrosothiol.

Un autre mécanisme de S-nitrosation existe, la transnitrosation. Il consiste à échanger directement un groupement NO^+ d'une protéine S-nitrosée sur un thiolate réactif d'une seconde protéine. Cette réaction permet comme pour la S-nitrosation de former un nitrosothiol¹⁷.

1.1.5.3. Formation de peroxyde nitrite à partir du NO et de l'anion superoxyde

La formation de peroxyde nitrite est une réaction rapide mettant en jeu deux espèces radicalaires : le NO et l'anion superoxyde (O_2^-)¹⁷.



La formation de cet ion peroxydinitrite entraîne la nitration et l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides et une altération de l'ADN. Ceci peut conduire à une apoptose et une nécrose cellulaire qui se manifeste par des lésions cellulaires et tissulaires.

La nitration est une réaction chimique qui permet d'introduire un groupement NO_2 dans une molécule. Selon l'atome sur lequel se greffe le groupe nitro-, la nitration peut être de plusieurs types : C-nitration, O-nitration, N-nitration et Tyr-nitration. La Tyr-nitration entraîne une diminution de l'activité catalytique de la NOS II⁸.

1.2. Utilisation du NO sous forme de gaz dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né

Le NO est un puissant vasodilatateur utilisé sous sa forme originelle dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire persistante (HTAPP) du nouveau-né. Quelques généralités concernant l'HTAPP vont être abordées dans cette partie afin de mieux comprendre l'implication et l'utilisation du NO dans le traitement de cette pathologie.

1.2.1. L'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né

L'HTAPP est due à une anomalie lors de l'adaptation post natale de la circulation pulmonaire. Le NO est un puissant vasodilatateur, il est impliqué dans ce processus d'adaptation. La circulation fœtale et son passage à la circulation post-natale vont être expliqués brièvement dans cette partie afin de mieux comprendre cette pathologie²³.

La circulation fœtale

La circulation fœtale (Figure 7) est caractérisée par des résistances vasculaires pulmonaires élevées et un shunt droite-gauche²⁴. Elle dépend entièrement du placenta. Le sang quitte le placenta par la veine ombilicale, puis rejoint la veine cave

inférieure, afin d'arriver dans l'oreillette droite du cœur. La majeure partie du sang passe ensuite dans l'oreillette gauche grâce à un court-circuit (shunt) : le *foramen ovale*. La valvule mitrale permet au sang de passer dans le ventricule gauche afin d'être éjecté dans l'aorte. Un deuxième shunt, le canal artériel, permet d'oxygéner le cerveau et les autres organes. Le sang, enrichi en CO₂ et pauvre en nutriments, se mélange en grande partie au sang enrichi en O₂ par la veine cave inférieure.

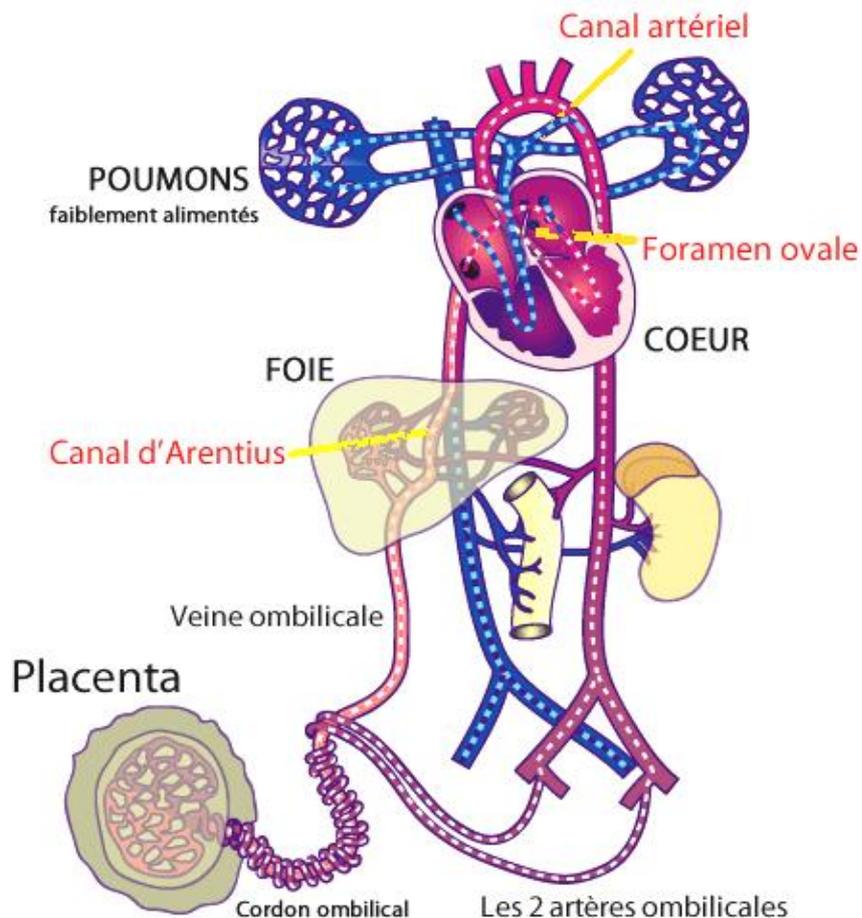


Figure 7 : La circulation fœtale. La circulation fœtale est dépendante du placenta et a lieu grâce au cordon ombilical. Les poumons sont faiblement alimentés. Le *foramen ovale* permet au sang de passer de l'oreillette droite à l'oreillette gauche. Le canal artériel permet l'oxygénation du cerveau et des autres organes²⁵.

Il est d'abord important de comprendre que la circulation fœtale est possible grâce à des résistances pulmonaires élevées. Ce sont des forces qui s'opposent à l'écoulement du sang dans les vaisseaux sanguins. La loi de Poiseuille, découverte par le médecin Jean-Léonard-Marie Poiseuille, est la relation mathématique entre le débit d'écoulement du sang dans un vaisseau sanguin en fonction de son diamètre,

de sa longueur, la viscosité du sang et la différence de pression dans le vaisseau. Le diamètre des vaisseaux sanguins est le principal facteur modulateur des résistances. Les résistances vasculaires pulmonaires périnatales sont modulées par des facteurs vasoconstricteurs (hypoxie) et des facteurs vasodilatateurs (ventilation alvéolaire, forces de cisaillements, oxygène)²³. L'endothélium vasculaire est un site de production de composés vasoconstricteur (endothéline-1) et vasodilatateur (NO)²³. Les résistances deviennent persistantes lorsque la vasodilatation est absente ou insuffisante.

La circulation néonatale normale

Lors de la naissance, le placenta se sépare brusquement de la circulation (Figure 8). Les poumons sont désormais la principale source d'oxygène. Les premiers mouvements respiratoires permettent l'ouverture des poumons et des vaisseaux pulmonaires²⁴. Les résistances pulmonaires, plus élevées que les résistances systémiques en période fœtale, chutent de moitié. Cette chute des résistances est un élément essentiel dans l'adaptation de la circulation néonatale. En effet, cela permet de multiplier le débit pulmonaire par 10^{23} . Ce phénomène induit une augmentation de la pression et donc la fermeture du *foramen ovale* par une valvule. Une fois la circulation pulmonaire installée, la fermeture du canal artériel permet une séparation définitive avec la circulation systémique.

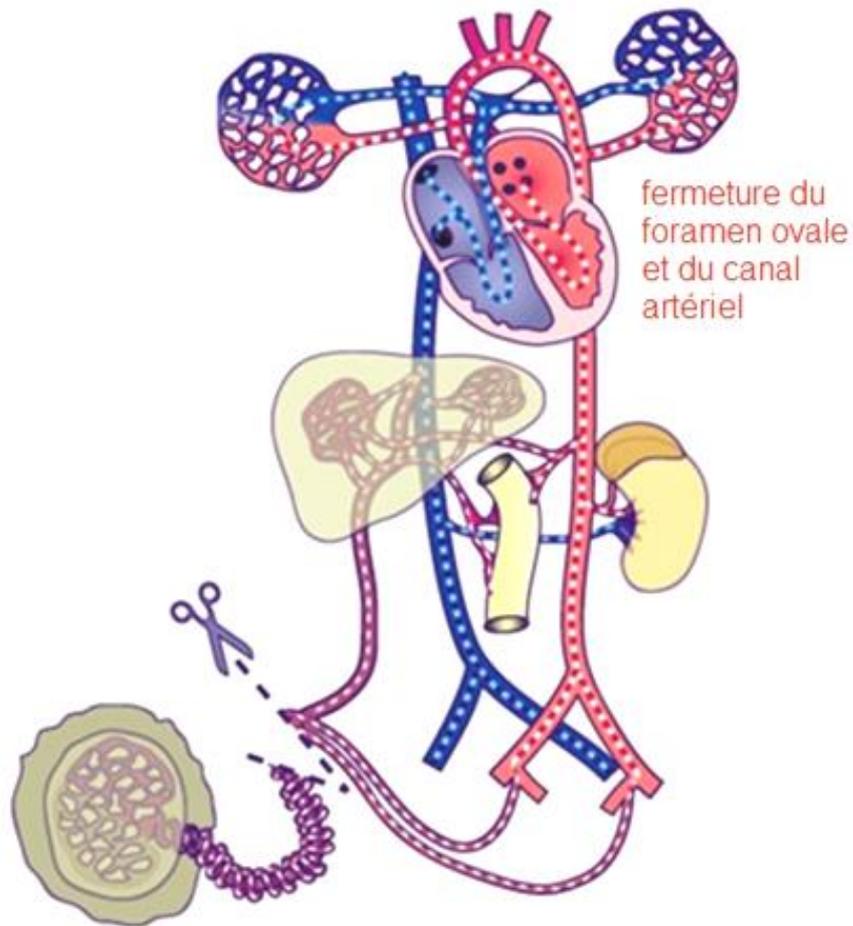


Figure 8 : La circulation post-natale. La circulation post-natale dépend entièrement des poumons. Le cordon ombilical est rompu, le placenta n'intervient plus dans la circulation. A la naissance, les modifications hémodynamiques et l'établissement de la ventilation pulmonaire entraînent la fermeture du *foramen ovale* et du canal artériel²⁵.

La circulation néonatale chez le nouveau-né atteint d'HTAPP

Dans l'HTAPP du nouveau-né, la baisse rapide et physiologique des résistances pulmonaires est retardée voire absente. Par conséquent, le *foramen ovale* ainsi que le canal artériel persistent et provoquent un shunt droite-gauche extra pulmonaire²⁴. Il en découle une hypoxémie sévère associée le plus souvent à une diminution de la pression systémique ainsi que du débit cardiaque^{26, 27}.

L'hypoxie est l'un des signes majeurs de l'HTAPP. Une échographie cardiaque permet de diagnostiquer cette pathologie ainsi que d'évaluer le shunt et la fonction cardiaque. Elle permet également d'éliminer une possible cardiopathie cyanogène²⁶.

1.2.2. Le NO inhalé dans le traitement de l'HTAPP

Le NO est un puissant vasodilatateur utilisé dans le traitement de l'HTAPP. Nous allons tout d'abord détailler le mode d'action du NO gazeux dans le traitement de cette pathologie. Il est important d'utiliser ce gaz inhalé à des doses optimales afin d'éviter une potentielle toxicité²⁸.

1.2.2.1. Mode d'action du NO inhalé

Le NO inhalé (iNO) a des effets semblables à ceux du NO endogène²⁹. Le iNO a une demi-vie courte de quelques secondes et diffuse à travers la paroi des alvéoles pulmonaires vers les cellules musculaires lisses des artérioles. Une fois dans la circulation sanguine, le NO se lie à l'hémoglobine pour être inactivé²³. Cela explique l'absence d'effets au niveau systémique. De ce fait il n'y a aucun risque d'avoir une hypotension systémique²⁹. Il dilate sélectivement les vaisseaux pulmonaires vasoconstrits et améliore l'oxygénation²⁴.

Le NO est synthétisé dans la cellule endothéliale grâce à eNOS (Figure 9). Il diffuse à l'extérieur de la cellule endothéliale vers l'endothélium en passant par la lumière vasculaire²⁴. Le NO active la guanylate cyclase soluble de la cellule musculaire lisse et permet la synthèse du GMPc à partir du GTP. A son tour, le GMPc active la PKG qui peut contrôler directement ou indirectement la contraction de la cellule musculaire lisse. Les PKG diminuent les concentrations calciques intracytosoliques grâce à des mouvements de recapture et/ou d'extrusion du calcium entre le réticulum et le cytosol²⁴. Elles peuvent également induire l'ouverture des canaux potassiques calcium dépendant (K_{Ca}) et inactiver les canaux calciques voltage-dépendant. La diminution de la concentration calcique inhibe les interactions entre l'actine et les chaînes légères de myosine qui aboutit à une vasodilatation. Cette dilatation apparaît lorsque la concentration en calcium est inférieure à 500mM. En effet, le calcium ne peut plus former de complexe avec la calmoduline. Il en découle une inactivation des kinases des chaînes légères de la myosine ainsi qu'une déphosphorylation de ces chaînes qui empêche les têtes de myosine de se lier à l'actine. Cette cascade de réactions mène à une relaxation vasculaire qui a pour effet de diminuer l'hypertension pulmonaire et l'hypoxie.

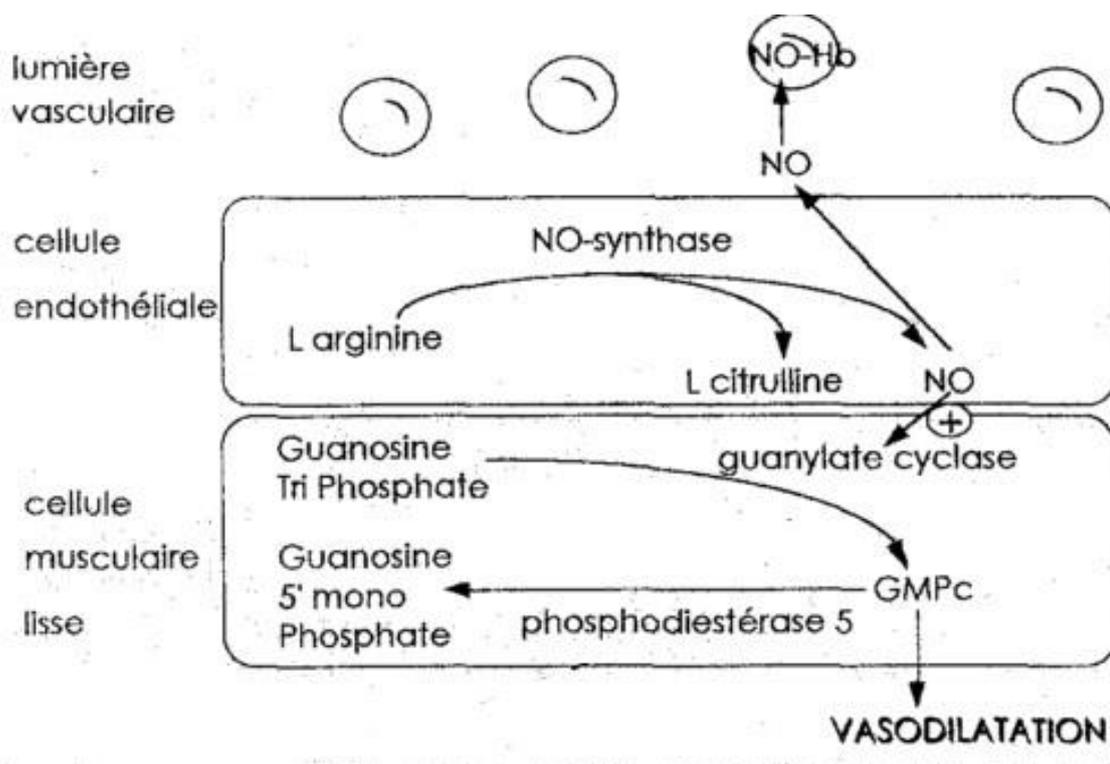


Figure 9 : Mécanisme d'action du monoxyde d'azote (NO) pour induire une vasodilatation. Le NO est synthétisé grâce à la NO-synthase dans la cellule endothéliale à partir de l'acide aminé, la L-arginine. Il diffuse vers la cellule musculaire lisse en passant par la lumière vasculaire. Une fois dans la cellule musculaire lisse, le NO active la guanylate cyclase afin de former du GMPc. Ce dernier induit une vasodilatation grâce à la NO-signalisation²⁴.

1.2.2.2. Doses optimales et potentielle toxicité du NO inhalé

Le NO est utilisé sous forme inhalé dans le traitement de l'HTAPP du nouveau-né chez les enfants venus au monde après la 34^{ème} semaine de grossesse³⁰. Il permet d'améliorer rapidement l'oxygénation et de diminuer le risque de mortalité²⁹. Du fait de sa courte demi-vie, 2 à 6 secondes, il est administré en continu car ses effets vasodilatateurs pulmonaires sont transitoires³¹.

La dose optimale d'utilisation a été déterminée lors d'une étude clinique de phase II, elle est comprise entre 5 à 20 parties par million (ppm). Les doses de NO inhalé pouvant être utilisées sont comprises entre 1 et 80 ppm. La dose maximale recommandée pour débiter un traitement est de 20 ppm et provoque une réponse en moins de trente minutes. Si il n'y a pas de réponse visible, la dose peut être augmentée par palier de 5 à 10 ppm, jusqu'à 40 ppm²³. Cependant, une potentielle toxicité est possible à partir de ce seuil³¹.

Un arrêt graduel doit être effectué afin d'éviter un effet rebond, telle qu'une hypoxémie sévère. L'oxygénation doit être stabilisée durant 4 à 6 h pour débiter le sevrage. La dose est diminuée de 50 % toutes les 4 à 6 h jusqu'à l'obtention d'une dose de 5 ppm. Une fois cette dose atteinte, elle est progressivement diminuée de 1 ppm toutes les 4 h³¹.

La toxicité du NO inhalé concerne essentiellement la production de dioxyde d'azote (NO₂) et de méthémoglobine.

Production de NO₂ Elle a lieu lorsque le NO est en présence de forte concentration d'oxygène. C'est pour cette raison que le NO est conservé dans de l'azote ou dans un gaz inerte. Le NO₂ est toxique à partir de 5 ppm et peut induire des lésions pulmonaires. Il augmente l'expression des cytokines inflammatoires et altère l'épithélium respiratoire. Lors des essais cliniques, la dose en NO₂ n'a jamais atteint 5 ppm²⁹.

Production de méthémoglobine La méthémoglobinémie correspond à un taux important de méthémoglobine dans le sang. Les agents oxydants tels que les nitrates peuvent oxyder le fer ferreux (Fe²⁺) de l'hème en fer ferrique (Fe³⁺) le rendant incapable de se lier à l'oxygène. Des études ont montré un niveau de pointe en méthémoglobine de 2,4 % ± 1,9 %³¹. Cependant, les niveaux de méthémoglobine ne sont jamais élevés.

1.2.3. INOmax®

Le principe actif du médicament INOmax® est du NO inhalé (iNO). C'est un mélange gazeux contenant 400 ppm de NO dans de l'azote. Il a obtenu son AMM le 1^{er} août 2001 pour l'indication suivante : *«INOmax est indiqué en association à la ventilation assistée et au traitement conventionnel en traitement des nouveau-nés d'âge gestationnel > 34 semaines, présentant une détresse respiratoire hypoxémiant associée à des signes cliniques ou électrocardiographiques d'hypertension artérielle pulmonaire, dans le but d'améliorer l'oxygénation et d'éviter le recours à l'oxygénation par circulation extracorporelle.»*^{30, 32}. C'est le seul médicament ayant

cette indication. Dans le cadre du traitement de l'HTAPP du nouveau-né, la prescription d'INOmax® est limitée aux services de néonatalogie³⁰. Nous allons détailler le brevet ainsi que l'étude de phase II qui démontre l'efficacité du NO inhalé dans le traitement de l'HTAPP.

1.2.3.1. Brevet concernant le NO inhalé

Un brevet protégeant le système de distribution du iNO a été déposé en novembre 1993 et publié en septembre 1996 (brevet n°US5558083)³³. Il évoque l'utilisation du NO pour son effet vasodilatateur pulmonaire sur les patients et plus particulièrement chez les nouveau-nés atteints d'HTAPP. Le système de délivrance du NO est utilisable avec différents types de respirateurs : à débit continu mais également à débit discontinu²³. Il permet de fournir une concentration prédéterminée de NO au patient.

1.2.3.2. Etude clinique de phase II du NO inhalé dans le traitement de l'HTAPP du nouveau-né

Des études précliniques ainsi que des études cliniques ont été effectuées. Dans cette partie, seule l'étude clinique de phase II qui prouve l'efficacité du NO est décrite. En effet, le iNO permet d'obtenir une meilleure oxygénation systémique chez les nouveau-nés atteints d'HTAPP. Cette étude clinique de phase II est effectuée sur des nouveau-nés recrutés selon des critères d'exclusion et d'inclusion suivants⁶.

Critères d'inclusion

- Hypertension artérielle pulmonaire diagnostiquée par échocardiographie
- Pression partielle de l'oxygène artériel(PaO₂) de 55 mmHg
- Ventilation mécanique (FiO₂) de 1,0
- Gestation à terme
- Cathétérisme permettant de mesurer les gaz du sang, le pH et la pression artérielle

Critères d'exclusion

- Traitement antérieur par oxygénation extracorporelle
- Hernie diaphragmatique congénitale
- Lésions cardiaques structurelles
- Pression aortique moyenne < 40 mmHg
- Anomalie chromosomique létale
- Pneumothorax

Cinquante-huit nouveaux nés ont été recrutés pour cette étude qui s'est déroulée entre juillet 1992 et octobre 1995. Ils sont divisés en deux groupes, un groupe témoin (28 nouveaux-nés) et un groupe traité par iNO (30 nouveaux-nés). Des effets à court et à long terme sont constatés.

Effet à court terme

L'oxygénation, la pression artérielle en oxygène (PaO_2) et l'indice d'oxygénation sont mesurés dans les deux groupes et comparés. La PaO_2 (mmHg) est la pression partielle exercée par l' O_2 dissous dans le sang artériel ; sa valeur normale se situe entre 80 et 90 mmHg. L'index d'oxygénation (IO) est évalué en fonction de la fraction inspirée en oxygène (FiO_2 en mmHg), la pression moyenne dans les voies aériennes (Paw en cmH_2O) et la pression partielle artérielle en oxygène (PaO_2 en mmHg). La formule est la suivante : $IO = FiO_2 \times Paw / PaO_2$. Un faible IO est signe d'une augmentation de la PaO_2 . Par conséquent, une diminution de l'IO signifie une amélioration de l'état du patient.

Oxygénation

iNO permet d'augmenter l'oxygénation chez 53 % des nouveau-nés (16 patients/30), alors que le gaz témoin n'augmente l'oxygénation que chez 7 % des nouveau-nés (2 patients/28) ($P0,002$). Le *ratio* entre le nombre de cas d'inhalation d'iNO et le nombre de cas d'oxygénation extracorporelle est de 14,9 (intervalle de confiance de 95 %).

PaO_2 et indice d'oxygénation

Dans le groupe traité par iNO, il est constaté une augmentation de la PaO_2 de 41 ± 9 mm Hg à 89 ± 70 mmHg (Figure 10) ainsi qu'une diminution de l'indice d'oxygénation de 43 ± 17 à 25 ± 14 ($P0,001$) (Figure 11). Dans le groupe témoin, aucune augmentation significative de la PaO_2 et aucune diminution de l'IO ne sont visibles.

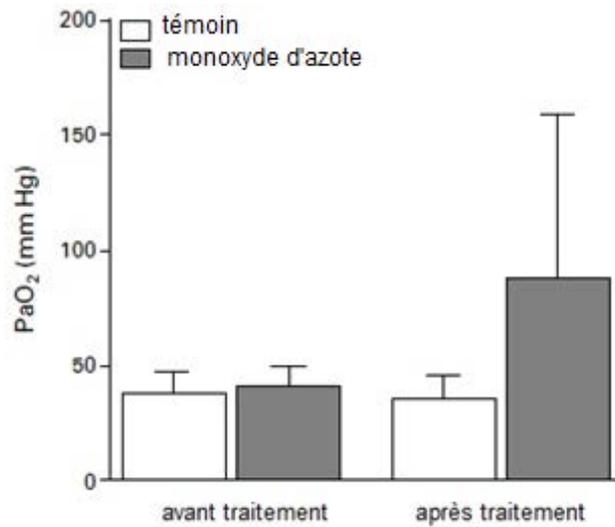


Figure 10 : Pression partielle de l'oxygène artériel (PaO₂) avant et après le traitement par du monoxyde d'azote inhalé (iNO).

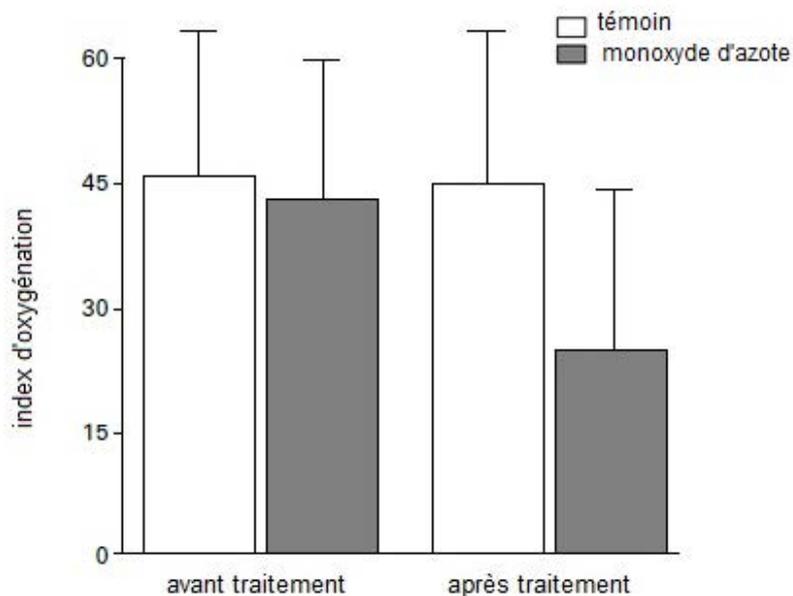


Figure 11 : Index d'oxygénation (IO) avant et après le traitement par du monoxyde d'azote inhalé (iNO).

Effet à long terme

La moitié des nourrissons ont eu besoin de moins de 2 jours de traitement. Le traitement le plus long a duré 8,5 jours. Deux nouveau-nés de chaque groupe sont décédés durant l'étude. La nécessité d'oxygénation extracorporelle dans le groupe traité par iNO est de 40 % (12 nourrissons/30) contre 71 % (20 nourrissons/28) dans

le groupe témoin. Le *ratio* entre l'utilisation d'iNO et la diminution de l'utilisation d'oxygénation extracorporelle est de 3,8 avec un intervalle de confiance de 95 %.

Aucune hypotension systémique n'a été visible chez ces nourrissons. Une légère augmentation des taux de méthémoglobine est observable, cependant 90 % des nouveau-nés ont des valeurs inférieures à 10 %⁶.

Pour conclure, un réel bénéfice d'iNO est observable dans le traitement de l'HTAPP du nouveau-né. Ce vasodilatateur accroît la PaO₂ en dilatant les vaisseaux pulmonaires dans les zones les mieux ventilées du poumon. Cela permet de mieux redistribuer le débit sanguin vers les zones les moins perfusées. La vasodilatation est obtenue grâce à la liaison du NO à la guanylate cyclase. L'hypoxémie induite par l'HTAPP du nouveau-né est alors corrigée, en effet une nette amélioration de l'oxygénation est visible.

2. Les donneurs de NO déjà existants en thérapeutique

Comme nous l'avons vu dans la première partie, le NO est utilisé en cardiologie dans le traitement de l'HTAPP chez les nouveau-nés. Cependant, sous sa forme gazeuse, le NO a une demi-vie courte de quelques secondes. Des donneurs de NO sont également utilisés en thérapeutique cardiovasculaire³⁴. Par exemple.

Le nitroprussiate de sodium est utilisé dans le traitement des urgences hypertensives et des insuffisances cardiaques aiguës. Nous ne détaillerons pas cette utilisation qui a une valeur plutôt « historique ». Toutefois nous devons signaler qu'il a été à l'étude dans la schizophrénie en 2014³⁵.

En effet, le nitroprussiate de sodium se décompose dans l'organisme au niveau des érythrocytes et des tissus en cyanure (CN^-), qui est ensuite transformé en thiocyanate (SCN^-) et en NO. Le NO agit en aval des récepteurs N-méthyl-D-aspartique « NMDA » et module la libération de neurotransmetteurs tels que le glutamate, l'acide γ -aminobutyrique « GABA » et la dopamine. Les patients atteints de schizophrénie ont un faible taux sérique de NO³⁶.

En 2014, une étude clinique de phase II a d'ailleurs été effectuée au « Massachusetts General Hospital » sur 20 patients schizophrènes en double aveugle. Une perfusion intraveineuse unique de nitroprussiate de sodium est administrée à la posologie de 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ pendant 4 h. Les psychiatres évaluent les signes cliniques à l'aide d'une échelle de cotation psychiatrique brève « BPRS »³⁷. Cette étude clinique montre une évolution rapide et significative des symptômes. L'effet a lieu dès la 2^{ème} h de traitement et persiste pendant 1 mois^{36, 37}.

Les dérivés nitrés et les sydonimines sont deux autres familles de donneurs de NO, qui sont utilisés en cardiologie depuis les années 1980, principalement dans le traitement de l'angor. Les différentes formes galéniques permettent d'obtenir des traitements de fond et de crise. Nous allons tout d'abord aborder l'angor, puis les principes actifs.

2.1. L'angor

L'angor est une maladie coronarienne qui touche 25 % de la population après 65 ans. C'est une maladie qui résulte d'un déséquilibre transitoire entre l'apport d'O₂ et les besoins en O₂ du myocarde. Dans la majorité des cas, ceci est dû à la formation d'une plaque athéromateuse au niveau des coronaires qui conduit à un rétrécissement de la lumière. Cette pathologie se manifeste par des crises avec comme symptômes une douleur et/ou une sensation d'oppression thoracique. Plusieurs types d'angor existent :

Angor stable L'angor stable chronique est la forme la plus courante. L'effort, le froid, le stress ou encore un repas peuvent déclencher une crise. Cette forme est liée à la présence de plaques d'athérome qui obstruent partiellement la lumière coronaire et diminuent le flux sanguin.

Angor instable C'est une aggravation de l'angor stable. Cette forme est due à l'apparition de fissures ou d'une érosion de l'endothélium qui recouvre la plaque d'athérome.

Angor de Prinzmetal C'est la forme la plus rare d'angor. Les symptômes surviennent au repos ou le matin. Dans cette forme, les artères coronaires se contractent brutalement par spasme.

2.2. Implication du NO dans l'angor

Le NO joue un rôle important au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires. Il se fixe sur les groupements sulfhydryles et forme des groupements nitroso-thiols. Cela active la guanylate cyclase et induit la production de GMPc. Une relaxation des fibres musculaires lisses a lieu par expulsion du calcium vers l'extérieur de la cellule et par déphosphorylation des chaînes légères de la myosine. Cette action vasorelaxante se produit aux niveaux artériel, artériolaire et veineux³⁸. Il en résulte une réduction du retour veineux et une baisse de la pression artérielle. Une redistribution de la circulation coronaire et une réduction de la consommation cardiaque en oxygène permettent une action bénéfique sur l'angor.

2.3. Traitement de l'angor : les dérivés nitrés et les sydnonimines

L'effet vasodilatateur veineux et artériel des donneurs de NO explique leur utilisation dans le traitement de l'angor. Ils permettent de diminuer la pré et post-charge. Différentes formes galéniques sont utilisées dans le but de traiter les crises angineuses ou de les prévenir avec un traitement de fond. Quatre molécules sont utilisées dans cette indication (Tableau III); la trinitrine, le dinitrate d'isosorbide, le mononitrate d'isosorbide et la molsidomine.

2.3.1. Molécules utilisées : lien entre la galénique et la pharmacocinétique

Tableau III : Dénomination commune internationale (DCI), nom de spécialités et date d'obtention des autorisations de mise sur le marché (AMM) des traitements utilisés dans l'angor.

Traitement de la crise (dérivés nitrés d'action rapide)

DCI	Nom de spécialités	Date d'obtention AMM
Trinitrine	Natispray®	1987 (0.15 mg/dose)
		1997 (0.30 mg/dose)
	Nitronal spray®	2005
Dinitrate d'isosorbide	Isocard®	1986

Prévention de la crise et traitement de fond (dérivés nitrés d'action prolongée)

Trinitrine	Cordipatch®	1987
	Diafusor®	1994
	Discotrine®	1989 (5 et 10 mg/24h)
		1995 (15 mg/24h)
		2002
	Epinitril®	1984 (5 mg/24h)
		1985 (10 mg/24h)
	Nitriderm®	1996 (15mg/24h)
1994 (5 et 10 mg/24h)		
Trinipatch®	1998 (15 mg/24h)	
Dinitrate d'isosorbide	Langoran®	1980 (20 mg)
		1988 (80 mg)
	Risordan®	1980
Mononitrate d'isosorbide	Monicor®	1985 (20 mg)
		1986 (40 et 60 mg)
Molsidomine	Corvasal®	1980 (2 mg)
		1987 (4 mg)

2.3.1.1. La trinitrine

La trinitrine (Figure 12), également connue sous le nom de nitroglycérine, a été découverte en 1847 par Ascanio Sobrero. Ce composé chimique liquide et incolore est utilisé dans la fabrication d'explosifs et plus particulièrement de la dynamite. Il est

également utilisé dans le domaine médical pour ses propriétés vasodilatatrices. Dans les années 1860, Alfred Nobel élabore son processus de fabrication industrielle, la nitration de la glycérine.

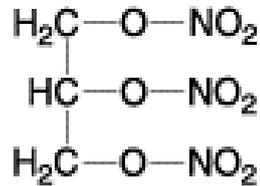


Figure 12 : Formule semi-développée de la trinitrine. Formule brute : $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_9$. Masse molaire : 227 g/mol.

Les différentes formes galéniques employées permettent à la trinitrine d'être utilisée dans le traitement de la crise angineuse et dans la prévention des crises avec le traitement de fond de l'angor.

Dispositifs transdermiques Cette forme confère à la trinitrine des propriétés de dérivé nitré d'action prolongée. Son indication est le traitement de fond de l'angor. Cette forme galénique permet d'obtenir une concentration plasmatique constante après l'application du dispositif transdermique. Le taux plasmatique de trinitrine devient négligeable 1 h après son retrait³⁹.

Sprays sublinguaux La trinitrine est un dérivé nitré d'action rapide et courte lorsqu'elle se trouve sous cette forme galénique. En effet, les sprays administrés par voie sublinguale sont utilisés spécifiquement au moment de la crise. Ils peuvent également être utilisés pour prévenir la crise dans des situations à risque comme un effort. Ils permettent d'obtenir un effet en moins de 5 minutes. Le taux plasmatique en trinitrine diminue ensuite très rapidement³⁹.

2.3.1.2. **Le dinitrate d'isosorbide**

Le dinitrate d'isosorbide (Figure 13) est un nitrate organique utilisé dans l'angor et dans l'insuffisance cardiaque. Les formes galéniques utilisées lui confèrent des propriétés de dérivé nitré d'action prolongée et d'action rapide.

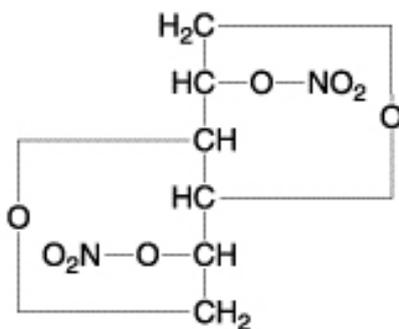


Figure 13 : Formule semi-développée du dinitrate d'isosorbide. Formule brute : $C_6H_8N_2O_8$. Masse molaire : 236 g/mol.

Le dinitrate d'isosorbide est rapidement et totalement métabolisé en deux métabolites par une famille d'enzyme, les glutathion S transférases. Ces métabolites sont le 2-mononitrate isosorbide et le 5-mononitrate isosorbide. Le dinitrate d'isosorbide a une demi-vie de 4 à 5 h et son élimination est à 99 % urinaire³⁹.

Voie sublinguale
Prévention ou traitement de la crise

Le spray sublingual permet au dinitrate d'isosorbide d'être un dérivé nitré d'action rapide et courte. Il est utilisé dans le traitement curatif de la crise angineuse ainsi que dans le traitement préventif à très court terme de la crise⁴⁰. Son nom de spécialité est l'Isocard®. Ce dernier a une absorption immédiate et un temps de demi-vie de 19 minutes³⁹.

Voie orale
Traitement de fond

Les spécialités Langoran® LP et Risordan® sont des dérivés nitrés d'action prolongée. Le Langoran® LP est utilisé par voie orale dans le traitement de fond de l'angor⁴¹. Son temps de demi-vie est de 30 minutes : cependant, sa forme galénique à libération prolongée permet une libération du principe actif pendant au moins 8h³⁹. Le Risordan® est également utilisé en prévention de la crise angineuse⁴². Sa demi-vie est de 40 minutes³⁹.

Voie injectable
Traitement angor instable

Le Risordan® injectable (voie intraveineuse, voie intracoronaire) est utilisé dans le traitement de l'angor instable. Mais également dans l'insuffisance ventriculaire gauche, l'œdème aigu pulmonaire cardiogénique, la levée d'un spasme artériel coronaire et la recherche d'une vasodilatation coronaire lors d'une coronographie⁴³. Son usage est strictement hospitalier et sa demi-vie est de 65 minutes.

2.3.1.3. Le mononitrate d'isosorbide

Le mononitrate d'isosorbide (Figure 14) est le principal métabolite actif du dinitrate d'isosorbide, le 5-isosorbide mononitrate. Il a une biodisponibilité de 100 %. Il est connu sous le nom commercial de Monicor®. C'est un dérivé nitré d'action prolongée utilisé dans l'angor et dans l'insuffisance cardiaque. La forme galénique libération prolongée du Monicor® permet une diffusion lente et continue. Cette propriété lui permet de couvrir une grande partie du nycthémère³⁹.

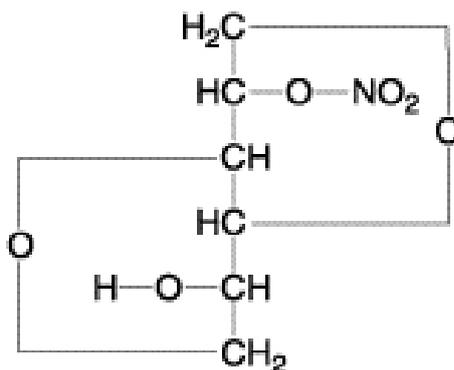


Figure 14 : Formule semi-développée du mononitrate d'isosorbide. Formule brute : C₆H₁₀O₄.
Masse molaire : 146 g/mol.

2.3.1.4. La molsidomine

La molsidomine (Figure 15) est connue sous le nom commercial de Corvasal®. Cette spécialité est administrée par voie orale. Elle appartient à la classe des sydnonimines. La molsidomine est une pro-drogue qui doit être métabolisée en dérivé actif. Elle libère le NO lors du métabolisme hépatique grâce aux estérases hépatiques.

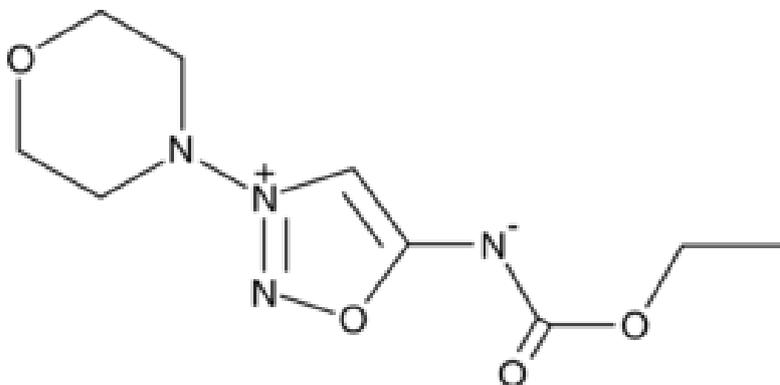


Figure 15 : Formule semi-développée de la molsidomine. Formule brute : C₉H₁₄N₄O₄ Masse molaire : 242 g/mol.

D'un point de vue cinétique la molsidomine est absorbée au niveau intestinal. La concentration plasmatique maximale est atteinte en 30 à 60 minutes. La demi-vie varie entre 1 à 2 h. L'élimination de la molsidomine et de ses métabolites est rénale³⁹.

Selon le dosage utilisé, l'indication de ce donneur de NO diffère. En effet, le Corvasal® 2 mg est utilisé dans la prévention de la crise angineuse alors que le Corvasal® 4 mg est utilisé dans le traitement de l'angor sévère rebelle⁴⁴.

2.3.2. Effets indésirables et surdosage

Les dispositifs transdermiques, les sprays sublinguaux et les comprimés ont des effets indésirables semblables. Les plus fréquents sont liés à la vasodilatation : céphalées, bouffées vasomotrices avec rougeur de la face, du cou et du thorax. Des nausées et vomissement sont également rapportés. Une hypotension orthostatique avec sensations de vertiges ainsi qu'une tachycardie réflexe peuvent survenir.

Le risque de surdosage est très faible. Cependant, il peut survenir par exemple lorsque plusieurs dispositifs transdermiques sont posés en même temps. Des effets indésirables systémiques surviennent tels que des nausées et des vomissements. Ces symptômes cessent lors du retrait des dispositifs transdermiques³⁹.

2.3.3. Phénomène d'échappement thérapeutique

Les dérivés nitrés induisent en quelques heures un phénomène d'échappement thérapeutique avec diminution très rapide de leurs effets. Cela se manifeste par la diminution de la capacité d'exercice sans déclenchement d'une crise. Il est nécessaire d'arrêter le traitement de 8 à 12 h par jour pour restaurer une réponse thérapeutique.

2.3.4. Recommandations pour le bon usage

Interactions

Les inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 sont contre-indiqués avec des dérivés nitrés. Il existe un risque d'hypotension importante pouvant aggraver l'état ischémique myocardique.

Les produits majorant le risque d'hypotension sont à utiliser avec prudence.

Conseils aux patients

Les dispositifs transdermiques sont appliqués sur une peau sèche, propre et peu pileuse (coté du thorax). Ils doivent être posés, par exemple, le matin et ôtés le soir afin de respecter l'intervalle libre de 8 h. Une pression de 10 secondes avec la paume permet une bonne adhérence du dispositif. L'endroit de pose doit être changé chaque jour afin d'éviter une éventuelle irritation. Les patchs usagés contiennent encore du principe actif. Ils doivent être repliés sur eux-mêmes dans une pochette spéciale et ramenés à l'officine.

La prise de médicaments par voie sublinguale doit être effectuée sous la langue pour que le produit passe plus rapidement dans le sang. En effet, cela permet d'éviter la voie digestive et donc le 1^{er} passage hépatique.

3.Exemples de nouvelles molécules hydrides donneuses de NO

Les donneurs de NO existent sous plusieurs formes. Tout d'abord, les dérivés nitrés [de formule générale RONO_2], dont ceux commercialisés ont déjà été présentés précédemment. Puis les NONOate [$\text{R}^1\text{R}^2\text{N}(\text{NO}^-)\text{-N=O}$], où R^1 et R^2 sont des groupes alkyles. Ces composés libèrent le NO lorsqu'ils sont en contact avec l'eau. Et pour finir, les nitrosothiols [R-S-N=O], où R est un groupe organique. Le S-nitrosoglutathion (GSNO) est un S-nitrosothiol à l'étude pour ses propriétés de vasodilatateur et d'antiagrégant plaquettaire. Il a été administré chez l'homme dans plusieurs essais de phase I ou II. Cependant, des problèmes de stabilité n'ont pas permis d'effectuer des essais cliniques de phase III³⁴.

Les nouvelles molécules hybrides donneuses de NO sont constituées de molécules déjà commercialisées sur lesquelles un groupement donneur de NO est greffé. Du fait de l'importance physiologique de NO, il existe de nombreuses molécules hybrides à l'étude. Dans le domaine cardiovasculaire, on retrouve par exemple : le S-nitroso-captopril, les NO-sartans, un dérivé hydride de la prazocine, le NCX 4016 qui est un dérivé de l'acide acétylsalicylique, ainsi que les NO-statines. D'autres molécules sont à l'étude dans le but de limiter le risque gastro-intestinal des anti-inflammatoires non stéroïdiens : la NONO-indométacine, le S-NO-diclofenac, le NO-ketoprofène, le NO-acétaminophène, le NO-rofecoxib et le NO-celecoxib. Deux autres molécules de cette classe pharmacologique sont à l'étude dans les dystrophies musculaires : le naproxcinod et le NO-ibuprofène.

Nous prendrons 3 exemples qui abordent trois pathologies différentes. Tout d'abord les NO-statines car les statines sont très importantes sur le plan de la santé publique et en volume de prescription. Cependant, leur observance n'est pas optimale à cause de la toxicité musculaire. Puis, le latanoprostène bunod qui est en essai clinique dans le traitement du glaucome. Et pour finir, deux molécules hydrides donneuses de NO dans le traitement des dystrophies musculaires ; le naproxcinod et le NO-ibuprofène. Dans cette troisième partie, seuls les essais cliniques les plus avancés sont développés.

3.1. Les NO-statines

Comme nous avons pu le voir, le NO a un rôle crucial en cardiologie, notamment dans le traitement de l'angor. Des nouvelles molécules sont à l'étude dans le traitement de l'hypercholestérolémie, les NO-statines. Un groupement donneur de NO est greffé sur des statines déjà commercialisées. Ces molécules conservent l'effet hypocholestérolémiant des statines. Cependant, des propriétés propres au groupement donneur de NO sont présentes ; un effet antiagrégant plaquettaire ainsi qu'une diminution de la myotoxicité.

Nous allons brièvement détailler l'hypercholestérolémie et son traitement actuel : les statines. Puis, nous développerons les NO-statines et leurs propriétés.

3.1.1. L'hypercholestérolémie

L'hypercholestérolémie est caractérisée par un taux anormalement élevé de cholestérol total dans le sang, supérieur à 6,45 mmol/L. Le taux total de cholestérol dans le sang correspond au taux de cholestérol HDL (lipoprotéine de haute densité) et LDL (lipoprotéine de faible densité). Les HDL captent le cholestérol en excès dans le sang afin de le conduire des artères vers le foie pour qu'il soit ensuite éliminé avec la bile. Les LDL, lorsqu'ils sont en excès, peuvent induire une accumulation du cholestérol dans les artères et les veines. Une élévation du taux de LDL cholestérol supérieur à 4,13 mmol/L nécessite une prise en charge diététique. En cas d'échec, un traitement médicamenteux est mis en place. L'hypercholestérolémie peut être due à une mauvaise hygiène alimentaire mais elle peut également être familiale, liée à une maladie ou à un médicament.

3.1.2. Implication du NO dans l'athérosclérose

Après oxydation, les LDL ont une action suppressive sur la eNOS. Il y a donc une plus faible production de NO. La conséquence est un déséquilibre de l'homéostasie, en faveur des facteurs vasoconstricteurs tels que l'angiotensine II et l'endothéline-1¹. La faible production de NO induit une augmentation de l'adhésion et l'agrégation des plaquettes ainsi que l'adhésion des leucocytes à l'endothélium⁴⁵. Il en découle une formation accrue de l'athérosclérose¹.

3.1.3. Traitement actuel de l'hypercholestérolémie

3.1.3.1. Les statines

A l'heure actuelle, le principal traitement de l'hypercholestérolémie est représenté par la classe médicamenteuse des statines. Ce sont des inhibiteurs de l'HMG Co A réductase, une enzyme qui catalyse l'étape précoce de la biosynthèse du cholestérol intracellulaire dans l'organisme. La synthèse du cholestérol est diminuée, il en découle une augmentation des récepteurs de LDL à la surface des hépatocytes et par conséquent une augmentation de la captation du LDL circulant. Le taux de cholestérol LDL circulant est alors réduit.

Entre 1989 et 2005, plusieurs statines ont obtenues une AMM dans le traitement de l'hypercholestérolémie (Tableau IV)⁴⁶.

Tableau IV : Dénomination commune internationale (DCI) des statines commercialisées : leurs noms de spécialités, leurs dosages et leurs dates d'obtention d'autorisation sur le marché.

DCI	Nom commercial	Dosages	Date d'obtention de l'AMM
Pravastatine	Elisor®,	10 et 20 mg	août 1989
	Vasten®	40 mg	juin 1999
Fluvastatine	Lescor®,	20 mg, 40 mg	septembre 1995
	Fractal®	LP 80 mg	février 2001
Atorvastatine	Tahor®	10, 20 et 40 mg	mars 1997
		80 mg	octobre 2000
Simvastatine	Lodales®,	20 mg	mai 1998
	Zocor®	40 mg	septembre 2001
Rovustatine	Crestor®	10, 20 mg	juin 2003
		5 mg	octobre 2005

3.1.3.1.1. Effets indésirables

Toutes les statines ont des effets indésirables semblables. De nombreux sont légers et de courte durée tels que les troubles digestifs, les maux de tête et les éruptions cutanées. Une fatigue, des insomnies et des manifestations allergiques peuvent également être présentes⁴⁷.

Les statines peuvent entraîner une hépatotoxicité. En effet, une élévation des transaminases est fréquente. A l'heure actuelle, le mécanisme d'action reste inconnu. Les cas d'atteinte hépatique symptomatique sont cependant rares.

Les statines peuvent également provoquer des troubles musculaires telles que des douleurs, une sensibilité anormale et douloureuse à la palpation, une sensation de fatigue et des crampes⁴⁷. Ces symptômes sont le plus souvent localisés au niveau des cuisses et des bras et se manifestent généralement dans les 3 premiers mois du traitement⁴⁷. Au niveau biologique, ces symptômes peuvent être associés ou non à une augmentation modérée des Créatine Phosphokinase (CPK) supérieure à 5 fois la normale⁴⁸. L'atteinte musculaire peut être plus sévère avec une rhabdomyolyse, c'est-à-dire une destruction des cellules musculaires. Ce symptôme se manifeste par des douleurs musculaires intenses et d'apparition brutale avec une difficulté à se

mouvoir. Au niveau biologique, une augmentation des CPK est importante, supérieure à 30 ou 40 fois la normale, conduisant à une myoglobinurie⁴⁸.

3.1.3.1.2. Recommandations pour le bon usage

Certaines associations augmentent le risque musculaire, la simvastatine et l'atorvastatine sont contre-indiquées avec l'itraconazole, le ketoconazole, la delavirdine et les anti-protéases. Les concentrations de ces deux statines sont augmentées en présence de ces molécules, le risque musculaire est alors augmenté. La statine doit être interrompue pendant la durée du traitement associé⁴⁸.

Les statines sont déconseillées avec les fibrates car leur association augmente le risque de toxicité musculaire.

3.1.3.1.3. Rapport bénéfice / risque

D'un point de vue musculaire, le bénéfice obtenu grâce au traitement par une statine est démontré et supérieur au risque de développer un problème musculaire. Il est important de noter que les rhabdomyolyses restent exceptionnelles⁴⁷.

Les statines permettent de réduire la fréquence des accidents cardiovasculaires⁴⁷.

3.1.4. Avancée thérapeutique : Les NO-statines

Les NO-statines sont composées d'une statine sur laquelle un groupement donneur de NO, le nitrooxy butyl ester, est greffé. Les statines concernées sont la pravastatine, la fluvastatine et l'atorvastatine.

3.1.4.1. Molécules à l'étude : les NO-statines

La pravastatine et la fluvastatine sont les deux premières statines à avoir obtenu une AMM. D'un point de vue cinétique, elles sont rapidement absorbées et leur pic sérique est obtenu au bout d'1h30. La demi-vie de ces molécules est de 2h. La synthèse du cholestérol étant maximale la nuit, l'administration de ces molécules est recommandée le soir. L'élimination est principalement urinaire.

- **pravastatine et NO-pravastatine**

La NO-pravastatine (Figure 16), appelée NCX 6550, est une pravastatine sur laquelle un groupement donneur de NO a été greffé.

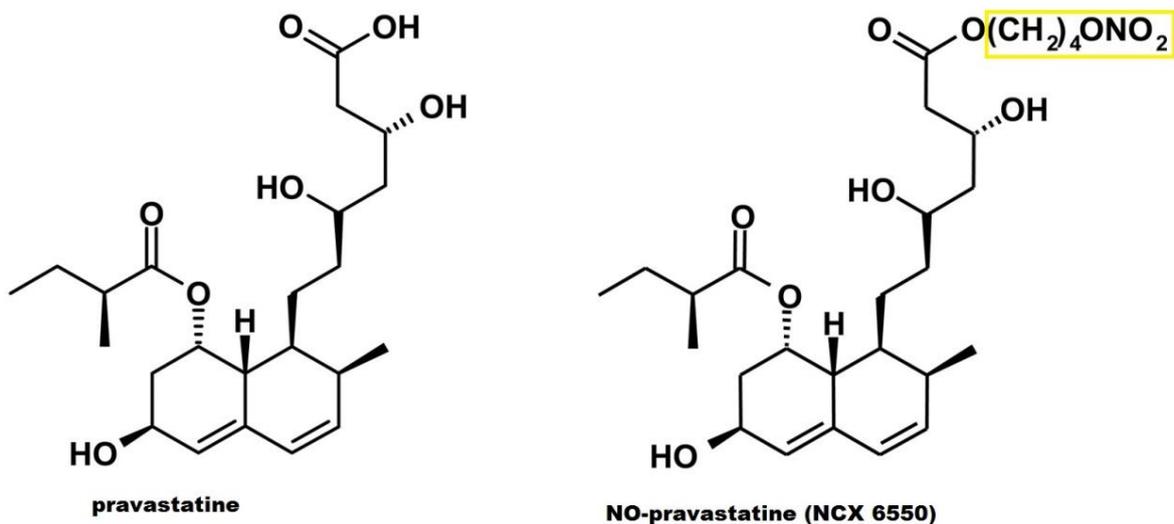


Figure 16 : A droite, formule semi-développée de la pravastatine. Au gauche, formule semi-développée de la NO-pravastatine (NCX 6550).

- **fluvastatine et NO-fluvastatine**

La fluvastatine est la première statine entièrement synthétique. La NO-fluvastatine (NCX 6553) est une fluvastatine sur laquelle un groupement donneur de NO a été greffé (Figure 17).

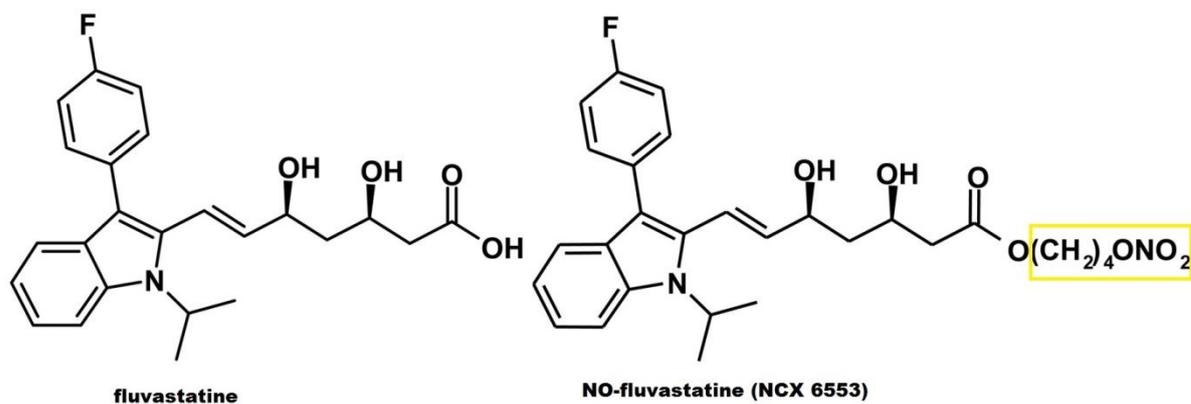


Figure 17 : A gauche, formule semi-développée de la fluvastatine. A droite, formule semi-développée de la NO-fluvastatine (NCX 6553).

- **atorvastatine et NO-atorvastatine**

L'atorvastatine a une cinétique différente des deux molécules précédentes. Elle est également rapidement absorbée avec un pic sérique obtenu au bout de 1 à 2h.

Cependant sa demi-vie est de 20 h. C'est pour cette raison qu'elle peut être administrée à tout moment de la journée. Elle est métabolisée au niveau hépatique et extra-hépatique et éliminée par les voies biliaires. Le composé NCX 6560 (Figure 18) est une atorvastatine avec un groupement nitrooxy butyl ester.

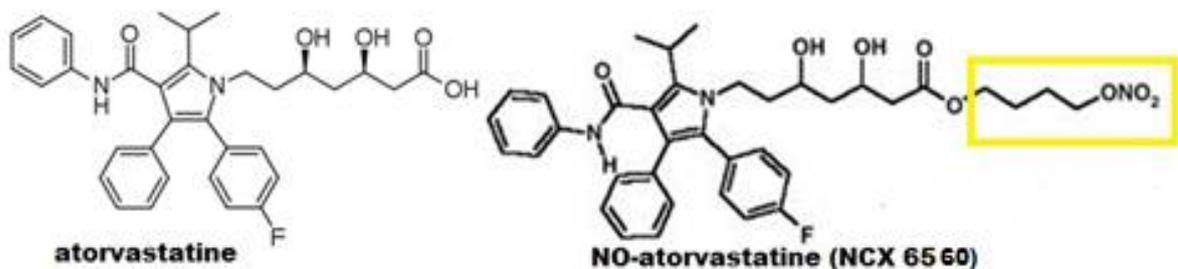


Figure 18 : A gauche, formule semi-développée de l'atorvastatine. A droite, formule semi-développée de l'atorvastatine donneuse de NO (NCX6560).

3.1.4.2. Propriétés des NO-statines

Les statines donneuses de NO confèrent une meilleure protection cardiaque que les statines seules. En effet, leur groupement donneur de NO leur confère des propriétés supplémentaires aux statines seules ; antiagrégant plaquettaire et anti-inflammatoire⁴⁶.

3.1.4.2.1. Propriété due à la statine : Effet hypolipémiant

Dans le traitement des hypercholestérolémies, l'effet hypolipémiant est la principale propriété recherchée. Il est directement lié au groupement statine des composés et est obtenu lors de l'administration des statines et des NO-statines.

Les NO-statines possèdent une activité hypolipémiante supérieure aux statines seules⁴⁹ (Figure 19). En effet, des études *in vivo* sur des souris confirment que le taux de cholestérol obtenu après traitement est plus faible avec une NO-statine qu'avec une statine seule à dose équivalente⁴⁹. Le taux de cholestérol sérique chez les souris nourries avec un régime standard est de $2,19 \pm 0,2$ mmol/L. Quatorze souris sont nourries pendant 20 semaines avec un régime enrichi en graisses afin d'obtenir une hypercholestérolémie, le taux de cholestérol sérique s'élève à $5,7 \pm 0,3$ mmol/L. Dans le premier groupe de sept souris, le NCX6560 est administré une fois par jour pendant 5 semaines à une posologie de 46,8 mg/kg. Le second groupe de sept souris reçoit de l'atorvastatine (40 mg/kg) une fois par jour pendant 5 semaines.

Après le traitement, on constate que le taux de cholestérol sérique a diminué de 21 % dans le groupe 1 et de 14 % dans le groupe 2⁴⁹.

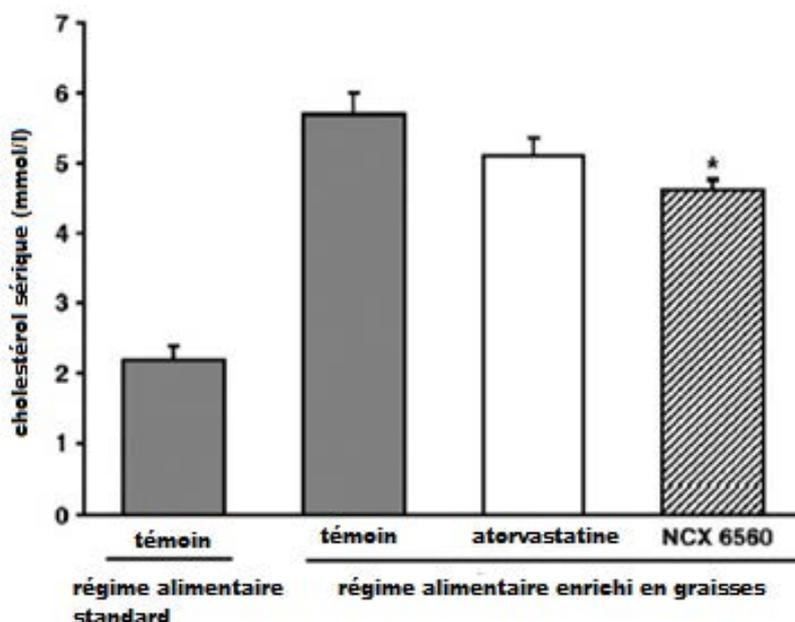


Figure 19 : Taux de cholestérol sérique des souris après traitement par NCX 6560 et atorvastatine.⁴⁹.

Ces données confirment que le NCX 6560 a une activité hypolipémiant supérieure à la statine à dose équivalente, avec une diminution du taux de cholestérol sérique de l'ordre de 21 % (groupe traité par la NO-atorvastatine) contre 14 % (groupe traité par l'atorvastatine).

3.1.4.2.2. Propriétés liées au groupement NO

Les NO-statines possèdent des propriétés supplémentaires liées au groupement donneur de NO. En effet, une activité anti-thrombotique ainsi qu'une diminution de la pression artérielle et des risques thromboemboliques sont observables lors des études précliniques⁴⁹. De plus, ces nouvelles molécules possèdent une activité anti-inflammatoire. Cette propriété est essentielle étant donné que les statines provoquent une inflammation au niveau musculaire pouvant conduire à des rhabdomyolyses.

- Effet du groupement donneur de NO au niveau cardiovasculaire.

Antiagrégant plaquettaire

Les NO-statines possèdent une activité antiagrégant plaquettaire. Des études *ex vivo* effectuées sur des souris confirment que l'adhésion plaquettaire est réduite lors de l'administration d'une NO-statine⁴⁹.

L'effet antiagrégant plaquettaire est évalué en mesurant l'adhésion plaquettaire sur une surface revêtue de collagène. Le sang de dix souris avec un régime standard conduit à 41 ± 1 % de la surface de collagène couverte par les plaquettes. Cette valeur est augmentée à 56 ± 2 % lorsque les souris suivent un régime enrichi en graisses. Les souris sont traitées par du NCX 6560 (46,8 mg/kg) ou, à dose équivalente, par de l'atorvastatine (40 mg/kg)⁴⁹.

Les souris traitées par le NCX6560 reçoivent dans un premier temps une administration unique. Trois heures après cette administration, l'adhésion des plaquettes au collagène a diminué, de manière significative, de 31 ± 12 % par rapport aux souris traitées par le véhicule (n=10, P0.001). Lorsque l'administration est prolongée à 5 semaines de traitement, la réduction est de 28 ± 1 % par rapport au véhicule (n=14, P<0.05)⁴⁹.

L'atorvastatine est administrée à dose équivalente. Lorsqu'elle est administrée en dose unique, cette dernière est inefficace sur l'adhésion plaquettaire *ex vivo*. Au contraire, lorsqu'elle est administrée de façon répétée pendant 5 semaines, l'adhésion des plaquettes au collagène diminue de 9 ± 2 % par rapport au véhicule⁴⁹. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Adhésion plaquettaire, exprimée en pour cent, après administration de NCX 6560 et d'atorvastatine.

Molécule administrée	Souris avec un régime standard	Souris avec un régime HFD	Statine donneuse de NO : NCX 6560 (46,8 mg/kg)		Statine (atorvastatine) (40 mg/kg)	
Administration			unique 3h avant	répétées : 1fois/jour, 5 semaines	Unique	répétées
Surface de collagène couvert par les plaquettes	41 ± 1 %	56 ± 2 %	réduction de 31 ± 2 %	réduction de 28 ± 1 %	Inefficace	réduction de 9 ± 2 %

Afin de comparer les données, trois molécules sont administrées aux souris (

Tableau VI), de l'aspirine (300 mg/kg en dose unique), du clopidogrel (75 mg/kg/j pendant 5 jours) et le mononitrate d'isosorbide, ISMN, (20 mg/kg en dose unique)⁴⁹.

L'aspirine en dose unique est inefficace sur l'adhérence des plaquettes, la réduction de l'adhérence plaquettaire est inférieure à 5 %. Le clopidogrel induit une réduction de l'adhérence plaquettaire de 35 ± 2 % par rapport au témoin (n=5, P 0,01). Pour finir, l'ISMN réduit l'adhésion des plaquettes de 33 ± 4 % par rapport au témoin (n=6, P0,01). L'effet de ce dernier est non significativement différent de celui du NCX6560⁴⁹.

Tableau VI : Adhésion plaquettaire, exprimée en pour cent, après administration d'aspirine, de clopidogrel et de mononitrate d'isosorbide (ISMN). L'adhésion plaquettaire est mesurée *ex vivo* sur une surface de collagène. Elle est représentée par la surface de collagène couverte par les plaquettes. Les souris sont traitées par de l'aspirine (30 mg/kg), du clopidogrel (75 mg/kg) et de l'ISMN (20 mg/kg).

Molécule administrée	Aspirine (300 mg/kg)	Clopidogrel (75 mg/kg)	ISMN (20 mg/kg)
Administration	Unique 1h avant le prélèvement sanguin	répétées 1fois/jour, 5 jours	unique, 3h avant le prélèvement
Adhésion plaquettaire	moins de 5% d'inhibition (inefficace)	réduction de l'adhérence des plaquettes de 35 ± 2 %	Réduction de 33 ± 4 %

Ces données montrent que la statine seule n'a pas d'activité significative au niveau de la fonction antiagrégant plaquettaire. Par conséquent, cette fonction est propre au groupement donneur de NO présent sur les NO-statine. En effet, l'adhésion plaquettaire obtenue lors d'un traitement ponctuel (31 ± 2 %) ou répété (28 ± 1 %) par des NO-statines est proche de celle obtenue avec un antiagrégant plaquettaire tel que le clopidogrel (35 ± 2 %) ou un donneur de NO pur, l'ISMN, (33 ± 4 %) ⁴⁹.

Effets sur la thrombo-embolie pulmonaire chez la souris

Les NO-statines ont un rôle dans la protection contre les embolies pulmonaires. En effet, lors de l'administration d'un stimulus thrombogène, l'étude préclinique permet de constater que la mortalité est moindre lorsqu'une NO-statine a été administrée 3 h avant.

Trois groupes de souris sont soumis à des stimuli thrombogènes différents. Le premier groupe (25 souris) reçoit un analogue synthétique de prostaglandine, l'U46619, (Figure 20). Le second groupe (25 souris) est traité par de l'épinéphrine (Figure 21). Pour finir le troisième groupe (20 souris) est soumis à des micro-

embolies pulmonaires mécaniques (Figure 22) ayant pour but le durcissement des globules rouges. Les trois groupes de souris sont traités, 3 h avant d'être soumis au stimulus thrombogène, par du NCX 6560 ou par l'atorvastatine⁴⁹.

Lors de l'injection d'U46619, on constate que la mortalité est moindre dans le groupe traité par NCX6560. Cet effet est dose-dépendant. Dans des thrombo-embolies pulmonaires induites par l'épinéphrine, la mortalité est plus faible dans le groupe traité par le NCX 6560. Ce dernier a un effet protecteur, contrairement à l'atorvastatine. Pour finir, le NCX 6560 diminue de manière significative la mortalité consécutive aux micro-embolies pulmonaires mécaniques⁴⁹.

L'effet vasodilatateur du groupement NO du NCX 6560 contribue à la protection. A dose équivalente l'atorvastatine n'a pas cet effet.

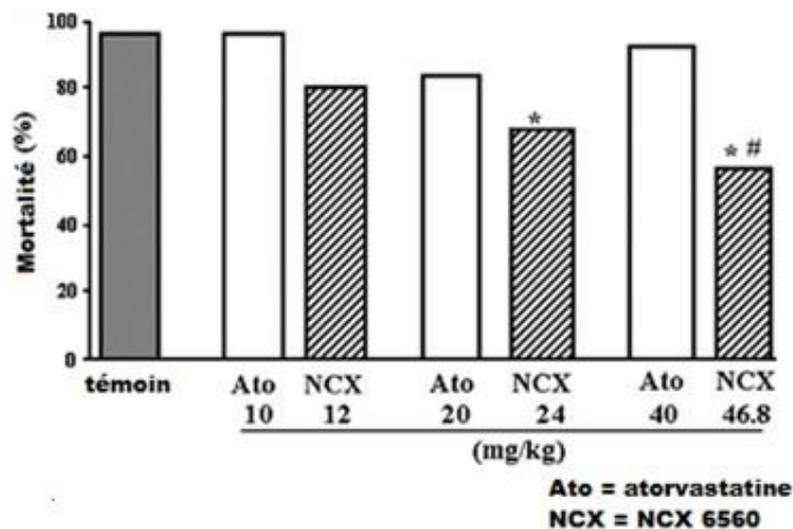


Figure 20 : Pourcentage de mortalité après injection d'un analogue synthétique de prostaglandine (U46619, stimulus thrombogène). Les souris sont ensuite traitées par différentes doses équivalentes d'atorvastatine (10, 20 et 40 mg/kg) et de NCX 6560 (12, 24 et 46,8 mg/kg)⁴⁹.

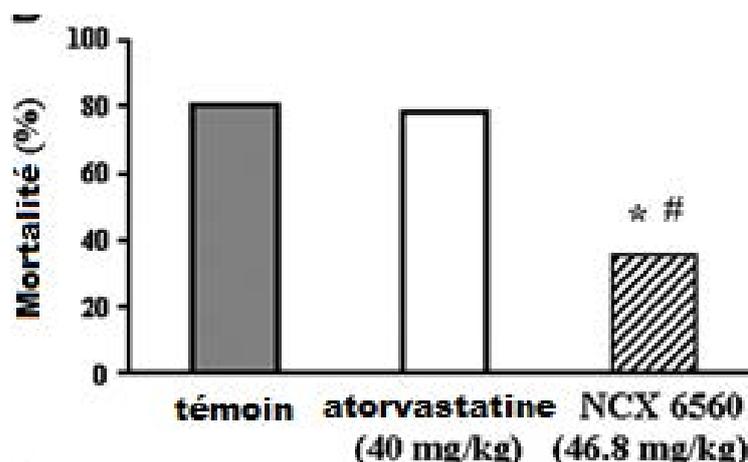


Figure 21 : Pourcentage de mortalité après injection d'épinéphrine chez les souris traitées par du NCX 6560 et de l'atorvastatine. Les souris sont soumises à un stimulus thrombogène, l'épinéphrine. Les souris sont traitées par de l'atorvastatine (40 mg/kg) et du NCX 6560 à dose équivalente (46,8 mg/kg)⁴⁹.

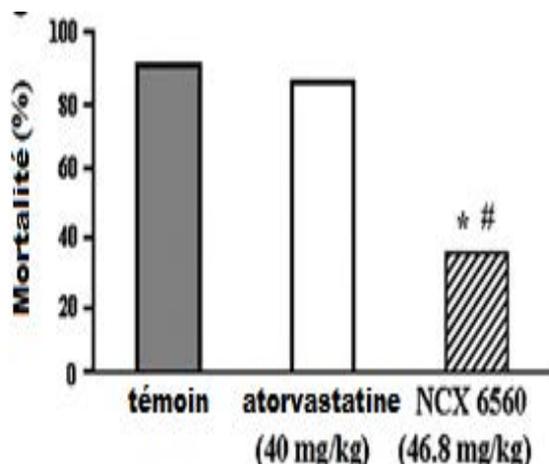


Figure 22 : Pourcentage de mortalité après une micro-embolie mécanique chez les souris traitées par du NCX 6560 et de l'atorvastatine. Les souris sont traitées par de l'atorvastatine (40 mg/kg) et du NCX 6560 à dose équivalente (46,8 mg/kg)⁴⁹.

Pression artérielle

Le groupement donneur de NO présent sur les NO-statines joue également un rôle au niveau de la pression artérielle (Tableau VII, Figure 23 et Figure 24). En effet, le NO est un puissant vasodilatateur. Les études précliniques sur les souris mettent en évidence le rôle hypotenseur du NO. Pour cela, les souris sont soumises à un véhicule afin d'être en condition d'hypertension. Les souris de type sauvage « wild type mice » ont une tension de 107 ± 3 mmHg et les souris présentant une

déficience en eNOS « eNOS knockout mice » ont une tension de 141 ± 107 mmHg (n=16, P 0,001)⁴⁹.

Le NCX6560 réduit la pression artérielle systolique des « eNOs knockout mice » à 118 ± 2 mmHg (n=16, P 0,001) mais pas des souris de type sauvage (106 ± 1 mmHg) (n=16). Au contraire, l'ISMN réduit la pression artérielle systolique à 85 ± 6 mmHg (n=5, P 0,04) pour les « wild type mice » et 113 ± 3 mmHg (n=5, P 0,0001) pour les « eNOS knockout mice », L'atorvastatine n'a pas provoqué de changement notable dans les deux groupes de souris, 136 ± 3 mmHg pour les « eNOS knockout mice » et 108 ± 1 mmHg pour les « wild type mice »⁴⁹.

Tableau VII : Pression artérielle systolique avant et après administration de NCX 6560, mononitrate d'isosorbide (ISMN), atorvastatine en fonction du type de souris. Les « wild type mice » sont des souris de type sauvage et les « eNOS knockout mice » sont des souris présentant une déficience en eNOS.

	Avant traitement	NCX 6560	ISMN	Atorvastatine
Wild type mice	107 ± 3 mmHg	106 ± 1 mmHg	85 ± 6 mmHg	108 ± 1 mmHg
eNOS knockout mice	141 ± 107 mmHg	118 ± 2 mmHg	113 ± 3 mmHg	136 ± 3 mmHg

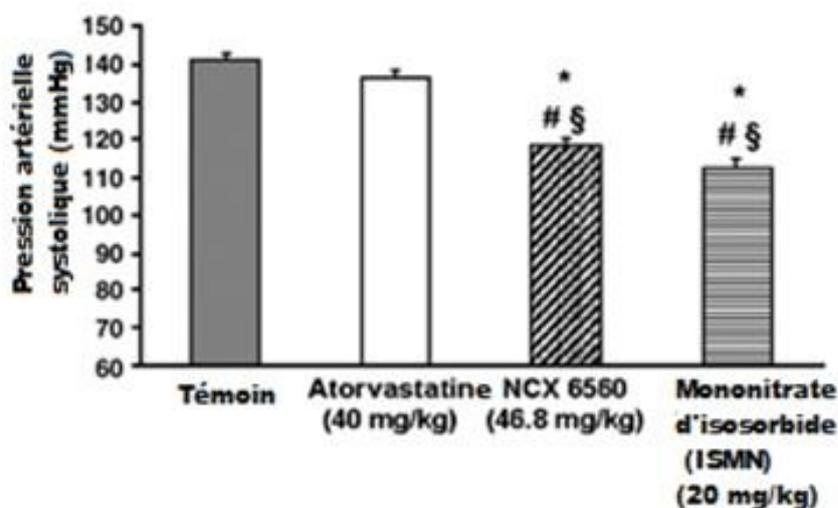


Figure 23 : Pression artérielle systolique (PAS) des souris qui présentent une déficience en eNOS « eNOS knockout mice » en fonction des substances administrées : témoin, atorvastatine, NCX 6560 et mononitrate d'isosorbide (ISMN)⁴⁹.

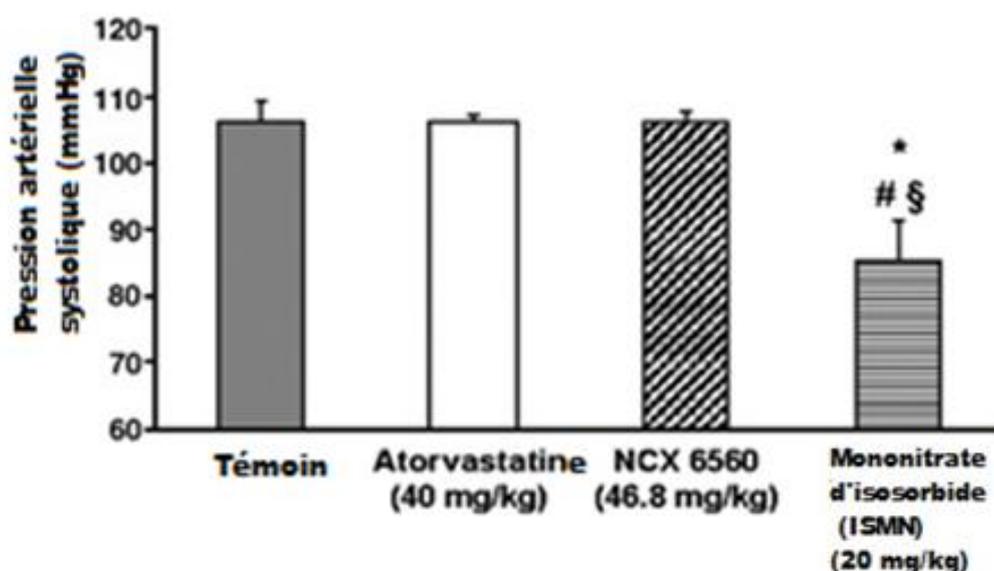


Figure 24 : Pression artérielle systolique (PAS) des souris de type sauvage « wild type mice » en fonction des substances administrées : témoin, atorvastatine, NCX 6560 et mononitrate d'isosorbide (ISMN)⁴⁹.

Ces données montrent que la statine, atorvastatine, n'a aucun impact sur la pression artérielle des souris. La diminution de la pression artérielle est directement liée au groupement donneur de NO présent sur les NO-statines. En effet, le NCX 6560, induit une diminution significative de la pression artérielle chez les souris déficientes en eNOS. Le donneur de NO pur, ISMN, induit une plus forte diminution de la pression artérielle, et ce, dans les deux types de souris⁴⁹.

- Réduction des effets indésirables musculaires.

Des études précliniques *in vivo* montrent que lors de l'administration d'une statine ou d'une NO-statine, le taux de GMPc intracellulaire augmente. Cependant, seule la NO-statine provoque une accumulation de GMPc dose-dépendante. La NO-statine inhibe la libération du facteur inflammatoire TNF α , alors que la statine seule n'a pas cet effet⁴⁹.

Une étude montre que chez les souris, le taux de créatine phosphokinase (CPK) sanguin est multiplié par 6 au bout de deux mois de traitement par atorvastatine. Un taux élevé de cette enzyme est le signe d'une atteinte musculaire. Une réduction de l'endurance musculaire est constatée grâce au test du tapis roulant. Une atrophie musculaire peut également être observée. Au contraire, l'administration à dose équivalente de NO-atorvastatine permet d'obtenir une fonction musculaire conservée avec un taux de CPK qui n'a pas augmenté. Cela nous montre que les NO-statines réduisent significativement l'apparition de myotoxicité⁴⁶.

Pour conclure, le groupement NO ajouté sur les statines confère à ces molécules des propriétés supplémentaires. L'effet hypolipémiant est toujours présent grâce à la statine. L'étude préclinique montre que le groupement donneur de NO présent sur les NO-statines leur confère une activité anti-thrombotique et anti-inflammatoire. A l'heure actuelle, aucune suite n'a pour l'instant été donnée à ces études.

3.2. Les prostaglandines donneuses de NO

Le NO est impliqué en ophtalmologie, et plus particulièrement dans le glaucome. Dans cette partie, nous allons tout d'abord voir quelques généralités sur l'œil et le glaucome ; puis l'implication du NO dans cette pathologie. Pour finir, nous détaillerons les traitements actuels et les collyres à l'étude dans le traitement du glaucome : les prostaglandines donneuses de NO.

3.2.1. Généralités sur l'œil et le glaucome

3.2.1.1. L'œil

L'œil est composé de deux parties: le globe oculaire et ses annexes. Le globe oculaire est composé d'une cavité interne et de trois couches. La cavité interne est composée de trois éléments essentiels : l'humeur aqueuse, le *trabeculum* et le canal de Schlemm. Les trois couches qui constituent le globe oculaire sont la couche protectrice, la couche vasculaire (l'uvée) et la couche visuelle. Les annexes sont les muscles extra-oculaires, les nerfs, les paupières, le système lacrymal et l'orbite⁵⁰.

L'humeur aqueuse est une composante essentielle du système oculaire. Ce liquide transparent est constitué à 99,6 % d'eau⁵⁰. Son renouvellement a lieu toutes les 2 à 3h et permet l'élimination des agents pathogènes. L'humeur aqueuse est évacuée de façon constante et équilibrée afin de maintenir le tonus oculaire et l'équilibre de la pression intraoculaire (Figure 25). Elle est sécrétée au niveau du corps ciliaire puis traverse la pupille pour aller en direction de la chambre antérieure. Une fois dans celle-ci, l'humeur aqueuse se dirige vers l'angle irido-cornéen pour finir dans les veines épisclérales⁵⁰.

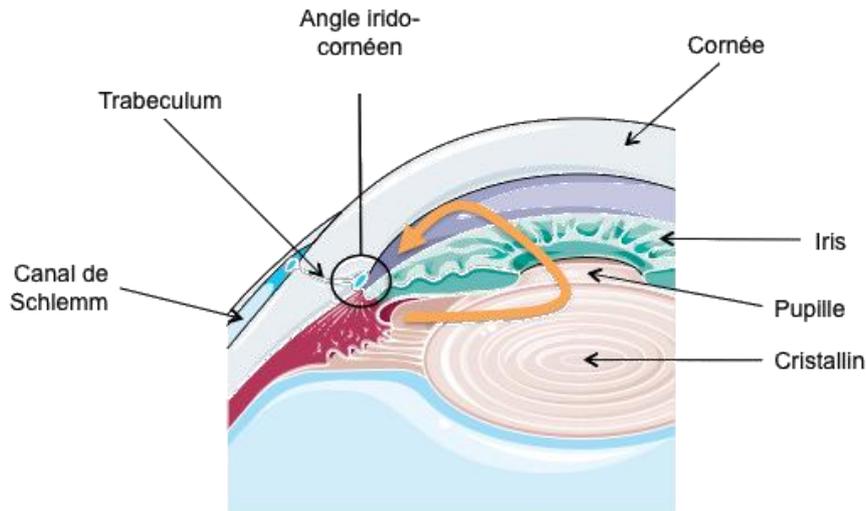


Figure 25 : Evacuation de l'humeur aqueuse. L'humeur aqueuse est sécrétée au niveau du corps ciliaire. Elle traverse la pupille puis se dirige vers la chambre antérieure puis vers l'angle irido-cornéen afin de finir dans le plexus episcléral. Pour cela, elle passe par le *trabeculum* et le canal de Schlemm⁷⁴.

Les deux principales voies de passage de l'humeur aqueuse sont le *trabeculum* et le canal de Schlemm. Le *trabeculum* est un tissu translucide situé dans l'angle irido-cornéen. Il est constitué de fibres de collagènes. Il permet d'assurer la filtration de l'humeur aqueuse en dehors de l'œil. Une augmentation de la pression oculaire survient lors de son dysfonctionnement⁵¹. Cette notion est essentielle pour la suite de ce sujet.

3.2.1.2. Le glaucome à angle ouvert

Deux formes de glaucome existent ; le glaucome à angle ouvert et le glaucome à angle fermé. Le glaucome à angle ouvert est une forme à survenue progressive liée à la diminution de la perméabilité du *trabeculum*. La seconde forme, le glaucome à angle fermé est une urgence ophtalmologique. Cette forme brutale est due à l'accolement de l'iris au filtre d'évacuation. Nous allons présenter le glaucome à angle ouvert qui est une indication potentielle des nouveaux donneurs de NO^{51, 52}.

Le glaucome chronique à angle ouvert est également connu sous le nom de glaucome primitif à angle ouvert ; GPAO. Il touche plus de 800 000 patients en France, essentiellement les plus de 40 ans⁵¹. Cette neuropathie optique est la seconde cause de cécité dans les pays développés.

Le GPAO est caractérisé par trois signes ; une élévation pathologique de la pression intraoculaire (PIO), l'élargissement de l'excavation de la pupille, les altérations du champ visuel⁵¹. Une destruction progressive du nerf optique caractérise cette pathologie⁵¹. Une PIO normale s'élève à 16 mmHg, au contraire elle est considérée comme pathologique lorsqu'elle est supérieure à 21 mmHg⁵¹. Cette élévation de la PIO est liée à une dégénérescence progressive du *trabeculum*. Ce dernier n'assure plus les fonctions normales d'écoulement de l'humeur aqueuse⁵². Chez certains patients une altération caractéristique du champ visuel et de l'hypertonie peuvent être présentes⁵¹.

3.2.2. Implication du NO et d'eNOS

3.2.2.1. eNOS, un régulateur de la PIO

L'expression de la NOS est impliquée dans l'écoulement de l'humeur aqueuse. L'isoforme endothéliale eNOS, est majoritairement présente dans le globe oculaire. On la trouve principalement au niveau des sites de résistance à l'écoulement : les fibres du muscle lisse et l'endothélium des vaisseaux sanguins situés à l'intérieur et autour du muscle ciliaire. Elle est également présente en grande quantité au niveau des fibres longitudinales qui s'insèrent dans le *trabeculum* ainsi qu'au niveau des cellules qui tapissent le canal de Schlemm^{53, 54}.

Plusieurs observations ont conduit à l'étude de donneurs de NO dans le traitement du glaucome.

Effet de la surexpression d'eNOS sur la PIO et la vitesse d'écoulement de la l'humeur aqueuse.

Le NO est la molécule clé de la régulation du tonus vasculaire. Les forces de cisaillement présentes dans le canal de Schlemm sont comparables à celles des grandes artères. Le NO joue un rôle mécano-régulateur au niveau de l'humeur aqueuse.

PIO

Une étude effectuée sur des souris permet d'étudier le lien entre eNOS et la PIO (Figure 26). Un premier groupe de souris transgéniques qui surexpriment une protéine de fusion GFP-eNOS humain participe à l'étude « eNOS-GFP positive ». Ces dernières ont une activité eNOs élevée, ce qui permet d'augmenter de deux fois

la concentration en NO dans les grandes artères. Le second groupe de souris eNOS-GFP est soumis à un inhibiteur direct d'eNOS, le NG-nitro-L-arginine (L-NAME) : il s'agit du groupe des « eNOS-GFP negative ». Pour finir, des souris contrôles de type sauvage, « WT », sont utilisées pour comparer les effets obtenus⁵⁵.

Cette étude montre qu'il n'y a pas de différence significative de la PIO entre la PIO des 13 souris « WT » ($11,5 \pm 2,7$ mmHg) et celle des 45 souris « eNOS-GFP negative » ($11,4 \pm 2,5$ mmHg). La PIO est significativement réduite pour les 9 souris « eNOS-GFP positive » ($9,6 \pm 2,7$ mmHg)⁵⁵.

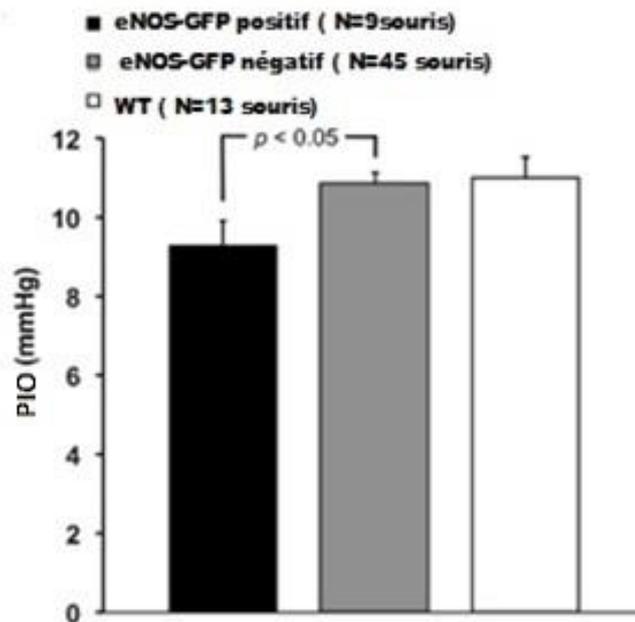


Figure 26 : Pression intraoculaire (PIO) chez les souris exprimant l'isoforme eNOS « eNOS-GFP positif », n'exprimant pas l'eNOS « eNOS-GFP negative » et les souris de types sauvage « WT »⁵⁵.

Vitesse d'écoulement de l'humeur aqueuse

La vitesse d'écoulement est comparée entre les souris surexprimant eNOS (les eNOS-GFP positive) et le groupe contrôle (WT) (Figure 27). Pour cela la vitesse d'écoulement est exprimée par rapport à la pression mesurée, $0,015 \pm 0,006$ $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mmHg}$ pour les « eNOS-GFP positive » et $0,007 \pm 0,001$ $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mmHg}$ pour

les « WT », P = 0,002. La vitesse d'écoulement est plus élevée chez les souris qui sur-expriment eNOS⁵⁵.

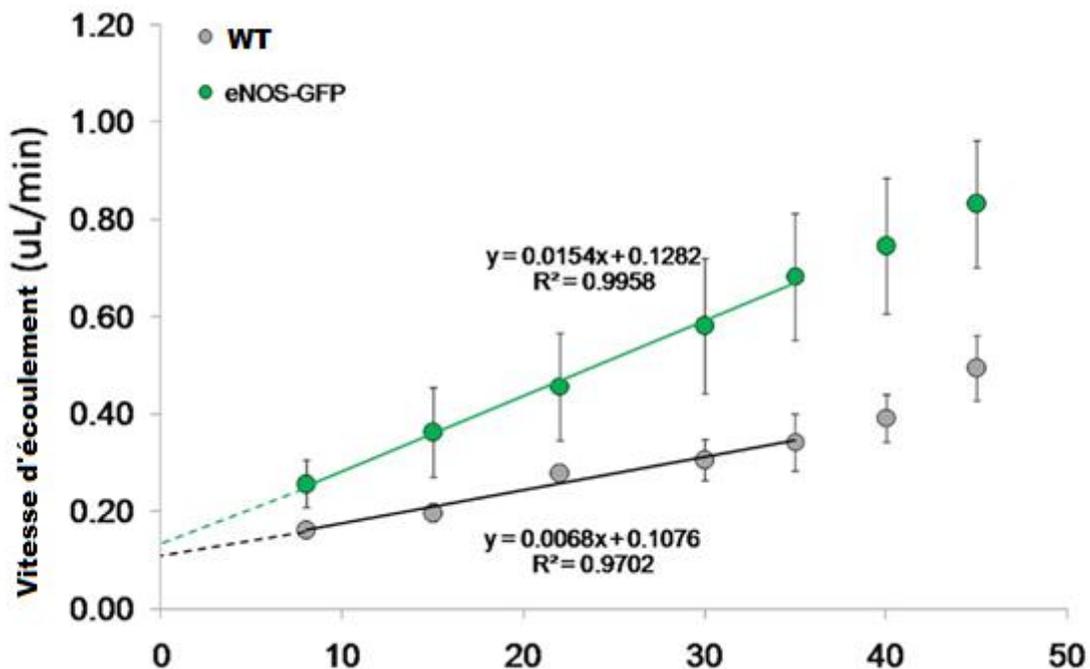


Figure 27 : Vitesse d'écoulement de l'humeur aqueuse chez les souris exprimant eNOS et les souris de type sauvage⁵⁵.

Cette étude montre que la surexpression d'eNOS augmente l'écoulement de l'humeur aqueuse à travers le *trabeculum*. Il en découle une diminution de la PIO⁵⁵.

Le faible taux d'eNOS oculaire chez les patients atteints de glaucome.

Les patients atteints de glaucome ont un faible taux d'eNOS au niveau de la voie d'écoulement et du muscle ciliaire. Par conséquent, la production de NO est plus faible aux niveaux du *trabeculum* et du canal de Schlemm. Il en découle un ralentissement du débit d'écoulement de l'humeur aqueuse et donc une augmentation de la PIO. Un apport en NO permet d'améliorer le débit d'écoulement de l'humeur aqueuse et donc de diminuer la PIO. Par conséquent, des donneurs de NO ont été proposés dans le traitement du GPAO⁵³.

3.2.2.2. Implication du NO dans la physiopathologie du GPAO

L'élévation de la PIO est due à une dégénérescence progressive du *trabeculum*. Ce dernier n'assure plus correctement ses fonctions d'écoulement de l'humeur aqueuse. Le NO a pour but de rendre possible l'écoulement de l'humeur aqueuse à travers le

trabeculum^{53, 55}. Le mécanisme d'action exact du NO sur l'écoulement de l'humeur aqueuse n'est pas connu, cependant l'hypothèse suivante est émise :

L'augmentation du débit d'écoulement de l'humeur aqueuse grâce au NO :

La principale voie d'écoulement de l'humeur aqueuse est le *trabeculum* associé au canal de Schlemm. La paroi intérieure du canal de Schlemm est caractérisée par des vacuoles géantes. Ces dernières créent des espaces entre le *trabeculum* et la paroi interne du canal de Schlemm. Ce sont des zones de résistance à l'écoulement de l'humeur aqueuse. La PIO est contrôlée et maintenue par un équilibre entre la production d'humeur aqueuse et son évacuation. Les cellules endothéliales du *trabeculum* et du canal de Schlemm détectent les variations de la PIO. Afin de rétablir l'homéostasie de la PIO, elles adaptent l'écoulement de l'humeur aqueuse grâce à la « NO signalisation ». Lorsque la PIO augmente, les cellules du canal de Schlemm produisent plus de NO. Ce phénomène implique une diminution de la résistance à l'écoulement.

Les mécanismes d'action cellulaires et biochimiques impliqués dans ce phénomène sont inconnus, cependant une hypothèse est émise. Elle concerne le volume cellulaire des cellules du *trabeculum* et implique le NO, la guanylate cyclase soluble, la GMPc, la PKG et le canal BK_{Ca}. Pour le montrer, des cultures cellulaires ; SC14, SC24 et SC25, sont effectuées à partir d'œil humain afin de quantifier le volume cellulaire²².

Les cellules sont exposées à différentes molécules (Tableau VIII). La première est un inhibiteur de la NOS, L-NAME, à une posologie de 50 µM. La seconde molécule utilisée est un donneur de NO, DETA-NO, à une posologie de 100 µM. Différents milieux sont exploités, condition normale (milieu isotonique), milieu hypotonique et milieu hypertonique. Les résultats sont résumés dans le tableau et les graphiques suivants.

Tableau VIII : Effets de l'inhibiteur de NOS (L-NAME) et du donneur de NO (DETA-NO) sur le volume cellulaire dans divers milieux (isotonique, hypotonique et hypertonique).

.Molécule	L-NAME 50µM	DETA-NO 100µM condition normale	DETA-NO 100µM milieu hypotonique	DETA NO 100µM milieu hypertoni que	DETA NO 100µM bolus
	Inhibiteur de NOS	Donneur de NO			
Volume cellulaire	Augmentation de 7 %.	diminution significative en 10 à 20 min.	augmentation de 5 % à 2 min et de 16 % à 10 min.	diminutio n de 15 % à 1 min.	amélioration de l'écoulement visible à 20 min.

Le graphique suivant nous montre que le traitement par un inhibiteur de la NOS induit une augmentation du volume cellulaire (Figure 28). Cela signifie que lorsque le taux de NO diminue, le volume cellulaire augmente. La lumière du *trabeculum* et du canal de Schlemm est alors réduite. Il en découle une mauvaise évacuation de l'humeur aqueuse et une augmentation de la PIO.

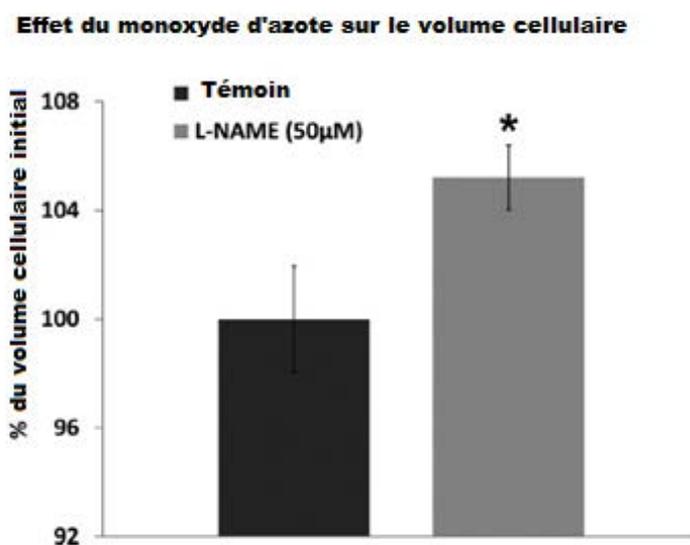


Figure 28 : Variation du volume cellulaire en présence d'un inhibiteur de la *nitric oxide synthase*, L-NAME. Ces données représentent la moyenne pour 68 cellules et sont exprimées en pourcentage du volume initial au point de temps 0 minute et sans médicament.

Dans des conditions normales, le volume cellulaire est sensible à l'osmolarité (Figure 29). En milieu hypotonique, le volume cellulaire augmente du fait de l'entrée d'eau dans la cellule. En milieu hypertonique, l'eau sort de la cellule, il y a donc une diminution du volume cellulaire. En présence d'un donneur de NO et dans des conditions normales, une diminution du volume cellulaire est observée (Figure 30).

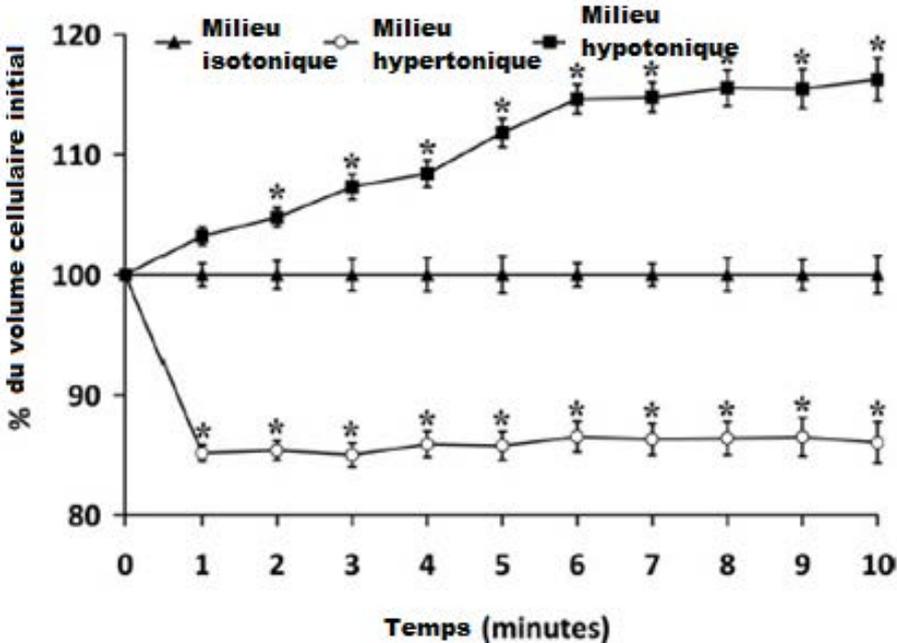


Figure 29 : Variation du volume cellulaire des cellules en culture en fonction de l'osmolarité.

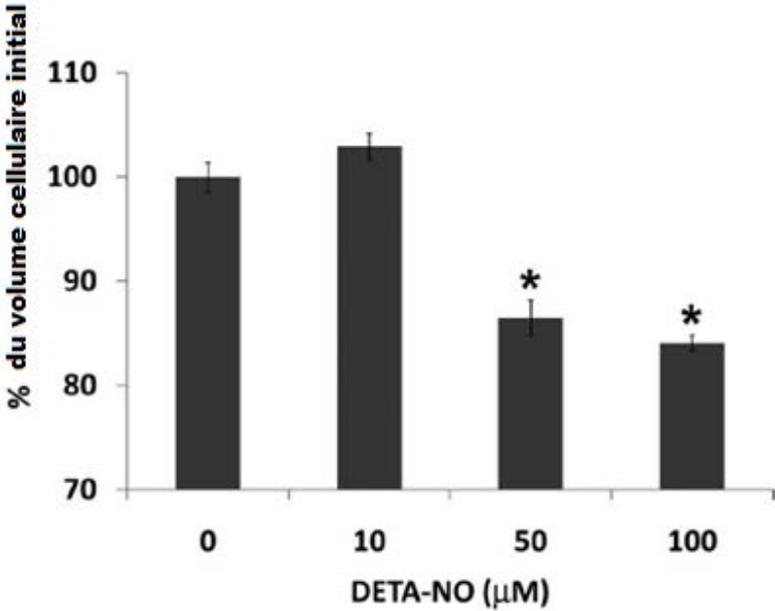


Figure 30 : Variation du volume cellulaire en fonction de différentes concentrations d'un donneur de monoxyde d'azote, DETA-NO.

Lorsqu' un bolus de DETA-NO, un donneur de NO, est administré, on peut observer une amélioration de l'écoulement de l'humeur aqueuse. Nous pouvons déduire de ces observations qu'eNOS et le NO ont un rôle fonctionnel dans la régulation du volume des cellules qui constituent le canal de Schlemm ²².

Nous pouvons en conclure que le NO facilite l'écoulement de l'humeur aqueuse à travers le *trabeculum* et canal de Schlemm en diminuant le volume des cellules les composants²².

3.2.3. Traitement actuel du glaucome par voie oculaire

3.2.3.1. Les analogues des prostaglandines et les parasymphomimétiques

Les analogues des prostaglandines et les parasymphomimétiques permettent d'augmenter l'évacuation de l'humeur aqueuse.

3.2.3.1.1. Collyres aux prostaglandines

Trois molécules représentent cette classe médicamenteuse, le latanoprost (Xalatan®, Monoprost®), le travoprost (Travatan ®), le bimatoprost (Lumigan ®). Elles diminuent la PIO en augmentant l'écoulement de l'humeur aqueuse. Cette classe de collyre est souvent utilisée en première intention en raison de leur grande efficacité.

Nous allons plus particulièrement nous intéresser au latanoprost. En effet, l'avancée thérapeutique concerne le latanoprost sur lequel est greffé un groupement NO.

Le latanoprost

Le latanoprost (Figure 31) a été commercialisé en 1996 par le laboratoire Pfizer. Les études de toxicité montrent qu'il est bien toléré.

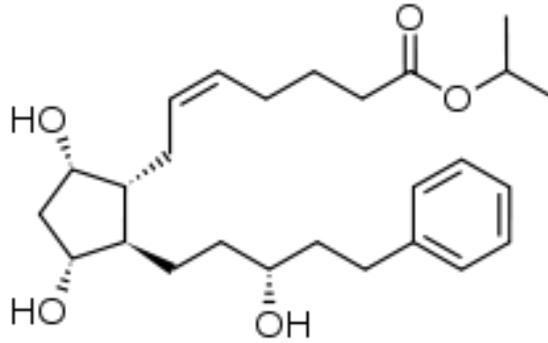


Figure 31 : Formule semi-développée du latanoprost. Formule brute : $C_{26}H_{40}O_5$. Masse molaire : 432,59 g/mol.

Pharmacocinétique

Le latanoprost est une prodrogue absorbée par la cornée. La prodrogue pénètre en totalité dans l'humeur aqueuse. Le pic de concentration du latanoprost dans l'humeur aqueuse est atteint au bout de 2 h. L'hydrolyse en acide de latanoprost, biologiquement actif, a lieu lors du passage trans-cornéen. Le métabolisme de l'acide de latanoprost est hépatique et son élimination est urinaire.

La diminution de la PIO est obtenue 3 à 4 h après l'administration. L'effet maximal est quant à lui obtenu au bout de 8 à 12 h. L'effet des analogues des prostaglandines $F2\alpha$ est maintenu au moins 24 h. C'est pour cette raison que la posologie habituelle de ces collyres est une instillation par jour, le soir.

Pharmacologie

Les analogues des prostaglandines $F2\alpha$ sont des agonistes sélectifs des récepteurs aux prostanoïdes. Ils permettent d'abaisser la PIO en augmentant l'écoulement de l'humeur aqueuse par la voie uvéo-sclérale. De plus, l'écoulement par la voie usuelle est facilité grâce à une diminution des résistances.

Tolérance et effets indésirables

Le latanoprost est généralement bien toléré d'un point de vue oculaire et systémique. Une légère augmentation de la fréquence respiratoire due à la broncho-constriction est observable lorsque des doses équivalentes à 100 fois la dose thérapeutique sont administrées à des singes.

D'un point de vue oculaire, aucune toxicité n'est constatée. Cependant, une augmentation de la pigmentation de l'iris est un effet indésirable possible. Cela est dû à la stimulation de la production de mélanine dans les mélanocytes de l'iris.

3.2.3.1.2. Collyres parasymphomimétiques

La molécule utilisée est la pilocarpine (Isopto-pilocarpine ®). Son action cholinergique directe diminue la PIO en facilitant l'écoulement de l'humeur aqueuse par le *trabeculum*. Cette classe est de moins en moins utilisée dans le traitement au long cours car elle provoque un myosis qui gêne l'adaptation.

3.2.3.2. Les bêta-bloquants et les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique

Les bêta-bloquants et les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique diminuent la production d'humeur aqueuse.

3.2.3.2.1. Collyres bêta-bloquants

La classe des collyres bêta-bloquants est représentée par le bétaxolol (Bétoptic ®), le cartéolol (Cartébak ®, Cartéol ®), le levobunolol (Betagan®) et le timolol (Geltim ®, Ophthim®, Timolol®, Timoptol®). Ils réduisent la PIO par diminution de la sécrétion active d'humeur aqueuse et facilitent son écoulement par le *trabeculum*. Ils sont souvent prescrits en première intention en raison de leur bonne efficacité et de leur rapport bénéfice/risque favorable. Cependant, ils sont contre-indiqués en cas d'asthme, de BPCO, d'insuffisance cardiaque, de bradycardie et de syndrome de Raynaud.

3.2.3.2.2. Collyres inhibiteurs de l'anhydrase carbonique

Deux molécules constituent cette classe thérapeutique : le dorzolamide (Trusopt ®) et le brinzolamide (Azopt®). Ils réduisent de façon importante la formation de l'humeur aqueuse.

3.2.3.3. Les sympathomimétiques

Ce sont des collyres adrénergiques : l'apraclonidine (Iodipine ®) et la brimonidine (Alphagan®). Ils réduisent la PIO par diminution de la production d'humeur aqueuse et favorisent dans une certaine mesure son écoulement.

3.2.4. Avancée thérapeutique dans le traitement oculaire du glaucome : Le latanoprostène bunod

Les observations citées précédemment ont permis de mettre à l'étude un donneur de NO associé au latanoprost, le latanoprostène bunod. C'est un analogue de la prostaglandine F2 α donneuse de NO. Il est actuellement en développement dans le traitement du glaucome et de l'hypertension oculaire et a obtenu une licence à Bausch & Lomb en mars 2010. Une demande d'autorisation de mise sur le marché aux Etats-unis auprès de la *Food and Drug Administration* (FDA) a été réalisée. L'autorisation d'AMM est attendue pour mi-2016.

3.2.4.1. Molécule : le latanoprostène bunod

Le latanoprostène bunod (Figure 32) a obtenu cinq brevets entre 2007 et 2011.

Il associe l'effet du latanoprost et d'un donneur de NO. En effet, l'homéostasie de la pression oculaire est maintenue à l'aide du NO et des récepteurs aux prostaglandines F2 α . Or le latanoprostène bunod est une prostaglandine donneuse de NO à partir de laquelle l'acide de latanoprost libère le NO dans les compartiments oculaires en quantités suffisantes pour obtenir une activité pharmacologique. L'activité du latanoprostène bunod implique que le NO soit livré aux tissus oculaires en quantité suffisante pour stimuler de façon puissante et efficace la voie de signalisation de la guanylate cyclase soluble. Le traitement par latanoprostène bunod provoque une libération de NO suffisante pour stimuler la production GMPc et ainsi induire une réduction de la PIO *in vivo*. L'activité du latanoprostène bunod est supérieure à celle du latanoprost, en raison de la contribution concomitante du NO et de l'acide de latanoprost.

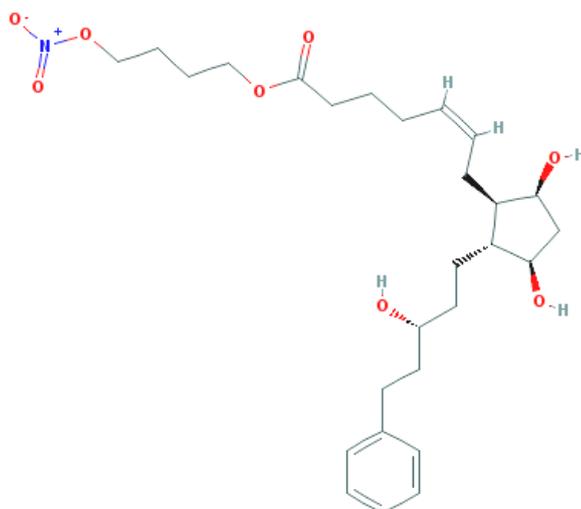


Figure 32 : Formule semi-développée du latanoprostène bunod. Formule brute $C_{27}H_{41}NO_8$.

3.2.4.2. Les Brevets

Les cinq brevets obtenus entre 2007 et 2011 [le 15 novembre 2011 (US8058467), le 22 mars 2011 (US7910767), le 8 décembre 2009 (US7629345), le 11 novembre 2008 (US7449469) et le 25 septembre 2007 (US7273946)] montrent que les prostaglandines donneuses de NO ont une activité pharmacologique améliorée par rapport aux prostaglandines simples. Ils présentent une activité pharmacologique plus étendue que leurs prédécesseurs avec une meilleure tolérance.

Les nouveaux composés nitrés sont utilisables comme médicament. Ils sont destinés à une voie d'administration topique. Leur indication est le traitement du glaucome et de l'hypertension oculaire avec pour but la réduction de la pression oculaire et de son maintien à un niveau réduit, ≤ 18 mmHg.

3.2.4.3. Etude du latanoprostène bunod dans le GPAO

Bausch & Lomb ont mené diverses études. Après les études précliniques et des études cliniques de phase I, IIa et IIb positives, des études de phase III ont été mises en place en janvier 2013 au niveau mondial.

Etude de phase IIb

L'étude de phase IIb a été initiée en novembre 2010 afin d'identifier la dose la plus sûre et la plus efficace pour d'obtenir une réduction de la PIO. Pour cela, 413

patients ont été recrutés en Europe et aux Etats Unis selon des critères d'inclusion et d'exclusion précis⁵⁶.

Cette étude comparative permettait de comparer l'effet du latanoprostène bunod à celui du latanoprost. Selon les groupes de patients, le latanoprostène bunod est administré à différentes concentrations : latanoprostène bunod 0,006 % (n=82 patients), 0,012 % (n=85 patients), 0,024 % (n=83 patients) et 0,040 % (n=81 patients). Le latanoprost est administré à la concentration de 0,005 % (n=82 patients). Les collyres sont instillés tous les jours pendant 28 jours^{57,56}. Des mesures de la PIO ont été effectuées à j 7, 14, 28.

Détermination de la dose efficace de latanoprostène bunod.

L'objectif de l'étude est de déterminer la dose efficace de latanoprostène bunod. Pour cela, la réduction de la PIO (Figure 33) est mesurée au bout de 28 jours en fonction des différentes concentrations de latanoprostène bunod administrées. Les résultats sont représentés sur le graphique suivant. La dose efficace est le latanoprostène bunod 0,024 % car c'est à cette concentration que l'on obtient la plus forte diminution de la PIO.

A dose équivalente de latanoprost 0,005 % et de latanoprostène bunod 0,006 %, on constate que la diminution de la PIO est presque identique. En effet, on obtient une réduction de 7,81 mmHg avec le latanoprostène bunod 0,006 % contre 7,77 mmHg avec le latanoprost 0,005 %. Par conséquent, le latanoprostène bunod ne montre pas une efficacité significative supérieure au latanoprost 0,005%.

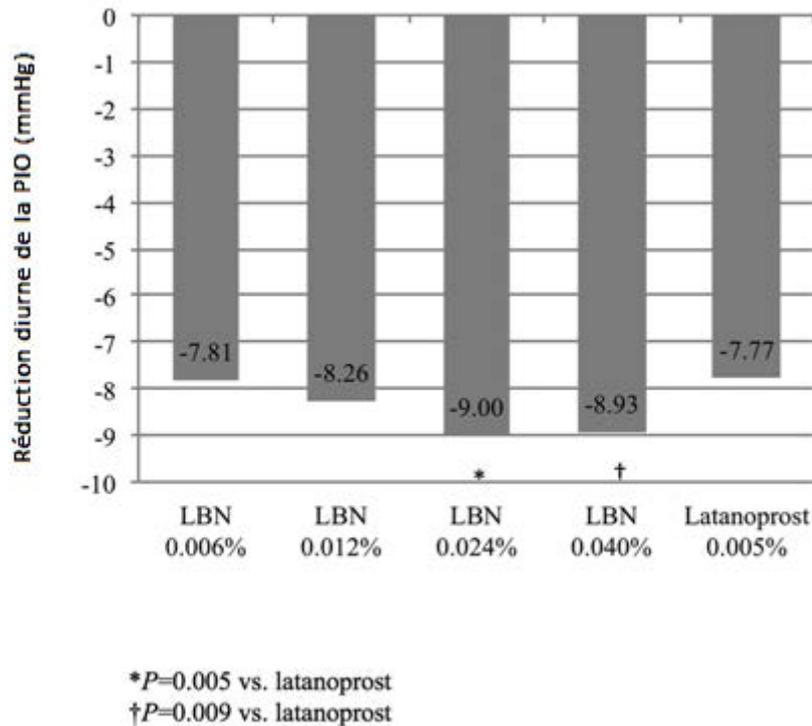


Figure 33 : Variations de la pression intraoculaire (PIO) en fonction des différentes concentrations de latanoprostène bunod (LBN) et de latanoprost⁵⁷.

Efficacité du latanoprostène bunod.

L'efficacité du latanoprostène bunod est évaluée en fonction des différentes concentrations administrées. Différentes concentrations de latanoprostène bunod (0,006 %, 0,012 %, 0,024 % et 0,040 %) sont administrées à des patients, ainsi que du latanoprost 0,005%. La PIO est mesurée après 7, 14 et 28 jours de traitement. Le graphique suivant récapitule le pourcentage de patients avec une PIO ≤ 18 mmHg (Figure 34). Au 7^{ème} jour de traitement, deux dosages ont une efficacité significative (latanoprostène bunod 0,024% et 0,040%) avec une PIO < 18 mmHg chez plus de 55 % des patients. Au 14^{ème} jour de traitement, 65 % des patients traités par le latanoprostène bunod 0,024 % ont une PIO < 18 mmHg. Au 28^{ème} jour de traitement, le groupe de patients traités par le latanoprostène 0,024 % atteint toujours le pourcentage le plus élevé de patients avec une PIO < 18 mmHg.

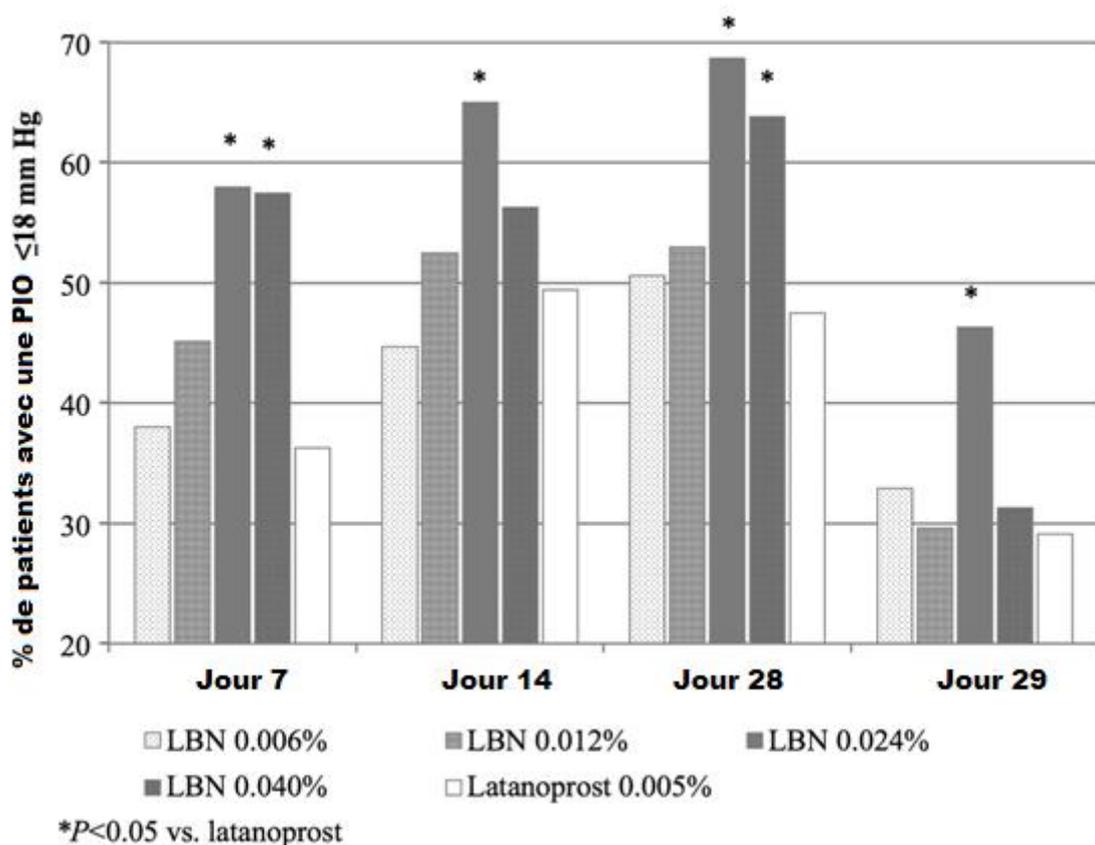


Figure 34 : Pourcentage de patients avec une pression intraoculaire < à 18mmHg en fonction des différentes concentrations de latanoprostène bunod (LBN) et de latanoprost à J7, J14, J28 et J29.

L'efficacité du latanoprostène bunod 0,024 % est supérieure aux autres dosages de latanoprostène bunod.

Cette étude de phase II montre la réelle efficacité du latanoprostène bunod dans le traitement du glaucome. Cependant, à dose équivalente de latanoprost et de latanoprostène bunod, ce dernier ne possède pas une efficacité significative supérieure au latanoprost^{58, 59}. Néanmoins, la dose optimale de latanoprostène bunod, 0,024%, possède une réelle efficacité dans le traitement de cette pathologie. C'est d'ailleurs à cette dose que les études de phase III sont effectuées.

Etude pilote de phase III

LUNAR Le programme d'étude de phase III est composé de deux études
et individuelles randomisées, multicentriques et menées en double aveugle,
APOLLO LUNAR & APOLLO. Ces deux études regroupent à elles deux, 840

patients. L'étude LUNAR a pour but de comparer la sécurité et l'efficacité du latanoprostène bunod par rapport au maléate de timolol chez des patients atteints de glaucome à angle ouvert. Une phase de sécurité de 3 mois est mise en place. Elle a débuté en juillet 2014⁶⁰. L'étude APOLLO est identique à l'étude LUNAR et a débuté en mars 2015. Sa phase de sécurité est de 9 mois⁶¹. A la date d'aujourd'hui, des résultats ont été publiés par Nicox. En effet, une réduction de la PIO se situerait entre 7,5 et 9,1 mmHg pour latanoprostène bunod. L'effet sur la PIO s'est révélé supérieur à celui obtenu avec le maléate de timolol. Au vue de ces résultats positifs, Bausch & Lomb prévoit de soumettre une demande d'AMM à la FDA.

JUPITER L'étude JUPITER vise à évaluer la sûreté à long terme de la solution ophtalmique latanoprostène bunod 0,024 %, chez les sujets japonais atteints de glaucome à angle ouvert ou atteints d'hypertension oculaire. L'objectif de l'étude est de démontrer l'innocuité clinique. Cette étude a débuté en mai 2015⁶².

Pour conclure, les études précliniques et cliniques de phase II et III montrent une efficacité certaine du latanoprostène bunod dans le traitement du glaucome, surtout à la dose 0,024%.

Les laboratoires Nicox ont mis au point un second donneur de NO, le NCX 470, dans le traitement du glaucome et de l'hypertension oculaire. Il est composé du bimatoprost sur lequel a été greffé un groupement donneur de NO. Le bimatoprost (Lumigan®) est l'un des principaux médicaments des analogues de prostaglandines. Les laboratoires Nicox ont communiqué des résultats prometteurs avec une bonne tolérance et une efficacité supérieure pour réduire la PIO par rapport au bimatoprost seul. Nicox souhaiterait effectuer des études cliniques.

3.3. Les anti-inflammatoires donneurs de NO : traitement des dystrophies musculaires

Des composés donneurs de NO sont à l'étude dans le traitement des myopathies. Nous allons tout d'abord expliquer la pathologie ainsi que son lien avec le NO. Pour finir, nous détaillerons les composés donneurs de NO à l'étude dans le traitement de ces dystrophies musculaires. Pour cela, un groupement donneur de NO est ajouté sur une molécule anti-inflammatoire déjà commercialisée tel que le naproxène ou encore l'ibuprofène.

3.3.1. Les dystrophies musculaires

Les dystrophies musculaires sont des maladies musculaires provoquant une dégénérescence progressive des fibres musculaires, elles sont également appelées myopathies. Ce sont des maladies génétiques à transmission récessive liée au chromosome X. Elles peuvent atteindre l'ensemble des muscles de l'organisme. Plusieurs types existent ; la myopathie de Duchenne est la forme la plus sévère et la plus connue. Décrite en 1858 par Guillaume Duchenne, elle touche uniquement les garçons avec une incidence de 1 sur 3500 naissances. Les femmes sont porteuses et très rarement atteintes. La myopathie de Becker est le second type de myopathie. Elle a été décrite en 1955 par le Dr Becker. Sa fréquence est dix fois moins élevée avec incidence de 1 garçon sur 35000 naissances. Les femmes sont vectrices mais asymptomatiques⁶³.

Nous allons expliquer la physiopathologie, la clinique et les traitements utilisés dans les dystrophies musculaires afin de mieux comprendre l'utilisation de ces nouveaux donneurs de NO.

3.3.1.1. Physiopathologie des dystrophies musculaires

Les myopathies de Duchenne et de Becker ont une physiopathologie semblable sur le principe. Seul leur degré de sévérité les différencie. Ces pathologies sont liées à une modification de l'ADN, plus particulièrement au niveau du gène *DMD* qui code la dystrophine.

La dystrophine (Figure 35) est une protéine spécifique des fibres musculaires. Elle est associée à la nNOS. Elle est dite sub-sarcolémique du fait de sa présence sous

la membrane cellulaire des fibres musculaires. La dystrophine est associée à des protéines qui forment un complexe (dystrophin associated protéins, DAP) reliant la matrice extracellulaire et l'intérieur de la fibre musculaire, à travers la membrane cellulaire. Cela permet de former un lien mécanique essentiel entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule musculaire⁶⁴. Les dystrophies musculaires sont caractérisées par une altération ou une absence totale de la dystrophine.

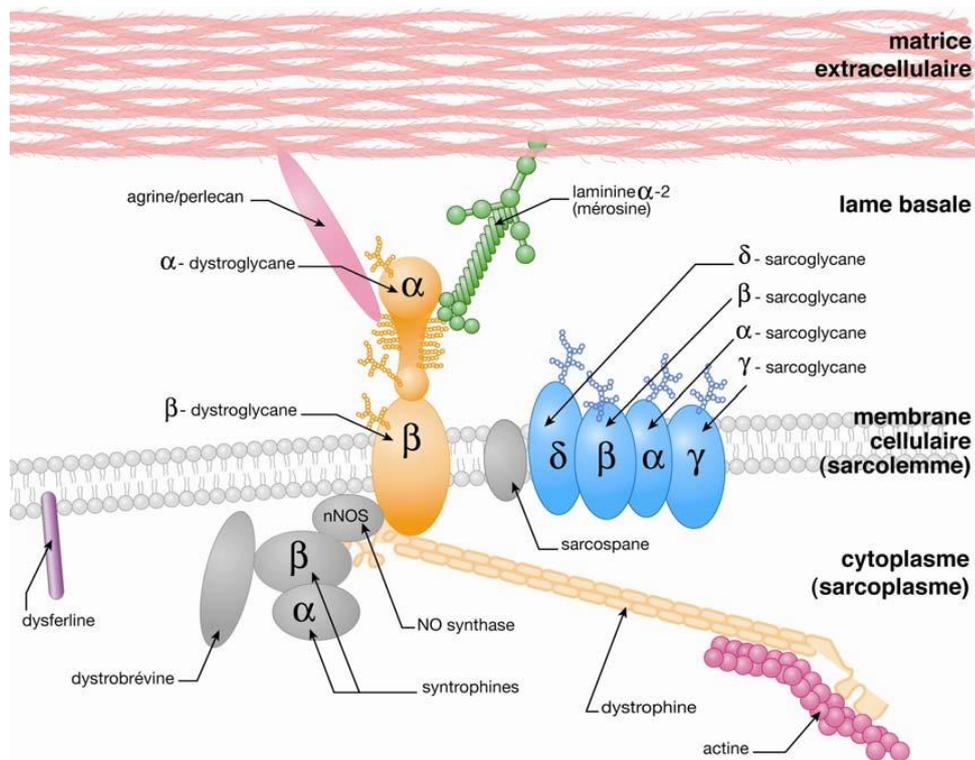


Figure 35 : La protéine dystrophine dans la fibre musculaire⁶⁴.

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe deux types de dystrophies musculaires selon le niveau d'altération de la dystrophine.

Myopathie de Duchenne La myopathie de Duchenne touche l'ensemble des muscles de l'organisme (muscles squelettiques, muscle cardiaque et certains muscles lisses). Elle est caractérisée par une absence totale de dystrophine due à une anomalie génétique dans le gène DMD. Le complexe DAP est instable et l'enveloppe des fibres musculaires ainsi que la membrane cellulaire sont fragilisées. La conséquence de ce phénomène est une altération des cellules musculaires lors de leur contraction. Cette fragilité aboutit à la dégénérescence des cellules et des fibres musculaires. Dans un premier temps, des

mécanismes de régénération visant à réparer le tissu musculaire compensent cette dégénérescence. Secondairement, la régénération s'épuise et la dégénérescence l'emporte, entraînant un manque de force musculaire. Les fibres musculaires se détruisent et libèrent des enzymes musculaires dans le sang, appelé CPK. Du tissu conjonctif ainsi que du tissu graisseux remplacent petit à petit les fibres musculaires⁶⁴.

Myopathie de Becker La myopathie de Becker se manifeste par une faiblesse musculaire des membres inférieurs. Cependant, une atteinte cardiaque est également présente. La dystrophine est de taille réduite ou en quantité insuffisante. Le lien entre la matrice extra cellulaire et le cytosquelette est alors fragilisé. Les cellules musculaires s'altèrent lors de leur contraction et se détruisent. Il en découle le même processus de dégénérescence musculaire que dans la myopathie de Duchenne⁶³.

3.3.1.2. Clinique et diagnostique des dystrophies musculaires

Les premiers symptômes se manifestent vers l'âge de 3 à 5 ans menant à une invalidité chronique quelques années plus tard. La plupart des patients décèdent vers l'âge de 20 ans d'insuffisance cardiaque et/ou respiratoire⁶⁵.

Les myopathies touchent l'organisme dans son ensemble : en effet des signes cliniques, hématologiques et histologiques sont présents. Ils permettent de diagnostiquer cette pathologie mais également de surveiller son évolution. L'analyse génétique du gène *DMD*, codant la dystrophine, présent sur le chromosome X peut également être effectuée afin de confirmer le diagnostic.

Signes cliniques Les signes cliniques sont un élément essentiel dans le diagnostic des myopathies. La faiblesse musculaire des membres inférieurs est le premier signe clinique. Cette fatigue musculaire va également se faire ressentir au niveau du tronc avec une atteinte de l'ensemble des muscles et plus particulièrement des muscles respiratoires et cardiaques⁶⁴.

Signe biologique La créatine phosphokinase (CPK) est une enzyme musculaire présente dans les cellules musculaire. Lors d'atteinte musculaire, elle est libérée dans le sang. Le taux très élevé de CPK montre la dégénérescence des cellules musculaires et peut être utile au diagnostic⁶⁴.

Signes histologiques Le manque de mouvements et le déséquilibre de force entre les différents muscles aboutissent à une rétraction des muscles et des tendons. Les muscles immobilisés perdent de leur volume et de leur élasticité. De plus, on peut observer un enraidissement progressif de certaines articulations et de leurs ligaments. Des biopsies musculaires sont effectuées afin de déterminer la forme de myopathie à l'aide du marquage de la dystrophine⁶⁶.

3.3.1.3. Traitement actuel

L'approche thérapeutique actuelle est symptomatique. Elle est basée sur la prévention ainsi que sur le traitement des complications cardiaques et respiratoires. Certains médicaments comme les corticoïdes sont déjà utilisés dans le traitement des dystrophies. Une activité physique est recommandée afin d'éviter que les muscles s'atrophient. Cependant, les exercices violents et prolongés sont mauvais. Il est recommandé de ne pas atteindre le seuil d'effort maximal.

Les corticoïdes ont une action anti-inflammatoire positive sur les dystrophies. En effet, une amélioration temporaire est visible lors de leur utilisation. La prednisone et la prednisolone provoquent un ralentissement de la progression de la pathologie ainsi qu'une stabilisation de la force et de la fonction musculaire. Cependant, les corticoïdes ont des effets indésirables très importants notamment lors de la prise à long terme. Les principaux effets indésirables sont un retard de croissance, l'ostéoporose, l'hypertension, le syndrome de Cushing, la prise de poids et les syndromes gastro-intestinaux. Afin de les minimiser, les patients ont un suivi diététique et prennent de la vitamine D et du calcium^{64, 67}.

3.3.2. Lien entre le NO et les dystrophies musculaires

Le NO est présent au niveau musculaire. Il est structurellement et fonctionnellement lié au complexe de la dystrophine au niveau du sarcolemme. Le NO est un anti-oxydant, il capture les ions superoxyde. Il participe ainsi à la protection contre l'oxydation des biomolécules présentes dans les fibres saines. Chez des patients sains, la contraction musculaire induit la production de NO par la nNOS. Le NO induit une vasodilatation dans le but de fournir des métabolites et de l'oxygène nécessaire au travail musculaire, en contre-balançant l'effet vasoconstricteur du système adrénergique sympathique. Les patients atteints de dystrophie présentent une diminution voir une absence de nNOS. Les muscles peuvent alors subir une ischémie et une hypoxie qui entraînent une réduction de la tolérance à l'effort et une destruction des fibres, notamment les fibres de types IIb⁶⁸.

La dystrophine étant absente ou fortement diminuée dans les dystrophies musculaires, une diminution des nNOS spécifiques aux muscles est observée. Cela donne lieu à des déficiences fonctionnelles telles qu'une ischémie musculaire et une myogénèse compromise. Ces observations conduisent à l'étude de composés donneurs de NO^{69, 70}.

Une présence diminuée de NOS au niveau musculaire chez les myopathes

Dans cette partie, nous évoquerons principalement le sarcolemme et la jonction neuromusculaire. En effet, comme nous le montre la figure suivante (Figure 36), les isoformes de NOS sont présentes à ces deux niveaux. Le sarcolemme assure la diffusion des influx nerveux à l'ensemble de la fibre. La jonction neuromusculaire est une zone au niveau de laquelle s'effectue la neurotransmission.

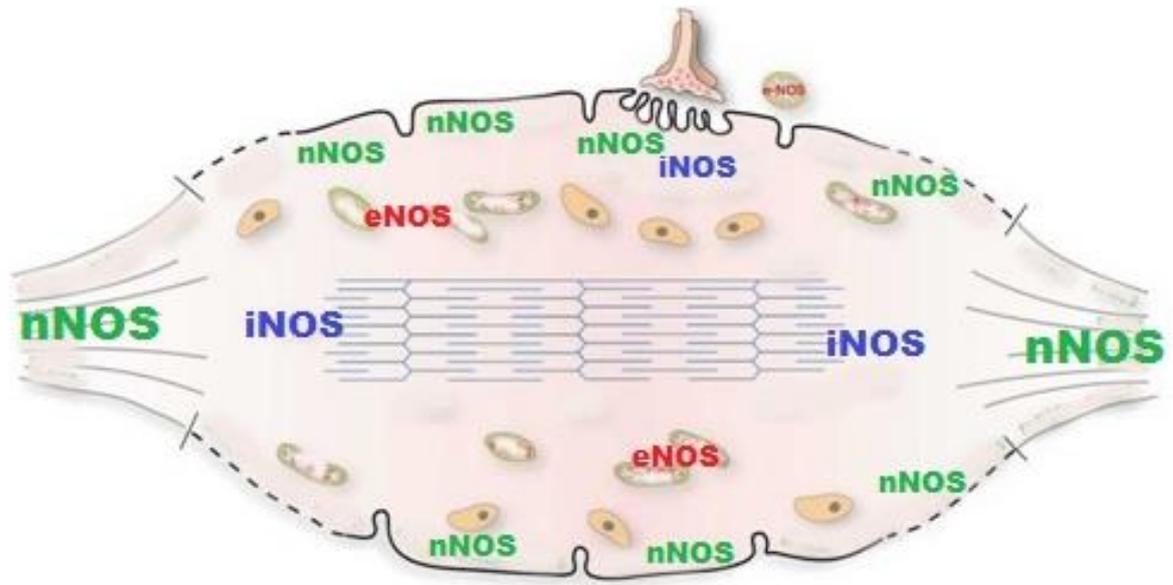


Figure 36 : Les isoformes de l'oxyde nitrique synthase dans un muscle sain. L'isoforme nNOS est présente dans le sarcoplasme, sous le sarcolemme et autour des noyaux. L'isoforme eNOS est principalement au niveau des mitochondries. L'isoforme iNOS impliquée est localisée au niveau des macrophages⁶⁸.

Au niveau musculaire, les patients sains disposent des trois isoformes. En effet, l'isoforme nNOS est présente dans le sarcoplasme, sous le sarcolemme et autour des noyaux. Les jonctions myo-tendineuses et neuromusculaires sont riches en nNOS, mais également en dystrophines. L'isoforme eNOS est principalement exprimée au niveau du sarcoplasme des fibres musculaires et plus particulièrement au niveau des mitochondries. L'isoforme iNOS impliquée dans la réponse immunitaire est localisée au niveau des macrophages. Elle peut également être retrouvée au niveau des fibres musculaires et de la jonction myo-tendineuse⁶⁸.

Les patients atteints de dystrophie musculaire ont une activité nNOS nulle. En effet, cette isoforme n'est pas présente au niveau du sarcolemme. Les isoformes nNOS et iNOS persistent au niveau des jonctions myo-tendineuses des patients myopathes. eNOS est toujours présente au niveau des mitochondries⁶⁸.

Un faible taux de NO chez les myopathes

Une étude est effectuée sur 26 patients de sexe masculin âgés de 4 à 11 ans ($5,44 \pm 1,81$). Les patients sont tous atteints d'une DMD avec une élévation de la CPK sérique et des biopsies musculaires anormales. Un groupe contrôle de 18 patients est également constitué. Le taux de NO sérique est de $4,19 \pm 2,82 \mu\text{mol/l}$ pour les

patients atteints de DMD et $39,53 \pm 19,43 \mu\text{mol/l}$ pour le groupe contrôle ($P < 0,001$). Le taux de NO sérique est significativement plus faible chez les patients atteints de dystrophies par rapport aux patients sains. La concentration sérique de NO pourrait donc être utilisé comme outil de dépistage des dystrophies⁷¹.

Le métabolisme des radicaux libres dans les cellules musculaires est un élément important des pathologies musculaires. Le faible taux de NO et la carence en dystrophine n'expliquent pas exclusivement la physiopathologie de la DMD. Cependant, le NO a un rôle de protecteur cellulaire contre les dommages occasionnés par les espèces réactives de l'oxygène et plus particulièrement l'anion superoxyde. Hors, chez les myopathes, le taux de NO est faible. Le niveau altéré de NO pourrait contribuer à la dégénérescence musculaire dans les dystrophies⁷¹.

3.3.3. Avancées thérapeutiques : Composés donneurs de NO utilisés dans le traitement des dystrophies musculaires

Deux composés donneurs de NO sont à l'étude dans le traitement des dystrophies musculaires, naproxcinod et NO-ibuprofène. L'efficacité des composés donneurs de NO est comparée à celle de la prednisolone, le traitement actuel des dystrophies musculaires.

3.3.3.1. Le naproxcinod

Le naproxcinod (Figure 37) appartient à la classe des inhibiteurs de cyclooxygénase donneurs de NO. C'est un dérivé du naproxène sur lequel un ester de nitroxybutyl a été greffé. Il a été développé initialement pour le soulagement des signes et symptômes de l'arthrose. A l'heure actuelle, l'objectif est d'évaluer son intérêt dans la dystrophie musculaire de Duchenne.

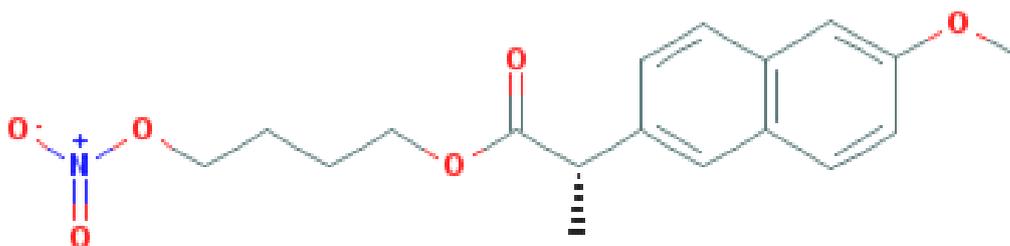


Figure 37 : Formule semi-développée du naproxcinod. Formule brute : $C_{18}H_{21}NO_6$. Masse molaire : 347,36 g/mol.

3.3.3.1.1. Historique du naproxcinod

- Avril 2013 La société française de biopharmaceutique « Nicox » communique des résultats prometteurs concernant les études précliniques du naproxcinod sur les modèles animaux de dystrophie musculaire⁶⁵.
- Juillet 2013 Un brevet couvrant des composés donneurs de NO, dont le naproxcinod, a été déposé et accordé en Europe et aux Etats unis dans le traitement des dystrophies musculaires⁶⁵.
- Octobre 2013 La commission européenne désigne le naproxcinod comme médicament orphelin dans le traitement de la dystrophie musculaire de Duchenne⁶⁵.

3.3.3.1.2. Etude préclinique

Les études précliniques effectuées en 2013 montrent que le naproxcinod a des effets thérapeutiques significatifs et persistants sur les fonctions musculaires et cardiaques. Le naproxcinod réduit l'inflammation et maintient la capacité de régénération du muscle sur les deux modèles murins de dystrophies. Les effets néfastes, au niveau des muscles squelettiques et cardiaques, liés au traitement à long terme par corticoïdes ne sont pas observés avec le naproxcinod aux doses efficaces^{70, 72}. Nous allons détailler les effets positifs du naproxcinod.

Une amélioration de la fonction musculaire

Un modèle de souris de référence pour la dystrophie musculaire de Duchenne est utilisé, les souris *mdx*. Elles sont utilisées afin de mettre en évidence les effets du naproxcinod sur la fonction musculaire. Trois dosages de naproxcinod ont été administrés par voie orale aux souris *mdx* (10, 21 41 mg/kg) pendant 9 mois. Un quatrième groupe de souris *mdx* reçoit 0,9 mg/kg de prednisolone⁷². Une amélioration significative de la force de préhension des membres postérieurs et une diminution d'environ 25 à 30 % de l'inflammation des membres antérieurs et postérieurs sont visibles avec les dosages 10 et 21 mg/kg de naproxcinod^{70,72}. Il en est de même d'un point de vue biologique avec une diminution des lésions musculaires ainsi qu'une diminution de l'inflammation⁷⁰. Pour finir, d'un point de vue histologique, une régénération musculaire est observable⁷⁰.

L'efficacité du naproxcinod, du dinitrate d'isosorbide seul et associé à l'ibuprofène, de la molsidomine et de la prednisolone est évaluée lors d'une étude⁶⁷, sur un modèle de souris atteintes de dystrophie musculaire, les souris α -SG-null. La récupération fonctionnelle des souris est évaluée à l'aide du test du tapis roulant. Pour cela, les souris sont dans un premier temps habituées à l'exercice à 5 mètres/minute sans inclinaison, puis la vitesse augmente de 1 mètre/minute toutes les 3 minutes pour atteindre 10 mètres/minute⁶⁷. Les différents groupes de souris sont traités par un NO-anti-inflammatoire (30 mg/kg de naproxcinod), un dérivé nitré (3 mg/kg de molsidomine), un dérivé nitré seul (30 mg/kg de dinitrate d'isosorbide) ou combiné à l'ibuprofène (50 mg/kg d'ibuprofène) et pour finir par des corticoïdes (2 mg/kg de prednisolone). La mesure de l'efficacité est exprimée en pourcentage d'amélioration (tableau IX) des souris traitées par rapport aux souris non traitées sur la durée de l'épuisement. Le naproxcinod montre une amélioration supérieure de la fonction musculaire par rapport aux autres substances administrées⁶⁷.

Tableau IX : Pourcentage d'amélioration des souris en fonction des traitements administrés et de la durée du traitement. On constate que le naproxcinod dispose du pourcentage d'amélioration le plus élevé et seulement au bout de 4 mois de traitement⁶⁷.

Composé	Dosage du composé	Pourcentage d'amélioration (%)	Nombre de mois de traitement
Naproxcinod	(30 mg/kg)	150	4
Molsidomine	(3 mg/kg)	63	8
Dinitrate d'isosorbide	(30 mg/kg)	10	4
		21	8
ISD +	(30 mg/kg)	40	4
ibuprofène	(50 mg/kg)	63	8
Prednisolone	(2 mg/kg)	117	6
		100	12

Cette étude montre que le naproxcinod induit rapidement, après 4 mois de traitement, une amélioration supérieure de la fonction musculaire. La prednisolone induit également une nette amélioration mais seulement après 6 à 12 mois de traitement. L'amélioration est plus faible avec les dérivés nitrés seuls ou associés à un anti-inflammatoire.

Une amélioration de la fonction cardiaque

L'étude précédente effectuée sur les souris *mdx* met en évidence le rôle important du naproxcinod sur la fonction cardiaque⁷². L'échocardiographie montre une amélioration de la fraction de raccourcissement et de la fraction d'éjection. Une amélioration de la pression artérielle systolique est également visible⁷².

Pour conclure, ces études précliniques montrent qu'un traitement par un composé donneur de NO est favorable dans le traitement des dystrophies musculaires, et plus particulièrement le naproxcinod. Les effets néfastes observés sur les muscles squelettiques et cardiaques liés au traitement à long terme par corticoïdes ne sont pas observés avec le naproxcinod.

3.3.3.2. Le NO-ibuprofène, NCX 320

Le NO-ibuprofène, NCX 320, a été synthétisé à l'institut de recherche NicOx. Il est composé d'une molécule d'ibuprofène sur laquelle a été greffé un groupement

nitrosobutyl (Figure 38). L'association d'un anti-inflammatoire et d'un groupement donneur de NO confère à cette molécule une double activité ; une activité inhibitrice sur COX-1 et COX-2 ainsi qu'une activité vasculaire entraînant une vasodilatation NO dépendante⁷³.

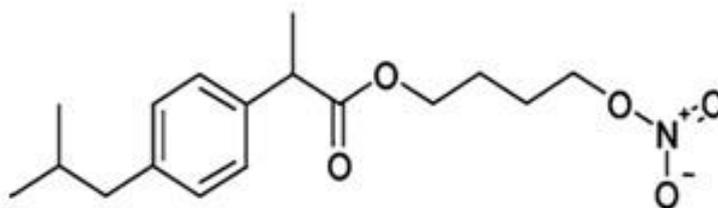


Figure 38 : Formule semi-développée du NO-ibuprofène, NCX320

3.3.3.2.1. Etude préclinique de NO-ibuprofène, NCX 320

L'effet du NCX 320 est démontré dans une étude préclinique effectuée sur un modèle de souris dystrophiques, les souris α -SG-null. Dès l'âge de 1 mois jusqu'à leur 8 mois, elles sont traitées à doses équivalentes d'ibuprofène et de NO-ibuprofène; 7 souris reçoivent 50 mg/kg d'ibuprofène et 7 souris sont traitées par 65 mg/kg de NO-ibuprofène. Les souris du groupe témoin ne reçoivent aucun traitement⁷³.

Cette étude montre les effets bénéfiques de la greffe du groupement donneur de NO sur l'ibuprofène.

Une amélioration de l'activité volontaire et de la résistance à l'exercice

L'activité musculaire des souris est évaluée grâce à deux tests. Le premier, la roue libre, permet d'évaluer la capacité de l'activité volontaire (Figure 39) ; le second, le tapis roulant, permet de mesurer la résistance à l'exercice forcé (Figure 40).

L'efficacité du NCX 320 et de l'ibuprofène sur la capacité de l'activité volontaire est comparée par rapport au groupe témoin. Pour cela, la distance parcourue dans la roue libre en 24 h est mesurée dans les trois groupes de souris. Les souris traitées par le NCX 320 montrent une augmentation significative de l'activité volontaire par rapport au témoin. Les souris traitées par l'ibuprofène quant à elles montrent une augmentation modeste de l'activité volontaire.

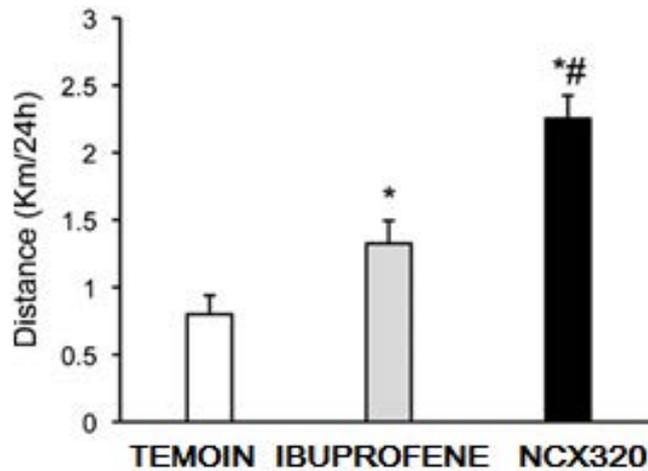


Figure 39 : Distance parcourue en fonction du traitement administré, ibuprofène et NCX 320. De l'âge de 1 mois jusqu'à leur 8 mois, les souris sont traitées à doses équivalents d'ibuprofène (50 mg/kg, n=7) et de NCX 320 (65 mg/kg, n=7). Les souris du groupe témoin ne reçoivent aucun traitement⁷³.

Puis, l'efficacité du NCX 320 et de l'ibuprofène sur la résistance à l'exercice est mesurée grâce au test du tapis roulant. Les souris traitées par le NCX 320 montrent une résistance à l'exercice forcée supérieure au groupe témoin. Le traitement par l'ibuprofène est inefficace dans l'amélioration de la résistance à l'exercice forcée.

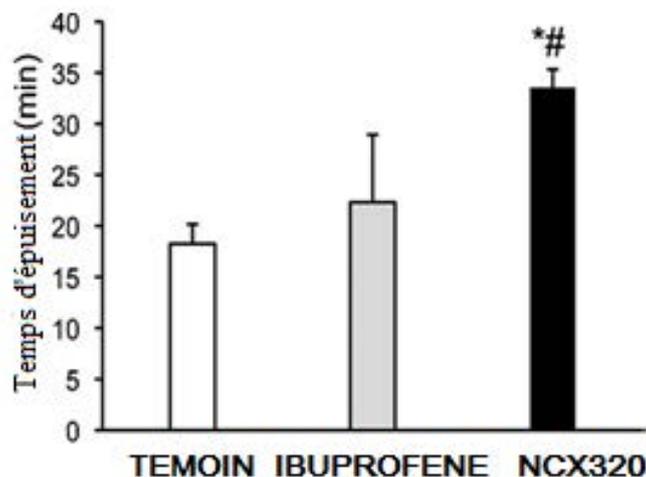


Figure 40 : Temps d'épuisement en fonction du traitement administré, ibuprofène et NCX 320. De l'âge de 1 mois jusqu'à leur 8 mois, les souris sont traitées à doses équivalents d'ibuprofène (50 mg/kg, n=7) et de NCX 320 (65 mg/kg, n=7). Les souris du groupe témoin ne reçoivent aucun traitement. Les souris traitées par le NCX 320 ont un temps d'épuisement significativement élevée par rapport au témoin et au groupe traité par l'ibuprofène⁷³.

Cette étude montre la réelle efficacité du NCX 320 dans l'amélioration de l'activité volontaire et de la résistance à l'exercice ⁷³.

Une diminution de l'inflammation et des dommages musculaires

Le taux de CPK sérique (Figure 41) est mesuré à 2, 3 et 4 mois afin d'évaluer l'inflammation et les dommages musculaires qui englobent les lésions musculaires ainsi que la dégénérescence de la fibre musculaire. Le traitement par NCX 320 induit une diminution significative du taux de la CPK par rapport au groupe contrôle (48 % après 2 mois de traitement, 40 % à 3 mois et 41 % à 4 mois, $p < 0.05$). Les souris traitées par l'ibuprofène ont également un taux de CPK diminué, mais moindre.

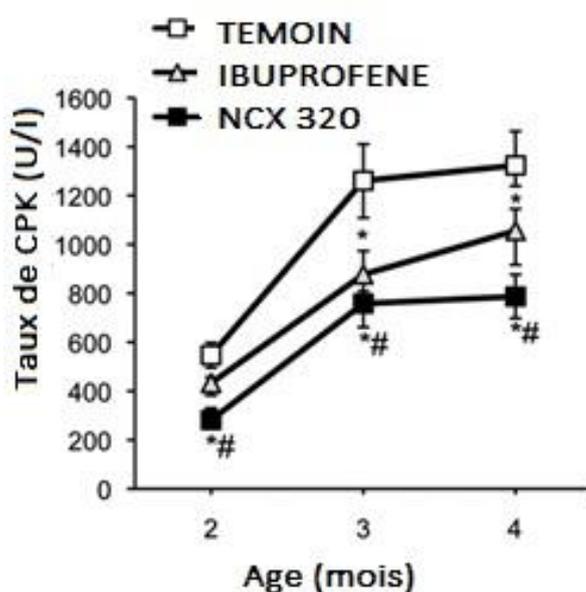


Figure 41 : Taux de CPK au cours du traitement par ibuprofène et NCX 320. L'activité de la créatine kinase est mesurée en fonction du traitement administré et de l'âge des souris traitées. Le traitement par NCX 320 induit une diminution significative de l'activité de la CPK par rapport au groupe contrôle (48 % après 2 mois de traitement, 40 % à 3 mois et 41 % à 4 mois, $p < 0.05$). Les souris traitées par l'ibuprofène ont également une activité de la CPK diminuée, mais moindre.

Le taux de CPK réduit sa progression dans le temps puis se stabilise avec le traitement par NO-ibuprofène. L'effet anti-inflammatoire du NCX 320 est mis en évidence en évaluant son activité inhibitrice des COX. Le NCX 320 inhibe la COX-1 et la COX-2 (CI₅₀ de $8,1 \pm 1,1$ et $21,6 \pm 1,2$ M respectivement) de la même façon que l'ibuprofène (CI₅₀ de $11,7 \pm 1,2$ M et $18,2 \pm 1,5$ M respectivement) ⁷³.

Une diminution du nombre d'infiltrats inflammatoires et de fibres nécrotiques

Des analyses histologiques sont effectuées au 4^{ème} et au 8^{ème} mois de traitement afin d'évaluer l'évolution des infiltrats inflammatoires et des fibres nécrotiques (Figure 42). Ces analyses sont effectuées sur le diaphragme, un muscle involontaire endommagé dans les dystrophies musculaires. Les souris traitées par le NCX 320 montrent une diminution significative de 36 % des infiltrats inflammatoires par rapport aux souris contrôle⁷³. Une diminution de l'accumulation de tissu cicatriciel extracellulaire est visible et reflète la diminution du nombre des fibres nécrotiques. Au contraire l'ibuprofène n'a pas réduit de façon significative les fibres nécrotiques.

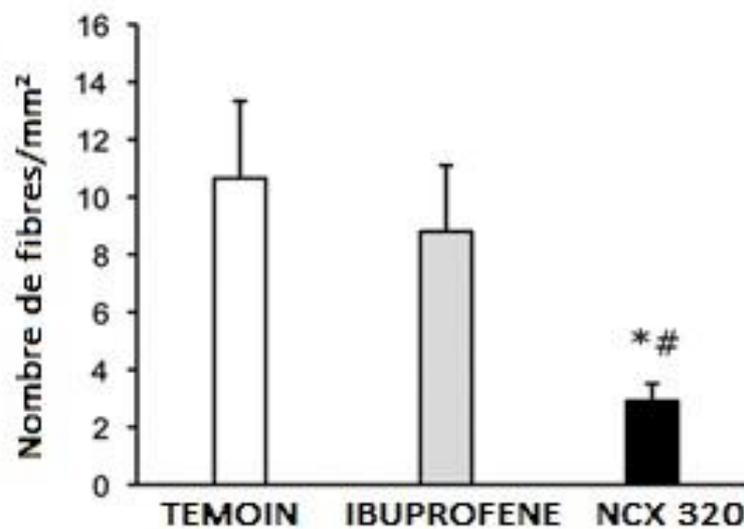


Figure 42 : Nombre de fibres nécrotiques par mm² représenté en fonction du traitement administré, ibuprofène et NCX320⁷³.

Ces données montrent que le nombre des fibres nécrotiques par mm² est très faible chez les souris traitées par NCX 320 avec moins de 4 fibres/mm² par rapport à celles traitées par ibuprofène seul ou au groupe contrôle avec une moyenne de 9 fibres nécrotiques/mm².

Une amélioration de la réparation musculaire

La réparation musculaire a lieu grâce à la capacité de la cellule précurseur myogénique musculaire à fusionner avec des myofibres existantes afin de générer de nouvelles myofibres. Chez les souris atteintes de dystrophies musculaires, cette

capacité est diminuée en raison de l'épuisement du réservoir de précurseur myogénique suite à des réparations excessives.

Des biopsies sont effectuées à 8 mois de traitement afin de mesurer le nombre de fibres (Figure 43). Lors du traitement par NCX320, une augmentation significative du nombre de fibres. Au contraire, l'ibuprofène est totalement inefficace sur ce phénomène.

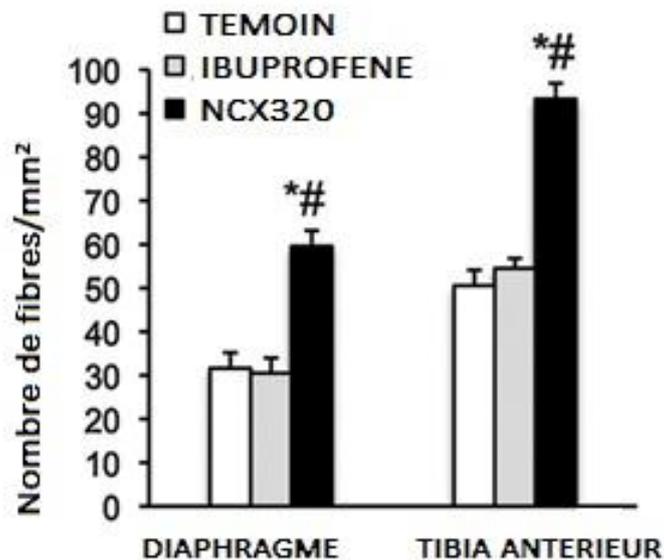


Figure 43 : Nombre de fibres nouvellement formées par mm^2 dans le muscle du diaphragme et du tibia antérieur en fonction du traitement administré, ibuprofène et NCX320⁷³.

De plus, un marquage des précurseurs myogéniques à l'aide de CD34* permet de constater une augmentation significative du nombre de ces cellules précurseurs dans les muscles (Figure 44).

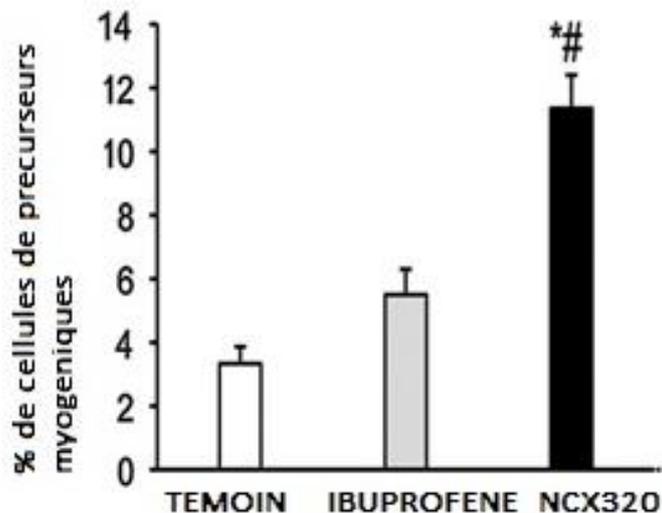


Figure 44 : Pourcentage reflétant le nombre de cellules précurseurs myogéniques en fonction du traitement administré, ibuprofène et NCX 320. Les souris traitées par le NCX320 montrent une augmentation significative du nombre de précurseurs myogéniques⁷³.

Ces deux graphiques nous montrent que le groupement donneur de NO permet d'induire une réparation musculaire. En effet, le nombre de fibres nouvellement formées ainsi que le nombre de cellules précurseurs myogéniques sont plus importants lors du traitement par NO-ibuprofène.

Le traitement par NCX 320 montre des effets thérapeutiques importants et persistants. Certains effets sont propres au groupement anti-inflammatoire tels que l'augmentation de l'activité volontaire et la diminution de l'inflammation. Le groupement donneur de NO permet d'améliorer la résistance à l'exercice forcé, de réduire la nécrose des fibres et de maintenir la capacité de régénération musculaire.

Pour conclure cette partie, les études précliniques montrent que le naproxinod et le NO-ibuprofène ont des effets positifs sur la fonction musculaire des souris myopathes. En effet, on constate une nette amélioration de la fonction musculaire ainsi qu'une diminution significative de l'inflammation et de la présence de fibres nécrotiques. Pour finir, on peut observer la présence de nouvelles fibres, signe d'une régénérescence musculaire. Le naproxinod a obtenu le statut de médicament orphelin dans le traitement des myopathies. En décembre 2009, un dossier de

demande d'AMM auprès de l'agence européenne des médicaments avait été soumis pour le naproxcinod dans le traitement de l'arthrose. Trois études cliniques de phase 3 avaient été effectuées et validées. Cependant, la FDA n'a pas approuvé le dossier de demande d'AMM du naproxcinod dans le traitement de l'arthrose.

En novembre 2015, Nicox signe un contrat de licence exclusif avec Fera Pharmaceuticals pour le développement et la commercialisation du naproxcinod aux Etats-Unis. Fera pharmaceuticals se concentre sur le traitement des signes et symptômes de l'arthrose. Des travaux supplémentaires devront être requis avant de soumettre à nouveau un dossier de New Drug Application. Le contrat ne couvre pas l'indication dans la dystrophie musculaire de Duchenne.

CONCLUSION

Le NO est utilisé depuis plusieurs années dans la sphère cardiaque. Il est utilisé sous forme inhalée dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né. En effet, les études cliniques montrent une amélioration de l'oxygénation grâce à l'intervention de la NO-signalisation.

Dans le traitement de l'angor, la forme galénique utilisée détermine l'indication des dérivés nitrés ou des sydnonimines. Dans le traitement de la crise angineuse, des sprays sublinguaux sont utilisés. Au contraire, les formes galéniques dispositifs transdermiques, comprimés et comprimés à libération prolongée sont utilisés dans le traitement de fond de l'angor. Pour finir, l'angor instable est une urgence médicamenteuse nécessitant une forme injectable intraveineuse.

Le nitroprussiate, utilisé initialement en cardiologie a été à l'étude dans le traitement de la schizophrénie. Le NO intervient principalement au niveau de la modulation synaptique de la dopamine et du glutamate. Les études cliniques de phase II montrent une amélioration significative des symptômes de cette pathologie.

Dans le cas des nouveaux donneurs de NO hybrides, des propriétés supplémentaires aux molécules mères seules sont présentes. Certains nouveaux donneurs de NO sont encore au stade des études précliniques, comme les NO-statines. Cependant, les résultats obtenus sont positifs et prometteurs. Le latanoprostène bunod, proposé dans le traitement du glaucome est à un stade plus avancé. Par conséquent, une demande d'AMM est prévue aux Etats-Unis dans les mois à venir. Le donneur de NO, naproxcinod, à l'étude dans le traitement des dystrophies musculaire dispose du statut de médicament orphelin. Il doit être développé par la société Fera Pharmaceuticals en contrat avec Nicox dans le traitement de l'arthrose aux Etats-Unis.

Bibliographie

1. STANKEVICIUS, E., KEVELAITIS, E., VAINORIUS, E., *et al.* Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. *Medicina*, 2003, 39,4, 333–341.
2. GAME, X., RISCHMANN, P., ARNAL, J.-F., *et al.* Nitric oxide pathway and female lower urinary tract. Physiological and pathophysiological role. *J Assoc Fr Urol*, 2013,23,11, 926–935.
3. GHAFARI, Y., LABARDEN, G. *Rapport IST : le monoxyde d'azote. Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines, Rapport du DESS IST*, 2003, 45 p.
4. BISSON, M., BUREAU, J., DEL GRATTA, F., *et al.* *Oxydes d'azote NOx*, INERIS - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques - version N°2, 2011, 58 p, www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2815 [consulté le 3 mars 2016].
5. PACHER, P., BECKMAN, J. S., LIAUDET, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*, 2007, 87,1, 315–424.
6. ROBERTS, J.D., FINEMAN, J., MORIN, F., *et al.* Inhaled nitric oxide and persistent pulmonary hypertension of the new born. *New Engl J Med*, 1997, 336, 6, 605–610.
7. SCHROEDER, R. A., KUO, P. C. Nitric Oxide: physiology et pharmacology. *Anesth Analg*, 1995, 81, 1052–1059.
8. ASTIER, J. Identification et étude du rôle des protéines cibles du monoxyde d'azote (NO) dans les réponses de défense chez le tabac. Thèse de Docteur de l'Université de Bourgogne. Discipline Sciences de la Vie. Spécialité Biochimie, biologie Cellulaire et Moléculaire. Université de Bourgogne, 2011, 237 p.
9. Air pays de la la loire. *Les oxydes d'azote*. 2006, Fiche thématique, 2006, 2 p, <http://www.respire-asso.org/wp-content/uploads/2011/03/2006-FICHE-OXYDE-AOZTE-PAYS-DE-LA-LOIRE-.pdf> [consulté le 7 mars 2016].
10. WU, G., MORRIS, S. M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J*, 1998, 336, 1–17.

11. TUTEJA, N., CHANDRA, M., TUTEJA, R., *et al.* Nitric oxide as a unique bioactive signaling messenger in physiology and pathophysiology. *J Biomed Biotechnol*, 2004, 4, 227–237.
12. ALDERTON, W. K., COOPER, C. E. & KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *J Biochem*, 2001, 357, 593–615.
13. FÖRSTERMANN, U., SESSA, W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*, 2012, 33, 7, 829–837.
14. MURAD, F. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *New Engl J Med*, 2006, 355, 19, 2003–2011.
15. PARENT, M. Caractérisation physicochimique du S-nitrosoglutathion, molécule à potentiel thérapeutique cardiovasculaire : vers l'établissement d'une monographie. Thèse d'Université de Docteur en Pharmacie, Université de Lorraine, 2012, 159 p.
16. BRONIEWSKA, K. A., DIERS, A. R., HOGG, N. S-nitrosoglutathione. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830, 5, 3173–3181.
17. ASTIER, J., BESSON-BARD, A., WAWER, I., *et al.* Nitric oxide signaling in plants : cross-talk with Ca²⁺ , protein kinases and reactive oxygen species. *Annu Plant Rev*, 2010, 42, 147–170.
18. FRIEBE, A., KOESLING, D. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circ Res*, 2003, 93, 2, 96–105.
19. TADIE, J. marc. Rôle clinico-biologique du monoxyde d'azote. Thèse de Docteur de l'Université Paris Est. Spécialité Sciences de la vie et de la Santé. Université Paris Est, 2010, 113 p.
20. LUCAS, K. A., PITARI, G. M., KAZEROUNIAN, S. *et al.* Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev*, 2000, 52, 3, 375–414.
21. AL-SA'DONI, H., FERRO, A. S-Nitrosothiols: a class of nitric oxide-donor drugs. *Clinical sc*, 2000, 98, 507–520.

22. ELLIS, D.Z., SHARIF, N.A. & DISMUKE, W.M. Endogenous regulation of human Schlemm's canal cell volume by nitric oxide signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010,51,11, 5817–5824.
23. KIEFFER, F., KASSIS, M., COATANTIEC, Y., *et al.* Hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né et monoxyde d'azote : de la physiologie a la thérapeutique. *J Pédiatr Puériculture*,1997, 10,4,195–199.
24. THEBAUD, B.,MERCIER, J. Le monoxyde d'azote inhalé : un traitement plus physiologique de l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né.*Arch Pédiatr*,Elsevier, Paris, 1997, 4,988–1003.
25. Embryologie humaine. Circulation foetale et postnatal. [en ligne] Site disponible sur : <<http://www.embryology.ch/francais/pcardio/umstellung01.html>>. [Page consultée le 10 septembre 2015]
26. DUMAS DE LA ROQUE, E., STORME, L., MAURIAT, P. *et al.* Hypertension pulmonaire de l'enfant et du nouveau-né en réanimation. Partie I: physiopathologie. *Arch Pédiatr*,2011, 18, 68–75.
27. CABRAL, J. E. B., BELIK, J. Persistent pulmonary hypertension of the newborn: recent advances in pathophysiology and treatment. *J Pediatr*,2013,89,3, 226–242.
28. European medicines agency. *INOMax : nitric oxide*. 2013, 3 p, www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000337/WC500032780.pdf[consulté le 7 mars 2016].
29. VIELLEVOYE, R., RIGO, V.,RIGO, J. Actualités thérapeutiques dans l'hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau-né, *Rev Med Liege*, 2007, 62, 5-6, 284–287.
30. Haute autorité de santé. *Inomax*. Commission de la transparence, 2014, 3 p, www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-13868_INOMAX_QDINS_Avis%202_CT13868_CT.pdf [consulté le 7 mars 2016].

31. PELIOWSKI, A. Inhaled nitric oxide use in newborns. *Paediatr Child Health*, 2012, 17,2, 95–100.
32. INO Therapeutics. *INOmax® (nitric oxide) for inhalation*. 2011, 4 p., <http://inomax.com/wp-content/uploads/2016/02/INOmax-PI-web-2015-10.pdf> [consulté le 7 mars 2016]
33. DUNCAN, P.L.B., KOHLMANN, S.T., JOHN, R.P. *et al.* Nitric oxide delivery system. Brevet US 5558083, 24-09-1996.
34. PARENT, M. DUPUIS, F., MAINCENT, P. *et al.* Which future in cardiovascular therapy for nitric oxide and its derivatives? *Ann Pharm Fr*, 2013,71, 84–94.
35. LLORCA, P.-M. *Qu'est ce que la schizophréni ?* Fondation fondamentale. Réseau de coopération scientifique en santé mentale, 2015, 15 p., www.fondation-fondamentale.org/upload/pdf/article_llorca_schizophrenie.pdf [consulté le 7 mars 2016]
36. MAIA-DE-OLIVEIRA, J.P., LOBÃO-SOARES, B., BAKER, G.B., *et al.* Sodium nitroprusside, a nitric oxide donor for novel treatment of schizophrenia, may also modulate dopaminergic systems. *Schizophr Res*, 2014, 159, 2-3, 558–559.
37. HALLAK, J.E.C., MAIA-DE-OLIVEIRA, J.P., ABRAO, J., *et al.* Rapid improvement of acute schizophrenia symptoms after intravenous sodium nitroprusside: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *JAMA Psychiatry*, 2013,70, 7, 668–676.
38. CRACOWSKI, J. L. *Les dérivés nitrés et apparentés*, Fiche version 2.1 du 01/06/2011, 2011, 4 p., www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/cms/sites/medatice/dcem1/dcem1/docs/20120208171647/Abr_g_d_e_Pharmacologie_2010_Nitr_s_v2.1.pdf [consulté le 8 mars 2016]
39. VIDAL. *vidal en ligne*. 2015.
40. Haute autorité de santé. *Isocard*, Commission de la transparence, 2012, 2 p., www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-06/isocard_23052012_avis_ct_12205.pdf [consulté le 7 mars 2016]

41. Haute autorité de santé. *Langoran*, Commission de la transparence,2012, 3p., www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-10/langoran_lp_03102012_avis_ct_12328.pdf [consulté le 7 mars 2016]
42. Haute autorité de santé. *Risordan*, Commission de la transparence,2012,2 p., www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-10/risordan_03102012_avis_ct_12324.pdf [consulté le 7 mars 2016]
43. Haute autorité de santé. *Nitronal*, Commission de la transparence,2007, 6 p., www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct-5072_nitronal.pdf [consulté le 7 mars 2016]
44. Haute autorité de santé. *Corvasal*, Commission de la transparence,2015,4 p., www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14518_CORVASAL_PIS_RI_Avis1_CT14518.pdf [consulté le 7 mars 2016]
45. LEBRANCHU, Y. Lipides et dysfonctionnement de l'endothélium,*Néphrologie*, 2000, 21,7, 373–376.
46. MA, S.,MA, C. C.-H. Recent developments in the effects of nitric oxide-donating statins on cardiovascular disease through regulation of tetrahydrobiopterin and nitric oxide. *Vasc Pharmacol*,2014, 1–8.
47. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. *Traitement par statines et risque musculaire*. Questions / Réponses, 2002, 4p., http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/46fc01d55cbdade1461394012ca15183.pdf [consulté le 7 mas 2016]
48. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. *Traitement par statines et risque musculaire*. Questions / Réponses, 2002, 4p., http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/46fc01d55cbdade1461394012ca15183.pdf [consulté le 7 mas 2016]

49. MOMI, S., IMPAGNATIELLO, F., GUZZETTA, M., *et al.* NCX 6560, a nitric oxide-releasing derivative of atorvastatin, inhibits cholesterol biosynthesis and shows anti-inflammatory and anti-thrombotic properties. *Eur J Pharmacol*, 2007, 570,1-3, 115–124.
50. Cours anatomie et physiologie. *Anatomie et physiologie de l'œil*, 2015. 35 p., <http://home.btconnect.com/hindy/MossDocs/anatomie%20et%20physiologie%20de%20l'oeil.pdf> [consulté le 7 mars 2016]
51. Université Médicale virtuelle Francophone. *Glaucome chronique*. 2013, 11 p., <http://campus.cerimes.fr/ophtalmologie/enseignement/ophtalmo17/site/html/cours.pdf> [consulté le 7 mars 2016]
52. Société française du glaucome. Glaucome. Site disponible sur : <www.leglaucome.fr>. (Page consultée le 20 septembre 2015).
53. NATHANSON, J. A., MCKEE, M. Alterations of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995, 36,9, 1774–1784.
54. NATHANSON, J. A., MCKEE, M. Identification of an extensive system of nitric oxide-producing cells in the ciliary muscle and outflow pathway of the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1995, 36,9, 1765–1773.
55. STAMER, W.D., LEI, Y., BOUSSOMMIER-CALLEJA, *et al.* eNOS, a pressure-dependent regulator of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52,13, 9438–9444.
56. ClinicalTrials.gov. Étude comparant la sécurité et l'efficacité de BOL-303259-X au latanoprost chez des sujets atteints de glaucome ou d'hypertension oculaire. [en ligne] Site disponible sur : <<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01223378?term=BOL-303259-X&rank=4>> [Page consultée le 05 janvier 2016].

57. WEINREB, R.N. ONG, T., SCASSELLATI SFORZOLINI, B., *et al.* A randomised, controlled comparison of latanoprostene bunod and latanoprost 0.005% in the treatment of ocular hypertension and open angle glaucoma: the VOYAGER study. *Br J Ophthalmol*, 2015, 99, 6, 738–745.
58. WEINREB, R.N., ONG, T., SCASSELLATI SFORZOLINI, B., *et al.* A prospective randomized, multicenter, single-masked, parallel, dose ranging (voyager). Study to compare the safety and efficacy of BOL-303259-X to latanoprost in subjects with open angle glaucoma or ocular hypertension. *Am Glaucoma Soc 23 rd Annu Meet, 2 mars 2013*, San Francisco, 19 p.
59. NELSON, R. & KATZ, L. J. Novel glaucoma drug rivals standard therapy. [en ligne] Site disponible sur <<http://ophthalmologytimes.modernmedicine.com/ophthalmologytimes/news/novel-glaucoma-drug-rivals-standard-therapy#>> [Page consultée le 28 août 2015].
60. ClinicalTrials.gov. Comparing the Safety and Efficacy of BOL-303259-X Ophthalmic Solution With Timolol Maleate Ophthalmic Solution in Subjects With Open-Angle Glaucoma or Ocular Hypertension (LUNAR). [en ligne] Site disponible sur <<http://clinicaltrials.gov/show/NCT01749930>> [Page consultée le 5 janvier 2016].
61. ClinicalTrials.gov. Comparing Safety and Efficacy of BOL-303259-X With Timolol Maleate in Subjects With Open-Angle Glaucoma or Ocular Hypertension (APOLLO). [en ligne] Site disponible sur : <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01749904>> [Page consultée le 22 janvier 2016].
62. ClinicalTrials.gov. A Study Evaluating the Long-Term Safety of Latanoprostene Bunod Ophthalmic Solution 0.024%, in Japanese Subjects With Open-Angle Glaucoma or Ocular Hypertension (JUPITER). [en ligne] Site disponible sur : <<http://clinicaltrials.gov/show/NCT01895972>> [Page consultée le 22 janvier 2016].
63. association française contre les myopathies. La dystrophie musculaire de Becker. *orphanet*, 2010, 51 p., www.afm-telathon.fr/sites/default/files/flipbooks/zoom_sur_la_dystrophie_musculaire_de_becker/files/docs/all.pdf [consulté le 7 mars 2016]

64. Association française contre les myopathies. La prise en charge dans la dystrophie musculaire de Duchenne. *Orphanet*, 2009, 79 p., www.afm-telathon.fr/sites/default/files/flipbooks/zoom_sur_la_prise_en_charge_dans_la_dystrophie_musculaire_de_duchenne_/files/docs/all.pdf [consulté le 7 mars 2016]
65. Sophia Antipolis. Nicox reçoit une opinion positive pour le naproxcinod sur la désignation de médicament orphelin en Europe dans la Dystrophie Musculaire de Duchenne. in *nicox*, 2013, 3 p., www.nicox.com/wp-content/uploads/pr2013091100fr.pdf?aeb643[consulté le 7 mars 2016]
66. BRUNELLI, S., SCIORATI, C., D'ANTONA, G., *et al.* Nitric oxide release combined with nonsteroidal antiinflammatory activity prevents muscular dystrophy pathology and enhances stem cell therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104,1, 264–249.
67. CLEMENTI, E., COSSU, G., BRUNELLI, S., *et al.* Use of nitrooxyderivative of drug for the treatment of muscular dystrophies. Brevet US 2013/0137765 A1. 30-05-2013.
68. CHAUBOURT, E., VOISIN, V., FOSSIER, P., *et al.* Muscular nitric oxide synthase (muNOS) and utrophin. *J Physiol*, 2002,96,1-2, 43–52.
69. MIGLIETTA, D., SCIORATI, C., DE PALMA, C., *et al.* Naproxcinod, a nitric oxide-donating anti-inflammatory compound, is effective in two mouse models of muscle dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 2013, 23, 9-10, 799.
70. NAGARAJU, K., UAESOONTRACHOON, K., QUINN, J., *et al.* Long term treatment with naproxcinod significantly improves skeletal and cardiac function in mdx mouse model of dystrophy. *Neuromuscul Disord*, 2013, 9-10,23,799.
71. GÜCÜYENER, K., ERGENEKON, E., ERBAS, D., *et al.* The serum nitric oxide levels in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Brain Dev*, 2000,22,3, 181–183.
72. Sofia Antipolis. Résultats précliniques pour le naproxcinod sur des modèles de dystrophie musculaire présentés à la MDA Scientific Conference. in *nicox*, 2013, 3p., www.nicox.com/wp-content/uploads/pr2013042300fr1.pdf?aeb643[consulté le 7 mars 2016]

73. SCIORATI, C., MIGLIETTA, D., BUONO, R., *et al.* A dual acting compound releasing nitric oxide (NO) and ibuprofen, NCX 320, shows significant therapeutic effects in a mouse model of muscular dystrophy. *Off J Ital Pharmacol Soc*, 2011, 64, 3, 210–217.
74. Secretion humeur aqueuse. at <<http://ia-solution-cecite-tpe.blogspot.fr/2013/03/i-la-vision-chez-lhumain-en-bonne-sante.html>>(Page consultée le 7 mars 2016)

N° d'identification :

TITRE

**AVANCEES THERAPEUTIQUES DES DERIVES
NITRES ET DONNEURS DE MONOXYDE D'AZOTE**

Thèse soutenue le 29 avril 2016

Par GENESTIER Mathilde

RESUME :

Le monoxyde d'azote (NO) est le seul neurotransmetteur gazeux connu chez les mammifères. Il est utilisé sous sa forme originelle, iNOMax®, dans le traitement de l'hypoxémie présente chez les nouveau-nés atteints d'hypertension pulmonaire persistante. Depuis les années 1980, les dérivés nitrés et les sydnonimines sont utilisés en cardiologie, principalement dans le traitement de l'angor. Le nitroprussiate de sodium, utilisé initialement en cardiologie dans le traitement de l'insuffisance cardiaque aiguë, a été à l'étude en 2014 au « *Massachusetts General Hospital* » dans le traitement de la schizophrénie.

L'objectif de cette thèse est de relater les nouveaux donneurs de monoxyde d'azote à l'étude. Le groupement nitrooxy butyl ester est greffé sur des molécules déjà existantes.

Les NO-statines (NCX 6550, NCX 6553 et NCX6560) ont une activité antithrombotique et anti-inflammatoire qui se surajoutent à l'effet hypolipémiant. La prostaglandine donneuse de NO, latanoprostène bunod, est actuellement en développement dans le traitement du glaucome et de l'hypertension oculaire et a obtenu une licence à Bausch & Lomb en mars 2010. Une demande d'autorisation de mise sur le marché a été réalisée aux Etats-Unis auprès de la *Food and Drug Administration*. Les anti-inflammatoires donneurs de NO, naproxcinod et NCX 320, sont à l'étude dans le traitement des dystrophies musculaires. Le naproxcinod a obtenu le statut de médicament orphelin dans le traitement des myopathies. En 2015, Nicox signe un contrat de licence exclusif avec Fera Pharmaceuticals pour le développement et la commercialisation du naproxcinod aux Etats-Unis. Cependant, ce contrat ne couvre pas l'indication « dystrophie musculaire de Duchenne ».

Les composés donneurs de monoxyde d'azote ont donc un avenir prometteur dans de multiples domaines thérapeutiques.

MOTS CLES : monoxyde d'azote, dérivés nitrés, hypertension pulmonaire persistante du nouveau né, angor, schizophrénie, glaucome, myopathie de Duchenne.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
<u>Mr Stéphane GIBAUD</u>	Laboratoire de pharmacie clinique	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input checked="" type="checkbox"/>

Thèmes 1 – Sciences fondamentales
③ – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle