

La découverte des sulfamides hypoglycémiants

par Marie-Madeleine Loubatières-Mariani*

Professeur honoraire à la Faculté de Médecine de Montpellier, Membre correspondant honoraire de l'Académie Nationale de Médecine

** Résidence le Paradis, 14 impasse des Capucines, 34000 Montpellier, France*

Reçu le 11 avril 2007

SUMMARY The discovery of hypoglycemic sulfonamides

In 1933 Auguste Loubatières started to work at the Physiological Laboratory of the Montpellier Medical School, famous for the scientific work of Emmanuel Hédon and then Louis Hédon on experimental diabetes mellitus.

Auguste Loubatières was particularly interested in the study of a new preparation of long-lasting insulin (insulin-protamine-zinc: IPZ) in the totally pancreatectomized dog. In 1938, he observed that high doses of IPZ induced a severe and protracted hypoglycemia entailing convulsive attacks and even irreversible coma.

The story of hypoglycemic sulfonamides started in France in spring 1942. During the second world war, because of the food shortage in Montpellier, a lot of people ate rotting food or even food contaminated with bacteria, such as shellfish. Many cases of typhoid fever were diagnosed and treated by Marcel Janbon at the Clinic of the Montpellier Medical School with a new sulfonamide (VK 57 or 2254 RP). Adverse reactions were observed: in some patients, convulsions and even prolonged coma occurred; in some others a major drop in blood glucose was observed. M. Janbon informed the physiologists about these observations questioning them for an interpretation.

A. Loubatières was particularly interested and immediately undertook animal trials. On June 13, 1942, he observed that repeated oral administration of 2254 RP in the normal fasting conscious dog induced a progressive, marked and long-lasting decrease in glycemia. He continued his experiments and definitively established the hypoglycemic effect of this sulfonamide.

However the mechanism of action remained to be established. The pattern of some graphs reminded him that of some others he could previously observe in the study with IPZ; it occurred to him that 2254 RP could lower the blood glucose concentration by stimulating insulin secretion. He had then to establish the validity of his hypothesis.

From 1942 to 1946, A. Loubatières performed a systematic study of the effects of 2254 RP and structural analogs and investigated the mechanism involved in the hypoglycemia. These results are reported in his "Doctorat ès-Sciences" thesis (1946). He observed that 2254 RP was ineffective on glycemia in totally pancreatectomized dogs but was effective in partially pancreatectomized ones. The hypoglycemic effect in normal dog was dependent on the plasma sulfonamide concentration; this effect appeared whatever the route of administration and was unaffected by vagotomy. Furthermore, Loubatières performed cross-circulation experiments. In these experiments, the pancreatico-duodenal vein of a normal dog was anastomosed to the jugular vein of a receiver dog made diabetic by alloxan; in this case, the injection of 2254 RP into the donor induced a decrease in blood glucose levels in the receiver.

In early 1946, Auguste Loubatières proposed that the hypoglycemic property of 2254 RP was due to its ability to stimulate insulin secretion through a direct action on pancreatic islets; he wrote in his thesis « À notre avis, le para-amino-benzène-sulfamido-isopropylthiodiazol (2254 RP) est donc un corps essentiellement insulino-sécréteur; son action s'exerce directement sur les îlots de Langerhans ». He also proposed to use such hypoglycemic sulfonamides in certain forms of diabetes « que l'on peut qualifier de fonctionnels et qui sont la conséquence d'une paresse des mécanismes insulino-sécréteurs ».

In 1992, Jean-Claude Henquin demonstrated that the sequence of events triggered by 2254 RP at the level of islet β -cells was similar to that induced by sulfonylureas of the first or second generation.

Thus, the 2254 RP, proposed by Auguste Loubatières in the treatment of certain forms of diabetes, was the first of oral hypoglycemic sulfonamides currently used in the treatment of type 2 diabetes mellitus.

La phrase de Louis Pasteur : « Dans les champs de l'observation, le hasard ne favorise que les esprits préparés » peut, parfaitement bien, être illustrée par l'histoire de la découverte des sulfamides hypoglycémiantes par Auguste Loubatières au début des années 1940.

Pour ce faire, nous remonterons beaucoup plus loin dans le temps, et nous partirons de la création de l'École de Diabétologie à Montpellier. En effet, c'est à partir de la fin du 19^{ème} siècle que le Professeur Emmanuel Hédon, alors professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Montpellier, consacra une grande partie de ses travaux à l'étude du diabète expérimental chez l'animal.

Le rôle capital du pancréas dans la pathogénie du diabète fut mis en évidence quand, d'une part, Von Mering et Minkowski (1889) en Allemagne et, d'autre part, Emmanuel Hédon (1890) en France démontrèrent que l'ablation totale du pancréas provoquait l'apparition d'un diabète chez le chien. Il était nécessaire que l'ablation de cette glande soit totale, l'ablation partielle n'étant pas suffisante pour entraîner un diabète sucré.

Une expérience qui fut réalisée en 1892, simultanément et indépendamment l'un de l'autre, par Emmanuel Hédon et Oskar Minkowski fut cependant nécessaire pour faire admettre la théorie de la sécrétion interne du pancréas : il s'agit de la greffe sous-cutanée du pancréas chez le chien. En effet, chez cet animal, la partie de la glande située à l'extrémité inférieure de la tête du pancréas, nommée « processus uncinatus », possède son propre apport vasculaire et n'est pas accolée au duodénum. Après vassection du reste du pancréas, ce « processus uncinatus » avec son pédicule nourricier abdominal était placé sous la peau de l'abdomen. L'animal ainsi opéré ne présentait pas de diabète ; par contre il suffisait d'effectuer l'extirpation de ce greffon sous-cutané pour déclencher immédiatement un diabète sucré typique.

Après ces observations, on considéra que la théorie de la sécrétion interne du pancréas était bien fondée, mais il fallut attendre 1921 pour que Banting et Best, ayant administré à un chien diabétique un extrait pancréatique, observent une baisse de l'hyperglycémie : l'aire de l'insulinothérapie était née.

C'est en novembre 1933 qu'Auguste Loubatières fit son entrée en tant que jeune étudiant dans le Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Montpellier, encore tout imprégné de l'ombre et de l'âme d'Emmanuel Hédon. Ce fut le fils d'Emmanuel Hédon, Louis Hédon, qui l'accueillit et l'initia à la recherche ainsi qu'à l'expérimentation dans le domaine du diabète sucré.

Auguste Loubatières s'intéressa particulièrement aux effets hypoglycémiantes que pouvait entraîner l'administration de doses élevées d'une préparation récente d'insuline à effet prolongé : l'insuline-protamine-zinc (IPZ). C'est ainsi qu'en 1938 et 1939 il montra en collaboration avec L. Hédon et G. Heymann que l'administration à des chiens dépancrétés de doses excessives de cette insuline entraînait des hypoglycémies prolongées pouvant provoquer des accidents nerveux graves de type convulsif, accompagnés de coma irréversible qui, dans la majorité des cas, entraînaient la mort. C'est, selon Auguste Loubatières, dans ces expériences qu'il faut trouver l'ori-

gine de la découverte du mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiantes.

En effet ce fut en 1942, à Montpellier, que fut reconnu et étudié le premier sulfamide ayant des propriétés hypoglycémiantes, le 2254 RP ou p-amino-benzène-sulfamido-isopropylthiodiazol.

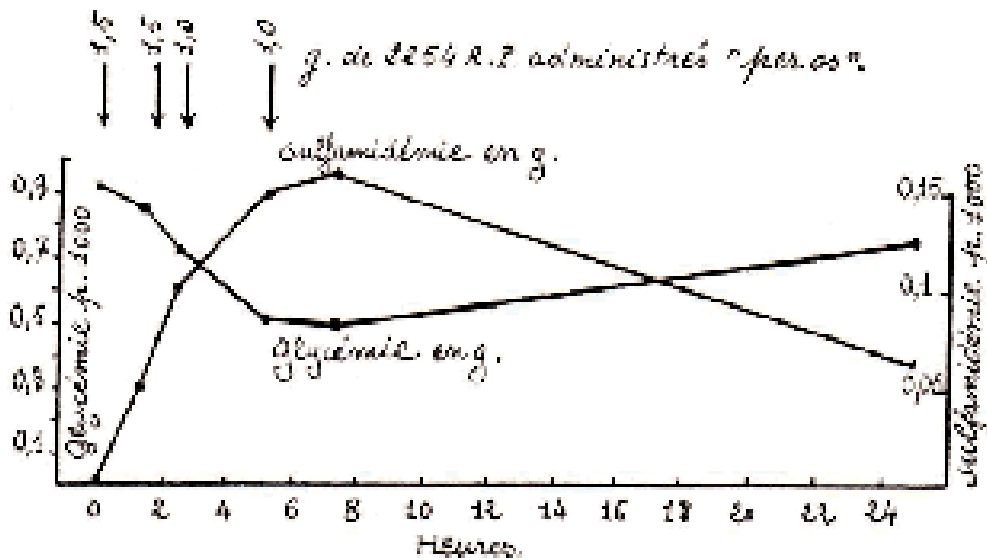
C'était la période de la Seconde Guerre mondiale et les sulfamides antibactériens, dont la découverte était récente, étaient largement utilisés dans le traitement des maladies infectieuses. Or il existait dans la région de Montpellier une grande pénurie alimentaire et nombreux étaient ceux qui consommaient des aliments ne présentant pas de garantie sanitaire, voire même contaminés par des bactéries pathogènes comme ce fut le cas pour certains coquillages, qui constituaient alors un apport alimentaire non négligeable. Les cas de fièvre typhoïde étaient fréquents et le Professeur Marcel Janbon, qui dirigeait la Clinique des Maladies Infectieuses, traita plusieurs patients par un nouveau sulfamide (appelé VK 57), qui avait été synthétisé en 1941 par Von Kennel et Kimmig, et qui fut ensuite référencé sous le nom de 2254 RP ; ce sulfamide recommandé par la Société Rhône-Poulenc avait *in vitro* un effet bactériostatique sur le bacille d'Eberth.

Au printemps 1942, une trentaine de patients furent traités avec des doses élevées de ce nouveau sulfamide. Au cours de ces traitements, l'attention de M. Janbon et de ses collaborateurs fut attirée par l'apparition, chez ces patients peu alimentés, de troubles particulièrement graves. Trois d'entre eux décédèrent sans que l'on ait pu déterminer la cause de leur décès. Quelques sujets présentèrent des convulsions et même un coma prolongé. Chez certains on put observer une chute importante de la glycémie, et dans quelques cas une amélioration du tableau clinique fut obtenue par administration de glucose.

Marcel Janbon, ayant connaissance des travaux sur l'hypoglycémie réalisés au laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine, vint exposer aux physiologistes les accidents thérapeutiques qu'il avait observés, et exprima le souhait qu'ils soient interprétés. Avec l'accord de Louis Hédon, alors directeur du laboratoire, l'étude expérimentale du produit fut confiée à Auguste Loubatières, alors chef des travaux ; celui-ci entreprit aussitôt une étude expérimentale chez l'animal et montra dès le 13 juin 1942, lors d'une expérience réalisée sur le chien normal éveillé, que l'administration orale répétée de 2254 RP provoquait une baisse progressive, profonde et durable de la glycémie. Le tracé des résultats figure dans la thèse qu'il soutint en 1946, pour l'obtention du grade de Docteur ès Sciences. Ce document est reproduit page suivante.

A. Loubatières poursuivit ses expériences et put observer que le degré d'hypoglycémie paraissait lié au taux de sulfamide dans le sang. Ces expériences, plusieurs fois répétées, établissaient définitivement l'effet hypoglycémiant du sulfamide ; cependant il restait à en établir le mécanisme d'action.

Considérant les courbes d'hypoglycémie obtenues sous l'effet du 2254 RP, A. Loubatières fut frappé par



GRAPHIQUE I. – Effets sur la glycémie de l'ingestion de doses répétées de 2254 RP (en tout 0,31 g/kg). Variations en fonction de la sulfamidémie (Exp. du 13 juin 1942).

leur allure qui lui rappelait celle des tracés obtenus lors de ses précédentes études avec l'insuline-protamine-zinc. Il eut l'intuition que le 2254 RP pouvait abaisser le taux de glucose sanguin en stimulant la sécrétion d'insuline grâce à un tropisme pour les îlots de Langerhans du pancréas. Encore fallait-il démontrer le bien-fondé de cette hypothèse particulièrement audacieuse puisque, à l'époque, ne l'oublions pas, personne ne pensait à un tel mécanisme et que les substances qui, administrées par voie orale, provoquaient une hypoglycémie étaient le plus souvent considérées comme ayant une action toxique hépatique.

Pour démontrer la validité de son hypothèse, il fallait que le taux de glucose sanguin ne soit pas modifié par le 2254 RP chez le chien dépancréaté et c'est le 30 juin 1942 qu'A. Loubatières apportait une preuve convaincante en faveur de son hypothèse en montrant que, chez le chien totalement privé de son pancréas, le 2254 RP ne modifiait pas la glycémie; ainsi pouvait-il conclure que le pancréas était indispensable pour que le 2254 RP exerce son effet. Au cours d'une contre-épreuve, il put montrer qu'il suffisait que soit laissée en place une quantité minime de tissu pancréatique sain près du tube digestif, pour que le sulfamide recouvre son efficacité sur la glycémie.

De 1942 à 1946, il réalisa une étude systématique des effets du 2254 RP et d'autres analogues structuraux chez l'animal et rechercha les mécanismes responsables de l'hypoglycémie.

De toute l'expérimentation qu'il effectua durant ces années, le ressort que, quelle que soit la voie d'administration, le 2254 RP abaisse le taux de glucose sanguin chez le chien normal. Cet effet sur la glycémie n'est pas modifié par la vagotomie, disparaît chez le chien ayant subi une ablation totale du pancréas mais persiste chez le chien ayant conservé une faible fraction de cet organe.

Le degré d'hypoglycémie dépend de la concentration de sulfamide dans le plasma; cependant de faibles doses, qui sont inefficaces quand elles sont administrées dans une veine périphérique, provoquent une chute nette de la glycémie lorsqu'elles sont injectées directement dans l'artère pancréatico-duodénale, montrant l'importance de la concentration du sulfamide au niveau pancréatique.

Par des expériences de circulation croisée, Auguste Loubatières apporta en 1946 une preuve supplémentaire de l'action stimulante du 2254 RP sur les cellules insulino-sécrétrices. En effet, lorsque la veine pancréatico-duodénale d'un chien normal donneur était anastomosée à la veine jugulaire d'un chien receveur rendu diabétique par l'alloxane, l'injection du sulfamide au donneur était suivie d'une diminution de l'hyperglycémie chez le receveur.

De l'ensemble de ses expériences, A. Loubatières conclut que la présence de tissu pancréatique était indispensable pour que l'action hypoglycémiant du 2254 RP se manifeste, que ce sulfamide agissait par un tropisme particulier sur les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas pour les stimuler et libérer une quantité accrue d'insuline endogène. Dans sa thèse de doctorat ès-Sciences, soutenue en 1946, il écrit : « À notre avis, le para-amino-benzène-sulfamido-isopropylthiodiazol (2254 RP) est donc un corps essentiellement insulino-sécréteur; son action s'exerce directement sur les îlots de Langerhans ».

Dès 1946, il écrivait également que le 2254 RP pouvait être utilisé dans le but de rechercher chez les diabétiques les capacités fonctionnelles insulino-sécrétrices du pancréas et qu'il était ainsi possible de procéder au diagnostic des états diabétiques résultant d'une paresse des processus insulino-sécréteurs; c'est le fondement de l'épreuve au tolbutamide qui fut largement utilisée par la suite. D'autre part, dès cette époque, il proposait d'utiliser les sulfamides insulino-sécréteurs dans certaines

formes de diabète « que l'on peut qualifier de fonctionnels et qui sont la conséquence d'une paresse des mécanismes insulino-sécréteurs ». Ainsi, de 1942 à 1946 A. Loubatières établit les bases fondamentales du mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiantes et de leur indication dans la thérapeutique du diabète.

En 1943 et 1944, plusieurs études de relation structure-activité furent entreprises simultanément : chez l'homme par M. Janbon *et al.* (1943), chez le chien par D. Bovet et P. Dubost (1944) et chez le lapin par A. Loubatières (1944). Les résultats suggèrent que le groupement sulfamide et la nature de la chaîne latérale étaient importants pour entraîner une action hypoglycémiant.

Malgré la proposition d'Auguste Loubatières, dès 1946, d'utiliser ces substances hypoglycémiantes dans certaines formes de diabète, peu d'essais cliniques furent effectués jusqu'en 1955. Toutefois ces premiers essais ont pu montrer que le 2254 RP diminuait la glycémie et la glycosurie des sujets ayant un diabète de type 2 (non insulino-dépendant), alors qualifié de bénin ou de l'adulte, alors qu'il ne pouvait être substitué à l'insuline utilisée chez les patients atteints d'un diabète de type 1 (insulino-dépendant).

Au printemps 1954 devaient se produire à Berlin des événements similaires à ceux qui s'étaient produits une décennie plus tôt à Montpellier. Franke et Fuchs observèrent qu'un nouveau sulfamide, le BZ 55 ou carbutamide, testé dans le traitement de diverses infections bactériennes, provoquait une hypoglycémie chez les sujets normaux. Ce composé ne différait du 2254 RP que par la substitution de la partie isopropylthiodiazol par un groupement n-butylurée.

Cependant, à la différence de ce qui s'était passé en France, l'investigation clinique fut rapidement développée en Allemagne. Peu après (1956), fut synthétisé un autre sulfamide qui était également une sulfonylurée, le tolbutamide, qui présentait des propriétés hypoglycémiantes mais non bactériostatiques ; son utilisation fut rapide et il fut le point de départ d'un grand nombre de composés appartenant au même groupe chimique.

Il fallut, cependant, attendre les années 1960 pour que soit démontré sans discussion, grâce au dosage radio-immunologique de l'insuline, que ces substances agissaient bien en stimulant la sécrétion d'insuline.

Depuis, de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des mécanismes cellulaires par lesquels les sulfonylurées influencent le fonctionnement de la cellule insulino-sécrétrice. Dans un article paru en octobre 1992 dans *Diabetologia*, Jean-Claude Henquin, a montré que le 2254 RP entraînait la même séquence d'événements cellulaires que les sulfonylurées de première ou deuxième génération. En agissant sur la membrane de la cellule β pancréatique ces substances provoquent la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants, ce qui diminue la sortie de potassium des cellules ; il s'ensuit une dépolarisation membranaire et une activation des canaux calciques voltage-dépendants ; l'influx secondaire d'ions Ca^{2+} dans la cellule entraîne une augmentation de la concentration du Ca^{2+} cytosolique libre, qui déclenche l'exocytose des granules d'insuline. Ainsi apportait-il la

preuve que la substance, dont les propriétés hypoglycémiantes avaient été observées en 1942 à Montpellier, était bien la première de la série des substances désignées sous le nom de sulfamides hypoglycémiantes et toujours largement utilisées dans le traitement du diabète de type 2.

La découverte des sulfamides hypoglycémiantes représente une étape importante dans l'étude du diabète. En effet elle a favorisé le développement de nombreuses recherches dans ce domaine et donné naissance à une importante classe thérapeutique. C. H. Best, l'un des auteurs de la découverte de l'insuline, a estimé que les travaux réalisés par A. Loubatières sur les sulfamides hypoglycémiantes constituaient une étape marquante, "a landmark", dans l'histoire du diabète.

Ainsi l'observation fortuite d'un accident thérapeutique qui attira l'attention du clinicien qu'était Marcel Janbon, offrit au physiologiste et pharmacologue qu'était Auguste Loubatières une occasion exceptionnelle que celui-ci ne manqua pas de saisir.

BIBLIOGRAPHIE

- Bovet D. & Dubost P., Activité hypoglycémiant des amino-benzène-sulfamido-alkyl-thiodiazols. Rapport entre la constitution et l'activité pharmacodynamique. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1944, 138, 764.
- Ehrhart G., Über neue peroral wirksame blutzuckersenkende Substanzen. *Naturwissenschaften*, 1956, 43, 93.
- Franke H. & Fuchs J., Ein neues antidiabetisches Prinzip. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 1955, 80, 1452-1455.
- Hédon E., Note sur la production du diabète sucré après l'extirpation du pancréas. *C. R. Soc. Biol.*, 25 oct., 1890. Extirpation du pancréas. Diabète sucré expérimental. *Arch. de Méd. Exp.*, 1^{er} janvier 1891.
- Hédon E., Greffe sous cutanée du pancréas. *Soc. Biol.*, 9 avril et 23 juillet 1892. *C. R. Acad. des Sc.*, 1^{er} août 1892. *Arch. Physiol.*, t. IV, oct. 1892, 617.
- Hédon L., Loubatières A. & Heymann G., Étude des effets de l'insuline-protamine-zinc chez le chien dépancréaté. *Ann. Endocr. (Paris)*, 1939, 1, 97.
- Henquin J. C., The fiftieth anniversary of hypoglycaemic sulphoamides. How did the mother compound work? *Diabetologia*, 1992, 35, 907-912.
- Janbon M., Lazerges P., Metropolitan J. H. & Schaap J. D., Action hypoglycémiant de certains composés sulfamidés. Rôle du radical propylthiodiazol. *Montpellier Méd.*, 1943, 132, 23-24.
- Loubatières A., Analyse du mécanisme de l'action hypoglycémiant du p-aminobenzène-sulfamido-isopropylthiodiazol (2254 RP). *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1944, 138, 766-767.
- Loubatières A., Relations entre la structure moléculaire et l'activité hypoglycémiant des aminobenzène-sulfamido-alkylthiodiazols. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1944, 138, 830-831.
- Loubatières A., Physiologie et pharmacodynamie de certains dérivés sulfamidés hypoglycémiant. Contribution à l'étude des substances synthétiques à tropisme endocrinien. *Thèse Doctorat ès-Sciences naturelles*. Université de Montpellier, 1946.
- Loubatières A., Étude physiologique et pharmacodynamique de certains dérivés sulfamidés hypoglycémiant. *Arch. Int. Physiol.*, 1946, 54, 174-177.
- Loubatières A. & Heymann G., Étude expérimentale des effets de l'insuline-protamine-zinc chez le chien dépancréaté. *Arch. Soc. Sci. Méd. et Biol. de Montpellier*, 1938, 8, 393.

Minkowski O., Weitere Mittheilungen über den Diab. Mell. nach Extirpation des Pankreas. *Berl. Kl. Wochensch.* 1892 N° 5; *Verhandl. des XI Congresses f. innere Medizin Leipzig*, avril 1892.

Von Mering & Minkowski., Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation. *Zentralbl. f. Klin. Medizin.*, 1889, n° 23. *Archiv. f. Exper. Path. u. Pharmak.*, 1889, XXVI.

Annexe bibliographique : Revues générales de A. Loubatières portant sur la découverte de l'effet et du mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémians :

Loubatières A., Orientation pharmacologique des recherches modernes sur le diabète sucré. In: Hazard : *Actualités pharmacologiques* (5^{ème} série). Masson Ed., Paris, 1952, 186.

Loubatières A., L'utilisation de certaines substances sulfamidées

dans le traitement du diabète sucré expérimental. I. Recherches personnelles (1942-1946). II. Recherches personnelles (1946-1955). Confirmations expérimentales et récents développements, *Presse méd.*, 1955, 63, 1701 et 1728.

Loubatières A., The hypoglycemic sulfonamides: history and development of the problem from 1942 to 1955. *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 1957, 71, 4.

Loubatières A., The mechanism of action of the hypoglycemic sulfonamides: a concept based on investigations in animals and in human beings. *Diabetes*, 1957, 6, 408.

Loubatières A., Le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémians et de leurs dérivés. *Ann. Endocrinol.*, 1957, 18, 161-170.

Loubatières A., The discovery of hypoglycemic sulfonamides and particularly of their action mechanisms. *Acta Diabetologia Latina*, 1969, 6 (Suppl. 1), 19-56.