

## LES ABREVIATIONS

CQ : Chloroquine

AQ : amodiaquine

Plm : plasmepsine

CMI : concentration minimale inhibitrice

OMS : organisation mondiale de la santé

CI : Concentration Inhibitrice

DHFR : Dihydrofolate Reductase

DHPS : dihydrofolate synthase

Pf : *P. falciparum*, *Plasmodium falciparum*

PfDHFR : La dihydrofolate reductase de *Plasmodium falciparum*

IS : Indice de sélectivité

CQ : la chloroquine

IP: Intra péritonéale

PO : per os

VO : Voie orale

AIBH : Activité d'inhibition de la b-hématine

Sc : sous cutané

PF6 : hexafluorophosphate

HR : humidité relative

ICH : International Conference on Harmonisation

TGA : L'analyse thermogravimétrique

HGF : facteur de croissance des hépatocytes

ISIF : facteur induisant la susceptibilité à l'infection

FP : ferriprotoporphyrine IX

FTase : farnésyl transférase

GGTase-I: géranylgeranyl transférase-I

PC: phosphatidylcholine

PI : phospholipide

SOD : superoxide dismutase

TS : thymidylate synthase

RNases : ribonucleotides réductases

Pfcr1 : transporteurs de résistance à la chloroquine

NVP , NPP: nouvelles voies de perméabilité

DHA : Dihydroartémisinine

## LES FIGURES

Figure 1 : répartition du paludisme dans le monde

Figure 2 : Distribution mondiale des Anophèles.

Figure 3 : Le cycle biologique des anophèles : <http://www.ird.fr/la-mediatheque/expositions/expositions-disponibles-en-pret/vaincre-le-paludisme-un-defi-pour-la-recherche>

Figure 4 : Le cycle évolutif du plasmodium

Figure 5 : quelques antipaludiques

Figure 6 : La quinine et la quinacrine

Figure 7 : l'artémisinine

Figure 8 : La DHA, l'artésunate, l'artémether

Figure 9 : la chloroquine

Figure 10 : L'amodiaquine

Figure 11 : La pyronaridine et le noyau acridine

Figure 12 : l'halofantrine, la méfloquine, la luméfántrine

Figure 13 : la pipéraquine

Figure 14 : les antimétaboliques

Figure 15 : La primaquine et la tafénoquine

Figure 16 : La chloroguanidine

Figure 17 : quelques antibiotiques (tétracyclines, les macrolides, lincomycines et chloramphénicol) qui inhibent la biosynthèse des protéines

Figure 18 : la ciprofloxacine

Figure 19 : la rifampicine

Figure 20 : l'azythromycine

Figure 21 : Clindamycine et pirlimycine

Figure 22 : le chloramphenicol

Figure 23 : quelques antibiotiques thiazolés

Figure 24 : Divers antibiotiques à activité antipaludique

Figure 25: mécanisme de résistance à la chloroquine

Figure 26. Mécanisme de résistance aux arylaminoalcools

Figure 27: mécanisme de résistance aux artémisinines

Figure 28: Modification de la chloroquine pour vaincre la résistance

Figure 29: Oxydation des aminoquinoléines

Figure 30: Structure de base des analogues à chaîne latérale raccourcie

Figure 31: AQ 13 et sa désalkylation oxydative

Figure 32: F2Bu

Figure 33: Isoquine, terbutylisoquine, FAQ 4

Figure 34 : WR268668

Figure 35: autres composés biologiquement actifs bis-, tris-, tetraquinolines.

Figure 36: bisquinoléines bisamides

Figure 37: Structure du composé D

Figure 38: Structure des analogues quinolizidine de la chloroquine et de la quinacrine

Figure 39: Structures des dérivés pyrrolizidinylalkyl des 4-amino-7-chloroquinoléine

Figure 40: la naphtoquine

Figure 41 : Les agents d'inversion de la résistance à la chloroquine.

Figure 42: Ferroquine

Figure 43: Structure du composé 28

Figure 44 : Structure des composés 34 et 35

Figure 45: les analogues de l'amodiaquine

Figure 46: structure générale des composés 1-6

Figure 47: quelques 8-aminoquinoléines

Figure 48: Bulaquine et terbutylprimaquine

Figure 49: NCP1161B

Figure 50: quelques antifolates

Figure 51: quelques inhibiteurs de la DHFR

Figure 52: triméthoprim et composé 65

Figure 53: quelques composés structurellement différents

Figure 54: methotrexate et précurseurs

Figure 55: Le probénecide

Figure 56: quelques inhibiteurs de la TS

Figure 57: cryptolepine et dibromocryptolepine

Figure 58: Neocryptolepine et bromoneocryptolepine

Figure 59: Dioncophylline c

Figure 60 : composés neothalibrine, temuconine, malekulatine

Figure 61 : axisonitrile-, diisocyanoadociane, 7-isocyanoamphilecta11, 7isocyanoisothiocyanatoamphilecta-11 (20)-ène

Figure 62 : rufigalol et exifone

Figure 63 : l'hypothèse xanthone

Figure 64 : Autres xanthes

Figure 65 : optimisation du bis hydrazide d'acyle pour l'obtention des chalcones.

Figure 66 : le composé 119

Figure 67 : les composés 22 et 23

Figure 68 : Composés 26 et 27

Figure 69 : composé 28 et 29

Figure 70 : Quelques composés

Figure 71 : Composés 32-35

Figure 72 : Les inhibiteurs des plasmepsines : 36 et 37

Figure 73 : Les exigences structurales de l'inhibiteur à base hydroxyéthylamine des plasmepsines I et II; (B) la structure générale des inhibiteurs des plasmepsines I et II .

Figure 74 : Inhibiteurs des plasmepsines I et II 104 et 105

Figure 75 : Inhibiteurs de la Plasmepsine I et II 106, 107, 108, 109

Figure 76 : KNI 727

Figure 77 : La bestatine et le composé 40

Figure 78 : La distamycine et le dérivé 42

Figure 79 : Représentation du flux d'électrons au travers du complexe cytochrome bc1 de la chaîne respiratoire du parasite

Figure 80 : la buparvaquone

Figure 81 : la 2-amino-3-chloro-1,4-naphtoquinone

Figure 82 : Les composés 47, 48, 49

Figure 83 : Naphthoquinones à activités antiparasitaires : 45,46, 83-88

Figure 84 : clopidol et GW844520

Figure 85 : première et deuxième génération des composés dicationiques : 58, 59, 129, 130, 131

Figure 86 : Troisième génération des composés dicationiques et leurs prodrogues.

Figure 87 : pentamidine et stilbamidine

Figure 88 : DB289

Figure 89 : Les diamidines et les composés dicationiques entrent via les NVP

Figure 90 : Autres diamidines

Figure 91 : La pentamidine

Figure 92 : La chlorpromazine

Figure 93 : Composé 63

Figure 94 : composé 113

Figure 95 : les chélateurs de fer

Figure 96 : quelques dérivés de l'urée qui présentent une activité antipaludique.

Figure 97 : Structure de WR99210

Figure 98 : Structure du WR99210 et sa conformation (jaune) lors des études de docking. La conformation de la structure cristalline de WR99210 (bleu) dans la PfDHFR.

Figure 99 : Conformation après docking de 13i (violet), 14j (vert clair), 15a (gris), 16e (bleu clair) dans la PfDHFR.

Figure 100 : Conformation de 17h (magenta), 17j (marron) dans la PfDHFR.

## TABLEAUX

Tableau I : caractéristiques résumées de neuf TDR du paludisme :

<http://medecinetropicale.free.fr/cours/testrapide.pdf>

Tableau II : Activité antipaludique *in vitro*, activité d'inhibition de la b-hématine (test BHIA), et la cytotoxicité cellulaire de MG2 et MG3.

Tableau III : dose unique *in vivo* de MG2 et MG3 sur un model murin de *P. berghei* : Antimalarial activity of novel pyrrolizidinyl derivatives of 4-aminoquinoline ; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 18 (2008) 3737-3740

Tableau IV : 4 jours d'administrations *in vivo* de MG2 et MG3 dans un modèle murin de *P. berghei* ; Antimalarial activity of novel pyrrolizidinyl derivatives of 4-aminoquinoline ; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 18 (2008) 3737-3740

Tableau V : toxicité et variation du poids corporel des souris après une administration ip de MG 3 ; Antimalarial activity of novel pyrrolizidinyl derivatives of 4-aminoquinoline ; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 18 (2008) 3737-3740

Tableau VI : données biologiques et biophysiques de certains composés : Design and synthesis of new antimalarial agents from 4-aminoquinoline ; Bioorganic & Medicinal Chemistry 13 (2005) 2157-2165.

Tableau VII : Activité antipaludique *in vivo* contre la souche CQ-résistante N-67 ; Design and synthesis of new antimalarial agents from 4-aminoquinoline ; Bioorganic & Medicinal Chemistry 13 (2005) 2157-2165.

Tableau VIII : l'activité antipaludique sur trois souches de *P. falciparum in vitro*, cytotoxicité des composés 1 à 6 et l'indice de sélectivité contre la souche K1 : Synthesis and antimalarial activity of new analogues of amodiaquine ; European Journal of Medicinal Chemistry 43 (2008) 252e260.

Tableau IX : Inhibition de la polymérisation hème : Synthesis and antimalarial activity of new analogues of amodiaquine ; European Journal of Medicinal Chemistry 43 (2008) 252e260.

Tableau X : activité antipaludique du composé 5 sur *P. berghei* chez la souris : Synthesis and antimalarial activity of new analogues of amodiaquine ; European Journal of Medicinal Chemistry 43 (2008) 252e260.

Tableau XI : Activité antipaludique de triazènes contre *P. berghei* NK-65 chez des souris infectées par des parasites du sang, traités par voie sous-cutanée : Antimalarial activity of 1-aryl-3,3-dialkyltriazenes ; Bioorganic & Medicinal Chemistry 15 (2007) 2856-2859.

## SCHEMAS

Schéma 1: Synthèse du composé 2. Réactifs: (a)  $\text{HNEt}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  puis  $\text{NaHB}(\text{OAc})_3$ , (b)  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , (c)  $\text{Fe}$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{EtOH}$ , (d) 4,7-dichloroquinoléine,  $\text{EtOH}$ .

Schéma 2: Synthèse du composé 3. Réactifs: (a)  $\text{HNEt}_2$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{ACN}$ , la température ambiante, (b)  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{HCl}$  1 M,  $\text{THF}$ , reflux, (c) de 4,7-dichloroquinoléine,  $\text{HCl}$  1 M,  $\text{ACN}$ , reflux.

Schéma 3: Synthèse des composés 4 et 5. Réactifs: (a) 4,7-dichloroquinoléine, N-méthylmorpholine,  $\text{EtOH}/\text{CHCl}_3$ , 55:5 [23], (b)  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (c)  $\text{HNEt}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  puis  $\text{NaHB}(\text{OAc})_3$  (d)  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $0^\circ\text{C}$  puis  $50^\circ\text{C}$ .

Schéma 4: Synthèse du composé 6. Réactifs: (a) N-(2-chloroéthyl) pipéridine, le n-pentanol, le reflux, (b)  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , (c)  $\text{NaHB}(\text{OAc})_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .



# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	4
<b>PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LE PALUDISME</b> .....	8
1. DEFINITION .....	9
2. EPIDEMIOLOGIE.....	9
2.1 Agent pathogène .....	11
2.2 Le vecteur .....	12
2.3 Réservoir de parasite.....	13
2.4 Mode de contamination.....	13
2.5 Mise en évidence.....	14
2.6 Cycle évolutif .....	14
2.6.1 Cycle du parasite chez l'anophèle .....	14
2.6.2 Cycle du parasite chez l'homme.....	15
3. SIGNES CLINIQUES .....	17
3.1 Le paludisme d'infestation ou le paludisme asymptomatique .....	17
3.2 Le paludisme maladie .....	17
3.2.1 Accès palustre simple .....	17
3.2.2 L'accès palustre grave (15) .....	18
3.2.3 Autres formes.....	18
4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME.....	19
4.1 La goutte épaisse (G.E) .....	19
4.2 Le frottis sanguin (FS) .....	20
4.3 La détection des antigènes du paludisme par immunochromatographie : les tests de diagnostic rapide (TDR) (19) .....	20
4.4 Autres examens complémentaires.....	21
5. LE TRAITEMENT .....	22
5.1 Historique des antipaludiques.....	22
5.2 Les schizonticides érythrocytaires.....	24
5.2.1 Schizonticides naturels .....	24
5.2.2 Les schizonticides de synthèse .....	25

5.2.3 Les Associations schizonticides .....	28
5.3 Les gamétocytocides hépatocytaires: les 8-aminoquinoléines.....	28
5.4 Les sporonticides : .....	29
5.5 Les antibiotiques .....	29
5.5.1 Les quinolones.....	30
5.5.2 La rifampicine .....	30
5.5.3 Les inhibiteurs de la biosynthèse des protéines .....	31
5.5.4 Autres antibiotiques .....	33
5.6 Schémas de traitement de l'OMS en zone tropicale (47) .....	33
5.6.1 Traitement des accès simples .....	33
5.6.2 Traitement du paludisme grave .....	34
5.7 Les vaccins .....	34
6 . CHIMIORESISTANCE.....	35

## **DEUXIEME PARTIE : LES NOUVELLES CIBLES DU PALUDISME.....38**

1. LES ANALOGUES DES 4-AMINOQUINOLEINES.....	42
1.2 Les analogues à chaînes latérales raccourcies .....	43
1.3 Les analogues à groupements aromatiques.....	44
1.3.1 l'isoquine et ses dérivés .....	44
1.3.2 Les dimères des 4-amino-quinoléines et les tris-et Tetraquinoléines.....	45
1.3.3 La tebuquine.....	47
1.3.4 Les azacrine.....	48
1.3.5 Activité antipaludique des dérivés pyrrolizidinyl des 4-aminoquinoléines.....	48
1.3.6 Les associations .....	51
1.4 Les inverseurs de résistance à la chloroquine : les agents chimiosensibilisants.....	52
1.4.1 De la famille des phenothazines.....	52
1.4.2 De la famille des anthracenes .....	53
1.4.3 De la famille des pyrrolidines .....	53
1.4.4 De la famille des ferroquines.....	54
1.5 Autres analogues modifiés .....	54
1.5.1 Les analogues des amino4quinoléines de la famille des guanidines (109).....	55
1.5.2 Les analogues de l'amodiaquine .....	57

2. LES ANALOGUES 8-AMINOQUINOLEINES.....	60
3. LES ANALOGUES ANTIFOLATES : CONTOURNEMENT DE LA RESISTANCE AUX FOLATES.....	62
3.1. Chlorproguanil / dapsone (Lapdap /) .....	62
3.2 Dihydrotriazines basés sur la structure du cycloguanil : Les inhibiteurs de la DHFR .....	63
3.2 .1 l'analogue du cycloguanil WR99210 et ses dérivés.....	63
3.2 .2 Autres dihydrotriazines .....	63
3.3 Pyrimidines basé sur la structure de la pyriméthamine.....	63
3.4 Triméthoprim et ses dérivés.....	64
3.5 Les analogues diaminopyrimidines .....	64
3.6 Composés structurellement différents .....	65
3.7 Précurseurs méthotrexate.....	65
3.8 L'inhibition de l'absorption des folates : inverseurs de résistance .....	66
3.9 Inhibiteurs de la thymidylate synthase .....	66
4. LES COMPOSES OBTENUS A PARTIR DES PLANTES .....	67
4.1. Alcaloïdes.....	67
4.2. Terpenes .....	69
4.3. Xanthones.....	69
4.4 Chalcones .....	73
5. LES COMPOSES PEPTIDIQUES ET PEPTIDOMIMETIQUES ANTIPALUDIQUES .....	76
5.1 Inhibiteurs peptidomimétiques de la farnésyl transférase plasmodiale .....	76
5.2 Les inhibiteurs de protéase .....	78
5.2.1 Les inhibiteurs de la cystéine protéase (falcipaine) plasmodiale.....	78
5.2.2 Les inhibiteurs de la protéase aspartique (plasmepsine).....	79
5.2.3 Les inhibiteurs de la kinase dependante des cyclines : la pfmrk.....	83
5.2.4 Autres inhibiteurs de protéases .....	83
5.3 Les dermaseptines.....	84
5.4 Oligopeptides .....	84
6. LES NAPHTHOQUINONES.....	85
7. COMPOSES D'AMMONIUM QUATERNAIRE : SELS MONO ET BISQUATERNAIRES .....	88
8. LES DIAMIDINES.....	90
9. PHENOTHIAZINES .....	92
10 LES INHIBITEURS DE L'ADOHCY HYDROLASE.....	93
11. LES INHIBITEURS DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE (AC) .....	93
12. LES CHELATEURS DE FER .....	94

13. LES 1-ARYL-3,3-DIALKYLTRIAZENES .....	95
13.1 Synthèse des 1-aryl-3,3-dialkyltriazène.....	95
13.2 Résultats .....	96
14. LES 2-METHYL-6-UREIDO-4-QUINOLINAMIDES.....	97
14.1 La synthèse .....	97
14.2 Les études in vivo et études de docking.....	97
15. LE HGF ET SON RECEPTEUR C-MET, CIBLES POSSIBLES DE LA PROPHYLAXIE ANTIPALUDIQUE.....	99
CONCLUSION.....	102
REFERENCES.....	107

# INTRODUCTION

Maladie complexe, parasitaire transmise par des moustiques, le paludisme est la cinquième maladie infectieuse en termes de mortalité dans le monde après le sida, les maladies respiratoires aiguës, les maladies diarrhéiques et la tuberculose, et constitue aujourd'hui un véritable problème majeur de santé publique.

Actuellement, environ 40% de la population mondiale, habitants des pays les plus pauvres du monde pour la plupart, sont exposés au paludisme. La maladie était jadis plus étendue mais elle a été éliminée dans de nombreux pays tempérés au milieu du XX<sup>e</sup> siècle. Le paludisme tue plus de 650 000 personnes, en grande majorité en Afrique, mais aussi en Amérique latine, au Moyen-Orient, en Asie et en Océanie. Le Brésil réunit à présent près de la moitié des 2,7 millions de cas de paludisme en Amérique chaque année (1). Selon les estimations, 216 millions de cas de paludisme ont été recensés en 2010 dans les 106 pays et territoires d'endémie. On estime que 81% de ces cas et 91% des décès sont survenus dans la région africaine de l'OMS dont 86% des victimes étaient des enfants de moins de cinq ans (2). Le paludisme tue un enfant africain toutes les 30 secondes. De nombreux enfants qui survivent à un accès de paludisme grave, peuvent présenter des troubles de l'apprentissage ou une atteinte cérébrale. La femme enceinte et l'enfant à naître sont aussi particulièrement vulnérables face au paludisme, cause majeure de mortalité périnatale, de faible poids de naissance et d'anémie maternelle.

Dans de nombreuses régions du monde, les parasites sont devenus résistants à plusieurs médicaments antipaludéens.

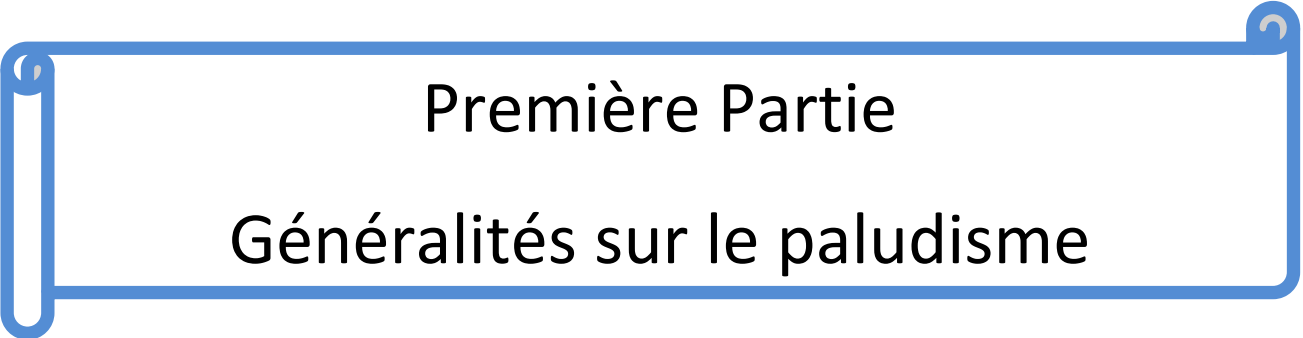
Les principales mesures de lutte contre le paludisme prévoient:

- un traitement rapide et efficace par des associations médicamenteuses comportant de l'artémisinine,
- l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticide et,
- la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations pour lutter contre les moustiques vecteurs.

Selon le rapport de l'OMS, une résistance aux artémisinines est déjà apparue dans certaines zones à la frontière entre le Cambodge et la Thaïlande. Bien que les combinaisons à base de dérivés d'artémisinines (ACT) soient actuellement efficaces à plus de 90% au niveau mondial, il est essentiel d'agir vite. Si ces traitements cessent d'être efficaces, de nombreux pays n'auront aucune solution de rechange. C'est à cette problématique que dans notre travail, nous allons

nous efforcer à apporter des propositions de solutions en abordant dans une première partie les données actuelles sur le paludisme. Ensuite, nous aborderons dans une seconde partie les possibilités actuelles en cours d'évaluations des nouvelles cibles du paludisme.

Rapport-Gratuit.com



# Première Partie

## Généralités sur le paludisme



## 1. DEFINITION

Le paludisme, également appelé malaria, est l'une des plus fréquentes et dangereuses maladies parasitaires tropicales. L'agent pathogène de la maladie est transmis par la piqure du moustique : l'anophèle femelle. La transmission de cette maladie survient principalement entre le crépuscule et l'aube, en raison des habitudes d'alimentation nocturne du moustique. Il existe quatre agents pathogènes du paludisme, provoquant quatre formes différentes de maladie, le paludisme à *plasmodium falciparum* étant la forme la plus dangereuse.

Si des épisodes cycliques de fièvre ou des symptômes grippaux graves surviennent après un voyage tropical ou subtropical, il faut suspecter le paludisme, jusqu'à preuve du contraire (3).

## 2. EPIDEMIOLOGIE

C'est en Afrique intertropicale où vivent 400 millions de personnes que la situation est à la fois la plus préoccupante et la plus difficile à préciser, et la mortalité y est également plus élevée. En dehors de l'Afrique, 70 % des cas mondiaux sont majoritairement observés dans des pays tels que : l'Inde, le Brésil, l'Afghanistan, le Viêt-Nam, la Colombie, les îles Salomon (2).

Un élément est commun à toutes les régions du monde : les formes graves et compliquées à *Plasmodium falciparum* sont de plus en plus fréquentes, parallèlement à l'augmentation des chimiorésistances, à l'apparition de formes cliniques déroutantes, au retard diagnostique et thérapeutique qui en résulte.

Le nombre annuel de cas importés dans les pays industrialisés serait stable en France, même si à côté la France enregistre le plus grand nombre de cas du fait de son passé commun avec l'Afrique (95% des cas importés), et en augmentation dans des pays comme l'Italie et l'Allemagne (4). Il est estimé à près de 10 000 cas chaque année et le chiffre réel pourrait atteindre 30 000 en raison d'une sous notification des cas dans les pays majoritairement touchés.

L'altitude et la température ambiante sont des facteurs importants dans l'impaludation ou non dans une zone.

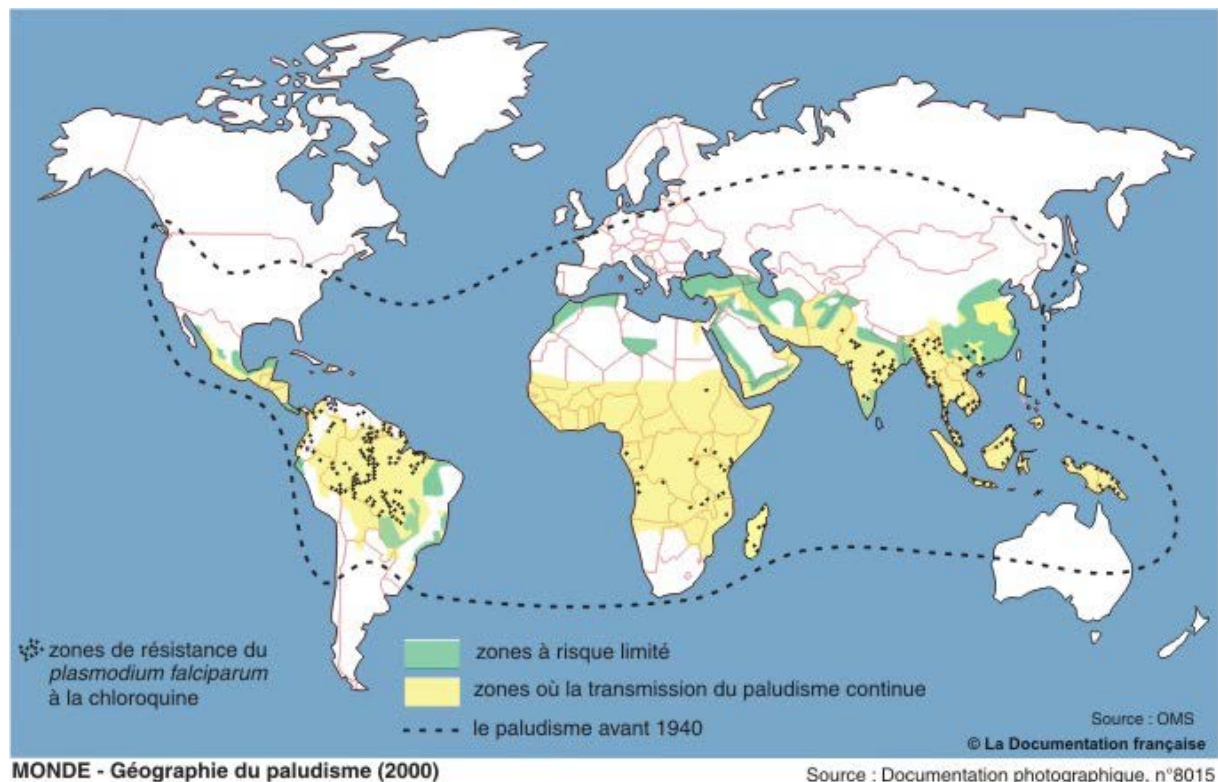


Figure 1 : répartition du paludisme dans le monde

Parmi les organismes engagés dans la lutte antipaludique, RBM (Roll Back Malaria) a su tirer la sonnette d'alarme au sujet de l'accroissement constant du nombre de décès dus au paludisme. RBM grâce à ses centaines de partenaires institutionnels venant des pays d'endémie palustre, des organisations multilatérales et des bailleurs de fonds, et d'autres secteurs, a vu son financement pour la lutte antipaludique multiplié par dix pour atteindre 1,5 milliard en 2010.

Pour libérer le monde du paludisme elle a définie ses objectifs de 2011 selon le rapport de COLLECTION PROGRÈS ET IMPACT, numéro 7 de septembre 2011 comme suit :

- « Réduire pratiquement à zéro le nombre de décès dus au paludisme dans le monde d'ici fin 2015.
- Réduire de 75 % (par rapport à l'an 2000) le nombre de cas de paludisme dans le monde d'ici fin 2015.
- Éliminer le paludisme d'ici 2015 dans dix pays supplémentaires (par rapport à 2008) et dans la région Europe de l'OMS. »

Avec comme cible : « atteindre l'accès et l'utilisation universels des mesures de prévention ; maintenir l'accès et l'utilisation universels des mesures de prévention ;

accélérer le développement des systèmes de surveillance ; atteindre la couverture universelle en matière de prise en charge des cas dans le secteur public ; atteindre la couverture universelle en matière de prise en charge des cas dans le secteur privé ou d'orientation appropriée vers des services spécialisés ; atteindre la couverture universelle en matière de prise en charge communautaire des cas de paludisme. »

Le rapport annuel de Roll Back Malaria du 12 septembre 2011 révèle par ailleurs que la mortalité a baissé au niveau mondial de 25% entre 2000 et 2010 et de 33% dans la Région africaine. Le nombre de décès en 2010 a été réévalué à 1 238 000, dont 1 133 000 en Afrique subsaharienne, 86% étant des enfants de moins de 5 ans.

L'exemple du Sénégal est démonstratif : les principales stratégies de lutte contre le paludisme au Sénégal ont été :

- l'introduction des ACT en 2006 et leur gratuité en 2010,
- l'introduction des TDR en 2007,
- la prise en charge à domicile des cas de paludisme en 2008,
- la large couverture en MILDA et la lutte antivectorielle par les aspersions intra-domiciliaires,
- le TPI gratuit par la sulfadoxine-pyriméthamine chez les femmes enceintes.

En 2009, le taux de morbidité est à 3,07% des cas confirmés, la mortalité à 4,41% (versus 29,72% en 2005). Le plan stratégique de lutte contre le paludisme établit (2011-2015) prévoit d'aboutir à la pré élimination du paludisme au Sénégal.

Dans une publication soumise pour publication (Trape et al. Reaching Millenium Development Goal 4 - Sénégal) et trois communications en 2009 à la conférence MIM, il est montré que la morbidité, la mortalité et la prévalence du paludisme se sont effondrées au Sénégal depuis l'introduction des combinaisons thérapeutiques. L'analyse des données de la zone de Niakhar a également montré que cet effondrement a été accompagné d'une chute de la mortalité infanto-juvénile (198 pour mille en 2000, 55 pour mille en 2008) bien plus importante que celle de la seule mortalité attribuable au paludisme (15,0 pour mille en moyenne durant la période 1995-1999, 2,2 pour mille en 2008), ceci en l'absence de toute autre intervention spécifique, suggérant une responsabilité indirecte majeure du paludisme dans un grand nombre de décès chez l'enfant (5).

## 2.1 Agent pathogène

Quatre espèces plasmodiales sont responsables de l'infection chez l'homme. Ces espèces sont *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et

**Plasmodium falciparum** qui est l'espèce la plus répandue et la plus mortelle (6). L'agent pathogène du paludisme est un genre de protozoaires dont les 4 espèces sont issues de la classification suivante :

- Phylum des *Apicomplexa*
- Classe des *Sporozoa*
- Sous-classe des *Coccidia*
- Ordre des *Eucoccidiida*
- Sous-ordre des *Haemosporina*
- Famille des *Plasmodiidae*
- Genre *Plasmodium*

Dans le genre **Plasmodium** nous avons les quatre espèces pathogènes :

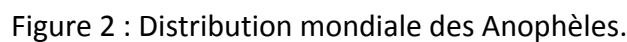
- **Plasmodium falciparum** : qui est l'espèce la plus observée et qui est l'objet de notre étude. C'est aussi l'espèce qui tue le plus et qui pose d'énormes problèmes de résistance. Cette espèce, responsable de la fièvre tierce maligne est rencontrée dans l'ensemble des régions intertropicales.
- **Plasmodium vivax** : c'est l'espèce qui sévit dans le bassin méditerranéen. Elle est responsable des formes bénignes du paludisme (fièvres tierces bénignes) et n'entraîne que rarement des complications.
- **Plasmodium malariae** : cette espèce est beaucoup plus rare que **P.vivax**, mais cosmopolite et se rencontrant principalement en Afrique tropicale. Elle est responsable de la fièvre quarte.
- **Plasmodium ovale** : est l'espèce la plus rare ; on la retrouve en Afrique centrale et occidentale. Elle provoque des fièvres bénignes du paludisme (fièvres tierces bénignes).

La morphologie des plasmodies varie selon plusieurs critères dont l'hôte (homme ou anophèle) et le stade d'évolution du parasite dans le corps humain.

## 2.2 Le vecteur

Le paludisme est transmis par le moustique, plus précisément l'anophèle femelle, diptère, nématocère, de la famille des Culicidae et de la sous famille des Anophelinae (7). Seules les femelles sont hématophages. Les mâles dont les seules activités sont la nutrition et la reproduction de l'espèce, ne transmettent pas la maladie. La reproduction des moustiques exige du sang, de l'eau et de la chaleur. La femelle fécondée ne peut pondre qu'après un repas sanguin, pris sur l'homme ou sur l'animal. La chaleur et l'humidité conditionnent également l'activité génitale des femelles : en zone tempérée, les anophèles ne pondent qu'à la belle saison ; en zone équatoriale leur activité est permanente ; en zone tropicale la

Les moustiques, ainsi que d'autres insectes piqueurs, sont capables de détecter toutes émanations de substances attractives comme le CO<sub>2</sub>, les vapeurs d'alcools et ce sur de longues distances. Il existe plus de 400 espèces d'anophèles dont 60 sont des vecteurs du paludisme. Certaines, sont zoophiles mais les espèces les plus redoutables sont anthropophiles.



Il est constitué par l'homme malade ou infecté ainsi que l'anophèle femelle.

Le paludisme est transmis par la pique de l'anophèle femelle. Les parasites peuvent aussi être transmis par voie placentaire de la mère au fœtus (paludisme congénital), par partage d'une seringue souillée ou par transfusion sanguine, bien que ce dernier moyen de transmission soit assez rare. Il n'y a pas d'immunité



naturelle, tous les hommes sont réceptifs quels que soit l'âge le sexe ou la race.

## 2.5 Mise en évidence

Les circonstances de découverte du paludisme sont généralement, lorsque, le patient vient consulter le médecin principalement pour de la fièvre, ou des céphalées, douleurs abdominales, vomissements répétés et courbatures.

## 2.6 Cycle évolutif

Le cycle de développement du Plasmodium est un cycle complexe comprenant un hôte intermédiaire (un vertébré, l'homme dans le cas présent) où il se trouve sous une forme haploïde et se multiplie de manière asexuée et un hôte définitif, l'anophèle femelle, où a lieu la reproduction sexuée.

Le Plasmodium se présente sous la forme d'un protozoaire très petit de 1 à 2  $\mu\text{m}$  selon les formes. La coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire et contenant un noyau rouge et un pigment brun-doré ou noir (hémotoïne) (9).

### 2.6.1 Cycle du parasite chez l'anophèle

L'anophèle femelle vecteur et hôte définitif, réalise un cycle sporogonique sexué ou extrinsèque du moment où elle est infestée à celui où elle est infestante (10). Lors d'un repas sanguin, les gamétocytes ingérés se différencient puis s'unissent pour former le zygote mobile ou ookinète. Ce dernier devient un oocyste sphérique après franchissement de la paroi stomacale et va se diviser plusieurs fois formant ainsi les sporozoïtes (11) dont la maturation est fonction de la température extérieure : plus importante vers 24-25°C (12 jours en moyenne), plus lente si on s'éloigne de cette température (23 jours à 20 °C) et nulle en dessous de 18°C ou au dessus de 35°C. L'oocyste finit par se rompre pour relâcher les sporozoïtes qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique d'où ils seront libérés lors d'un nouveau repas de sang (10, 11).

## La vie de dame anophèle

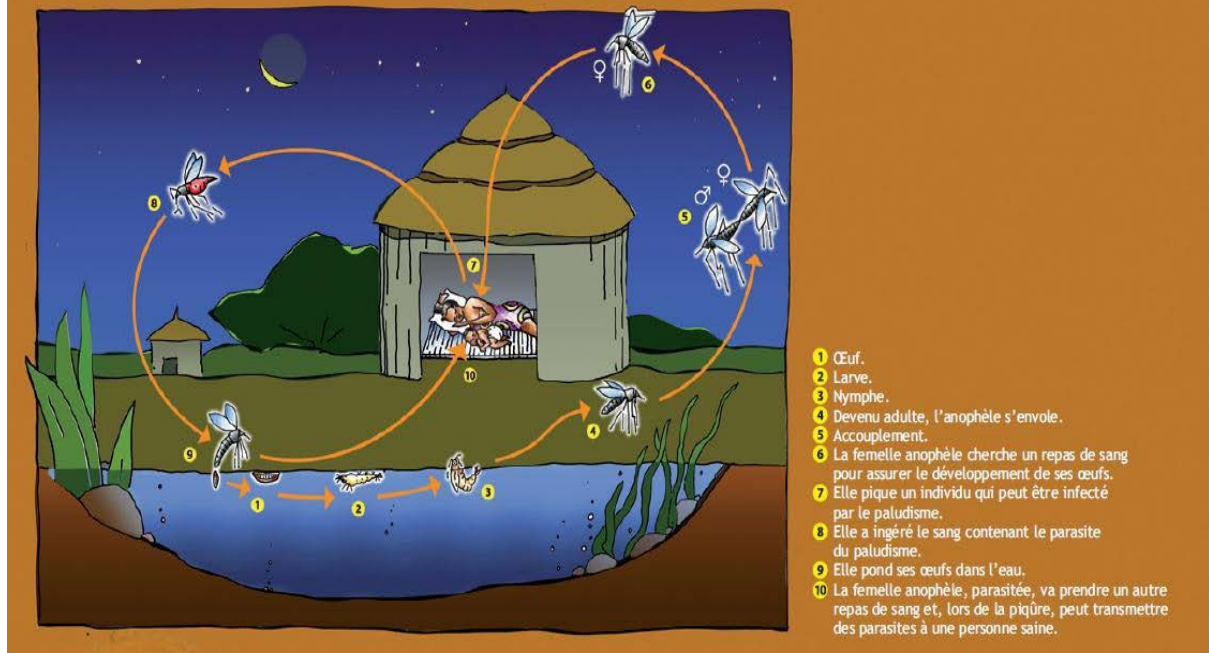


Figure 3 : Le cycle biologique des anophèles

### 2.6.2 Cycle du parasite chez l'homme

#### 2.6.2.1 Phase hépatique

Mince fuseau de 12  $\mu\text{m}$  sur 1  $\mu\text{m}$ , les sporozoïtes infectieux injecté à l'homme, migrent rapidement pour la plupart dans le foie où ils seront séquestrés dans les hépatocytes, les autres seront phagocytés par les macrophages. Cette crise pré-érythrocytaire hépatique qui va durer 7 à 15 jours pour *P. falciparum*, 15 jours à 9 mois pour *P. vivax*, 15 jours à plusieurs mois pour *P. ovale* et 3 semaines pour *P. malariae* permettra au parasite de poursuivre son cycle. Une première transformation aboutie à un élément uninucléé appelé trophozoïte qui va se multiplier par schizogonie directe pour former un schizonte de 40 à 80  $\mu\text{m}$ , lequel va bourgeonner après perte de sa mobilité pour donner des mérozoïtes qui vont infecter les globules rouges. Cependant, certains mérozoïtes de *P. ovale* ou *P. vivax* forment des hypnozoïtes qui peuvent rester cachés dans le foie plusieurs années, voire la vie entière pour *P. malariae*, avant de se réactiver en vagues successives (12).

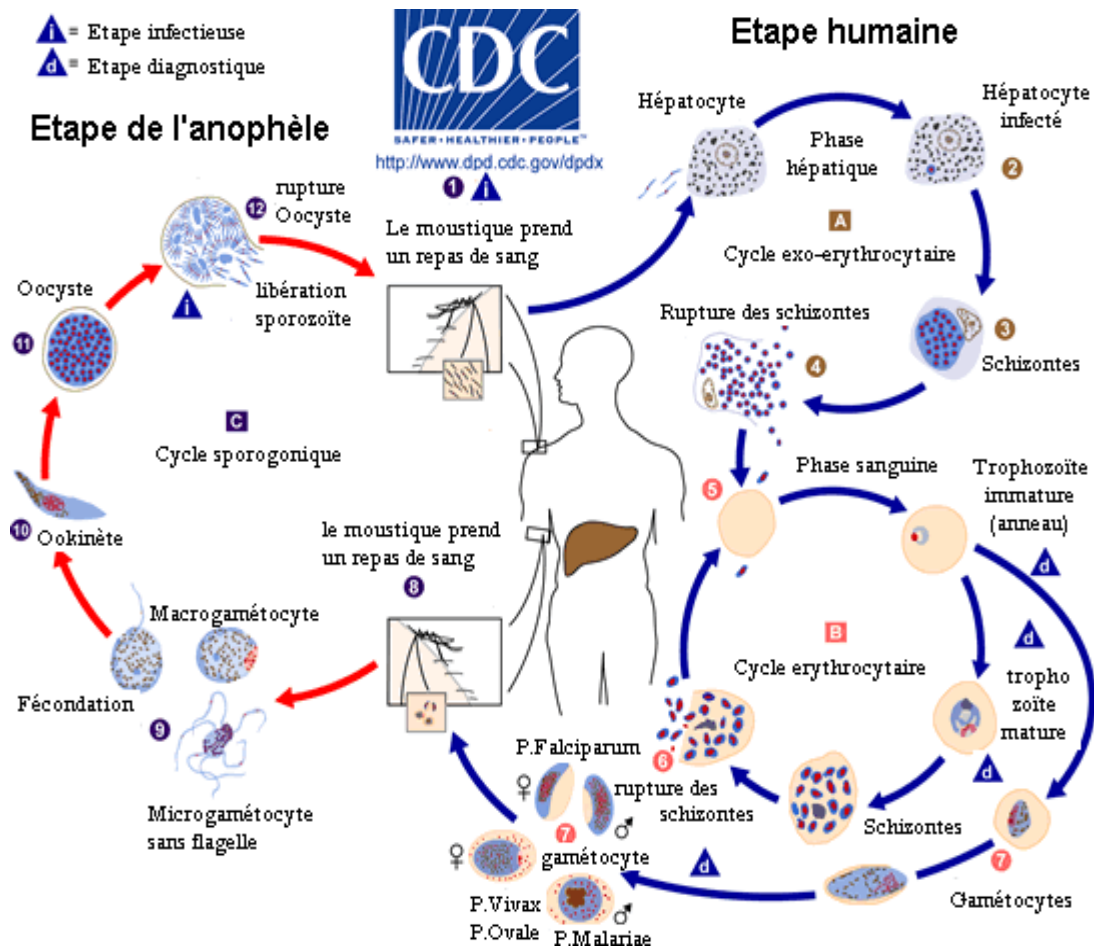


Figure 4 : Le cycle évolutif du plasmodium

### 2.6.2.2 Phase sanguine

Les mérozoïtes sont libérés lors de l'éclatement de l'hépatocyte et vont intégrer la circulation sanguine par pénétration des hématies, devenant ainsi des trophozoïtes. Pour sa croissance, le parasite consomme l'hémoglobine qui après dégradation donne l'hémozoïne ou pigment malarique. Les trophozoïtes se multiplient, les noyaux se divisent, formant un schizonte qui se charge en hémozoïne. La multiplication des noyaux aboutie dans l'hématie à un corps en rosace qui à maturité libère des mérozoïtes dans le sang.

Les mérozoïtes libérés vont à leur tour parasiter une hématie vierge et poursuivre le cycle intra-érythrocytaire. Chaque cycle schizogonique dure 24 à 72 heures, selon l'espèce parasitaire. Le cycle est continu pendant la durée de l'infection et progressivement la densité en hématies parasitées augmente jusqu'à ce que l'immunité ou un traitement la limite (13). Cet intervalle de temps correspond à la durée du cycle schizogonique érythrocytaire (13). Les hématies parasitées disparaissent de la circulation périphérique au bout de 24 heures environ, vont être



séquestrées et occlure les capillaires d'organes profonds (le cerveau, le cœur, la rate, les intestins, la moelle osseuse et le placenta), où vont se dérouler les cycles schizogoniques érythrocytaires. Dans le cas du paludisme cérébral justement, la mort intervient à la suite d'une obstruction des vaisseaux sanguins du cerveau par les globules rouges infectés. Ainsi, le niveau de parasitémie dans le sang périphérique ne reflète pas forcément la parasitémie réelle de l'organisme (14). Après plusieurs schizogonies, les formes sexuées ou gamétocytes apparaissent. Elles ne poursuivront leur développement que si elles sont absorbées par une anophèle femelle.

### 3. SIGNES CLINIQUES

On distingue plusieurs formes cliniques du paludisme selon la symptomatologie de la maladie : le paludisme d'infestation, le paludisme maladie, l'accès palustre simple et le paludisme grave. Le paludisme qu'il soit clinique ou asymptomatique, peut être monospécifique, bi-infectieux ou le résultat d'une triple infection.

#### 3.1 Le paludisme d'infestation ou le paludisme asymptomatique

C'est l'absence de signes cliniques chez des sujets dit porteurs sains présentant des formes asexuées du parasite à l'examen du sang périphérique. Cet état peut conduire à tout moment à un paludisme simple ou grave.

#### 3.2 Le paludisme maladie

La maladie est caractérisée par l'existence dans le sang de l'individu de formes asexuées d'une ou plusieurs espèces plasmodiales, accompagnée de signes cliniques.

##### 3.2.1 Accès palustre simple

Les accès palustres simples appelés crises fébriles peuvent à tout moment évoluer vers la forme grave; d'où l'importance de leur diagnostic et de leur traitement précoce. Cette fièvre peut être tierce (bénigne et maligne) ou quarte selon les espèces de plasmodium. On note la présence de signes tels : l'asthénie, les vomissements, des frissons avec sueurs abondantes et sensation de froid.

### 3.2.2 L'accès palustre grave (15)

Selon l'OMS, le paludisme grave se définit par la présence de formes asexuées de *Plasmodium falciparum* à l'examen microscopique du sang périphérique, associée à une ou plusieurs des manifestations suivantes :

- Neuropaludisme (Coma de stade II ou plus)
- Crises convulsives (> 1 / 24 h )
- Anémie grave (hématocrite < 20 % et Hb 6 g /dl),
- Insuffisance rénale (diurèse 400 ml ou créatinine 265 l /l,
- Oedème pulmonaire,
- Hypoglycémie (2,2 mmol/l ou 0,4g/l),
- Collapsus circulatoire,
- Hémorragie diffuse,
- Hémoglobinurie massive,
- Acidose sanguine.

Il existe d'autres signes contingents qui ne suffisent cependant pas à eux seuls à définir l'accès grave :

- Obnubilation ou prostration moins marquée que le coma stade II,
- Parasitémie élevée (5 chez les sujets non immuns),
- Ictère (clinique ou dû à la bilirubine 50 mol/l ou 30 mg/l),
- Hyperthermie de 41°C ou une hypothermie de 36°C.

### 3.2.3 Autres formes

Il existe d'autres formes de gravité variable :

- Le paludisme viscéral évolutif ou cachexie palustre
- La néphrite quartane à *Plasmodium malariae*
- La fièvre bilieuse hémoglobinurique
- La malaria transfusionnelle
- La splénomégalie tropicale

Les formes les plus graves, sont celles rencontrées chez les sujets à risque : la femme enceinte et l'enfant (surtout de moins de 5 ans).

#### **3.2.3.1 La malaria de la femme enceinte**

Le paludisme est à l'origine dans ces cas d'un poids de naissance faible, dû à l'infestation du placenta, surtout rencontré chez les primipares. La forme congénitale (5% des nouveaux nés) est en relation directe avec la présence des parasites dans le placenta (16).

#### **3.2.3.2 La malaria de l'enfant**

Elle due à *Plasmodium falciparum*, et est à l'origine d'environ 1 à 3 millions de décès chaque année, cette variété de la malaria touche essentiellement les africains et s'accompagne de :

- troubles neurologiques avec des convulsions pouvant aller jusqu'au coma,
- hypoglycémie,
- augmentation du taux d'acidité du sang (acidose métabolique),
- anémie sévère.

Dans ce cas, le traitement est généralement efficace et rapide (17).

## **4. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME**

Le diagnostic de certitude est apporté par la mise en évidence du parasite dans le sang. L'examen biologique le plus couramment utilisé est la microscopie. Elle consiste en une observation d'une goutte épaisse et d'un frottis sanguin, généralement confectionnés sur la même lame. Cependant il est nécessaire, pour évoquer le diagnostic, d'avoir la notion de voyage en pays d'endémie

### **4.1 La goutte épaisse (G.E)**

La goutte épaisse est la technique biologique de référence du fait de sa bonne sensibilité par rapport au frottis sanguin pour la mise en évidence du plasmodium. En effet, elle consiste à concentrer un grand nombre d'hématies dans une goutte de sang prélevée sur une lame porte-objet afin de mettre en évidence la présence d'éventuels parasites. Cependant elle reste peu efficace

dans le diagnostic d'espèce.

#### 4.2 Le frottis sanguin (FS)

C'est l'étalement mince d'une goutte de sang prélevée au doigt sur une lame de verre.

Le frottis sanguin est l'examen parasitologique qui permet de déterminer les espèces plasmodiales confirmant ainsi les résultats de la goutte épaisse. Cependant il ne permet pas de dépister des parasitémiées faibles (18).

#### 4.3 La détection des antigènes du paludisme par immunochromatographie : les tests de diagnostic rapide (TDR) (19)

Les tests de diagnostic rapides (TDR) du paludisme permettent la détection des antigènes spécifiques (protéines) produits par les parasites. Ces antigènes sont présents dans le sang de personnes infectées.

Certains de ces tests ne peuvent détecter qu'une seule espèce de parasite (*P. falciparum*), d'autres en détectent plusieurs. On peut citer : le Paracheck<sup>®</sup> Pf, le test OptiMAL<sup>®</sup>.

Les tests rapides antigéniques sont simples d'utilisation, rapides et d'un apport précieux cependant ils ont des limites :

- les faux négatifs sont dus à une faible parasitémie de l'ordre de 100 parasites par  $\mu\text{L}$ , soit 0,002% d'hématies infectées. Or, il est fréquent de mettre en évidence en pathologie d'importation ou chez le voyageur non immun, en zone d'endémie sous chimioprophylaxie non ou mal adaptée, des parasitémiées très faibles. Le résultat des TDR peut donc être faussement négatif.
- les faux positifs, moins bien connus, sont dus à une lecture trop tardive après le dépôt des réactifs, à la présence d'auto anticorps ou de facteur rhumatoïde à des taux élevés. De plus, la persistance de la circulation de HRP2 (protéine riches en histidine 2) après disparition des parasites du sang circulant est trouvée jusqu'à 15 jours après négativité des tests microscopiques.

D'une manière générale, ces tests ne doivent pas être employés seuls.

Tableau I : caractéristiques résumées de neuf TDR du paludisme

	Palutop®	Kat-Quick Malaria®	ICT Malaria®	OptiMAL Pf®1	Now ICT Malaria®	OptiMAL Pf®2	Toda Malaria diag4+®	Palutop+4®	Core Malaria®
Distributeur	All Diag	AES	Fumouze	Diagnostic laboratories	Fumouze	Diagnostic laboratories	Toda Pharma	All Diag	Core diagnostics
Nombre d'antigènes détectés	1	1	1	1	4	4	4	4	4
Antigène(s) détecté(s)	HRP2 (1)	HRP2	HRP2	Pf-LDH (2)	HRP2 et Pan-LDH (3)	Pf-LDH et Pan-LDH	HRP2 et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH (4) et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH et Pan-LDH
Espèce(s) détectée(s)	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)

(1) HRP2 : spécifique de *Pl. falciparum*

(2) Pf-LDH : LDH spécifique de *P. falciparum*

(3) Pan-LDH : LDH commune aux quatre espèces plasmodiales

(4) Pv-LDH : LDH spécifique de *Pl. vivax*

(5) le test ne différencie pas les espèces *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale* entre elles

(6) le test différencie *P. vivax*.

#### 4.4 Autres examens complémentaires

D'autres examens existent, tels que le Quantitative Buffy Coat (QBC) et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) :

- Le Quantitative Buffy Coat ou QBC s'insère dans le cadre du diagnostic direct et a été proposé en 1989 pour la concentration des parasites sanguicoles. Il est basé sur la répartition différentielle des éléments figurés du sang après centrifugation dans un tube capillaire contenant du sang et de l'acridine (20). L'acridine orange permet certes de détecter les parasites mais elle ne détermine ni l'espèce plasmodiale, ni la densité parasitaire.
- La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique de diagnostic indirect dont le principe est basé sur des réactions de polymérisation en chaîne de l'ADN, aboutissant ainsi à une amplification élective génique de la chaîne d'ADN (21). La PCR est une méthode essentiellement qualitative, son coût ne permet pas son utilisation en pratique médicale courante, mais reste une technique de référence.

## 5. LE TRAITEMENT

### 5.1 Historique des antipaludiques

La quinine a été découverte en Chine en 1630. En effet, l'épouse du vice-roi du Pérou la comtesse de Chinchon, avait contracté une fièvre tierce. L'annonce de sa mort prochaine a conduit le gouverneur de la bourgade de Loja à lui apporter, une potion tirée de l'écorce d'un arbre local. Elle fut totalement guérie, d'où le nom de quinquina donné, quoique l'arbre soit originaire d'Amérique du sud.

La conception de la quinine longue et coûteuse, les impératifs militaires, ainsi que les problèmes perçus avec ses effets secondaires ont amenés deux chercheurs ; britanniques et allemands à la découverte de la chloroquine et de la pyriméthamine (prophylaxie et traitement de routine).

#### Vers les aminoquinoléines

Dans les années 1920, les chimistes de Bayer en Allemagne (à l'époque, une partie de IG Farben) après une modification clé de la structure du bleu de méthylène par le remplacement d'un des groupes méthyle par une chaîne latérale dialkylaminoalkyle ont obtenu le composé 4. Cette chaîne latérale liée à différents systèmes hétérocycliques tels que la quinoléine a donné le premier médicament antipaludique de synthèse : la plasmochine (également connu sous le nom de plasmoquine ou pamaquine) en 1925 (22). Mais à cause de sa toxicité trop élevée les recherches se sont orientées vers un médicament de toxicité moindre : la primaquine une 8-amino quinoléine.

#### Vers les 4aminoquinoléines

Sur la base des possibilités de substitution de la chaîne latérale de base de la pamaquine des scientifiques allemands de IG Farben ont raccordés la chaîne latérale diethylaminoisopentylamino avec un hétérocycle conduisant à la synthèse de la quinacrine un dérivé acridine. A côté de cela les laboratoires Bayer ont synthétisé la résochine une amino-4-quinoléine portant une chaîne latérale diethylaminoisopentylamino en position 4 d'une 7-chloroquinoléine qui s'est révélée trop toxique dans un premier temps mais qui a été réexaminée plus tard (après la découverte de l'apparentée sontaquine ou nivaquine) à des doses thérapeutiques et rebaptisée la chloroquine(22).

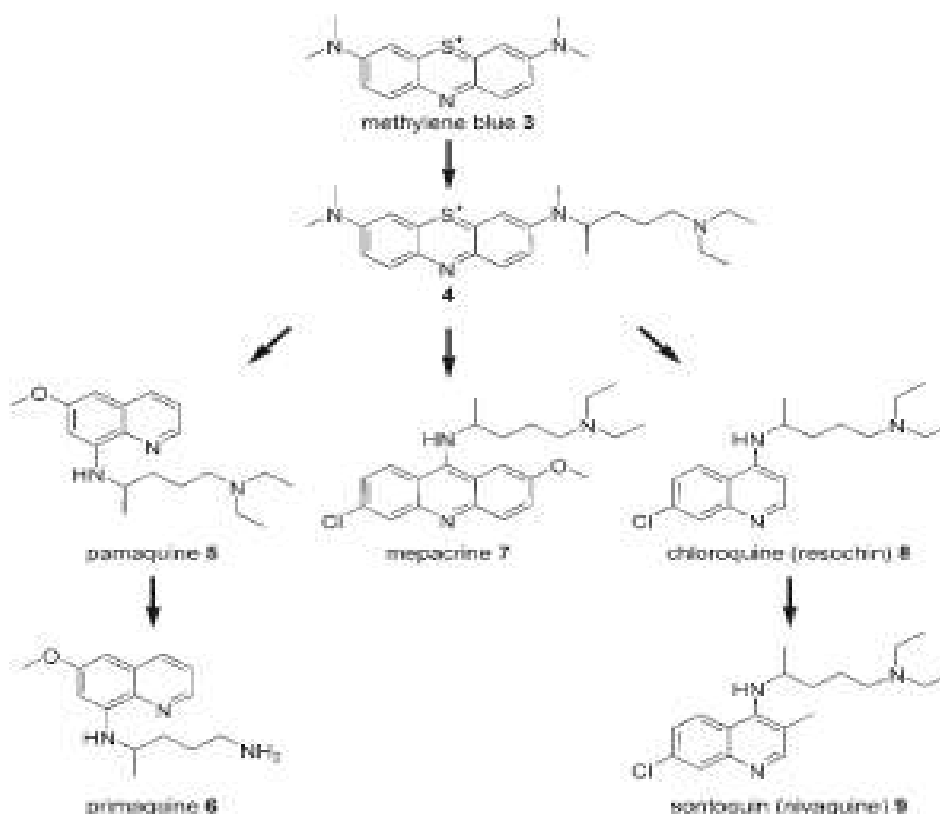


Figure 6 : quelques antipaludiques

Mais l'apparition de résistances dans toutes les régions où la chloroquine a été utilisée a conduit à la synthèse d'une autre 4-aminoquinoléine (22) : L'amodiaquine qui s'est présentée comme une alternative à la chloroquine et utilisée en prophylaxie.

### Vers les quinoléines méthanol

Sur la base des observations des problèmes de résistance à la chloroquine au Vietnam le Walter Reed Army Institute for Research (Washington, DC, Etats-Unis) après un dépistage massif et sur quelques 300000 composés sélectionnés (23) a découvert la classe des 4aminoquinoléineméthanol analogues de la chloroquine (24). L'effet photosensibilisant de cette classe a conduit à son réexamen en la méfloquine qui n'a pas eu d'effet sensibilisant appréciable (25). Elle a prouvé son efficacité en chimiothérapie antipaludique sur les souches chloroquino-résistantes au paludisme (26), bien que son utilisation soit limitée par la résistance et les inquiétudes concernant sa toxicité.

Déoulant toujours de ces recherches une sous classe à émergée dans laquelle la quinoléine des 4-aminoquinoléineméthanol est remplacée par un système cyclique aromatique aboutissant à des groupes aryls (amino) carbinols : les 9-

phenanthrèneméthanol. Le dérivé le plus prometteur l'halofantrine est également utilisé pour traiter le paludisme chloroquino-résistant, mais il a été fait état de rapports de toxicités graves (27).

On distingue principalement plusieurs groupes de médicaments antipaludiques :

- Les schizonticides
- Les gamétocytocides
- Les sporonticides
- Les antibiotiques

## 5.2 Les schizonticides érythrocytaires

Ce groupe de molécules est actif contre les schizontes intra globulaires et ces molécules sont capables de traiter et même de prévenir un accès palustre. On peut les classer en 2 groupes selon leur mode d'action :

- Les schizonticides naturels
- Les schizonticides de synthèse

### 5.2.1 Schizonticides naturels

#### 5.2.1.1 Quinine : Quinoforme®, Arsiquinoforme®, Paluject®

La quinine est un alcaloïde arylaminoalcool extrait de l'écorce de quinquina dont les vertues sont connues depuis l'antiquité, elle est utilisée dans les accès pernicieux (urgence).

A coté, la quinidine, la cinchonine et la cinchonidine sont utilisées en combinaison avec la quinine sous forme de chlorhydrate et de gluconate : c'est le totum alcaloïde (Quinimax®). Elle peut provoquer une hypoglycémie sévère et de l'arythmie. La quinacrine ou mépacrine ou atebriane est un dérivé de la quinine (28).

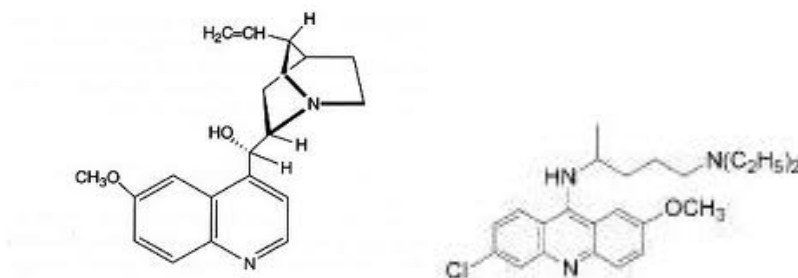


Figure 7 : La quinine

la quinacrine



### 5.2.1.2 Les sesquiterpènes dérivés de l'armoise : l'artémisinine et ses dérivés



Figure 8 : l'artémisinine

Plus récemment découverte, l'artémisinine a été isolée en 1973 d'une plante chinoise, l'armoise douce ou qinghao. C'est un pont endoperoxyde (O-O) qui est à la base de l'activité de l'artémisinine et de ses dérivés. Elle n'a pas d'effets indésirables connus.

La dihydroartémisinine (DHA) : Cotexcin® est indiquée dans l'accès palustre simple à *P. falciparum*. Deux dérivés de l'artémisinine sont également utilisés pour le traitement du paludisme : il s'agit de l'artéméthér (Paluther®) et de l'artésunate (Arsumax®).

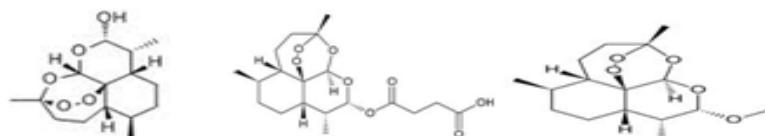


Figure 9 : La DHA                      l'artésunate                      l'artemether

La neurotoxicité est d'ailleurs la préoccupation majeure des dérivés de l'artémisinine en générale (29)

## 5.2.2 Les schizonticides de synthèse

### 5.2.2.1 Les 4-aminoquinolés

Cette famille comprend : la chloroquine, l'amodiaquine et plus récemment la pyronaridine.

Chloroquine : Nivaquine®

La chloroquine se lie aussi à l'hème et inhibe sa cristallisation. Elle est utilisée en prévention et dans le traitement, mais présente des phénomènes de

résistances et de nombreux effets indésirables : diarrhées, nausées, démangeaisons, faiblesse musculaire, trouble de la vue (30).

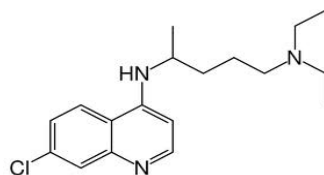


Figure 10 : la chloroquine

### L'amodiaquine : flavoquine®

Elle présente l'avantage d'être active sur les souches de *Plasmodium falciparum* sensibles et résistantes à la chloroquine et sur l'ensemble des souches de *Plasmodium vivax*, de *Plasmodium ovale* et de *Plasmodium malariae* dans les accès palustres. Cependant elle entraîne des troubles : gastro-intestinaux fréquents (constipation, diarrhée, nausées, vomissements), oculaires, de l'accommodation (opacifications cornéennes, rétinopathies) ou hépatiques (amaigrissement, anorexie, fièvre, hépatites parfois mortelles, ictère, modification des enzymes hépatiques ALAT, ASAT, PAL). Et les effets à véritablement craindre sont l'hépatotoxicité et l'agranulocytose (30)

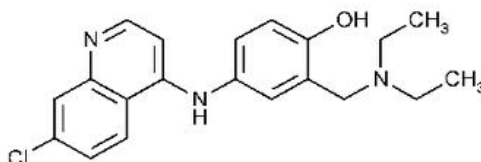


Figure 11 : L'amodiaquine

### La pyronaridine

La pyronaridine est une base de Mannich possédant une chaîne latérale amodiaquine- like sur le noyau acridine de la quinacrine. Elle est active sur les parasites résistants aux médicaments (31)

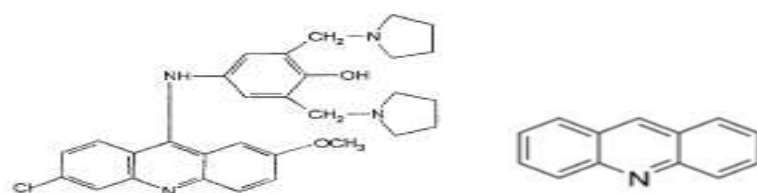


Figure 12 : La pyronaridine

noyau acridine

### 5.2.2.2 Les amino-alcools

Ce sont des schizonticides actifs sur les souches chloroquino-résistantes. Ils sont d'action plus lente que la quinine. On peut citer : l'halofantrine (Halfan<sup>®</sup>), la méfloquine, et un arylaminoalcool la luméfántrine.

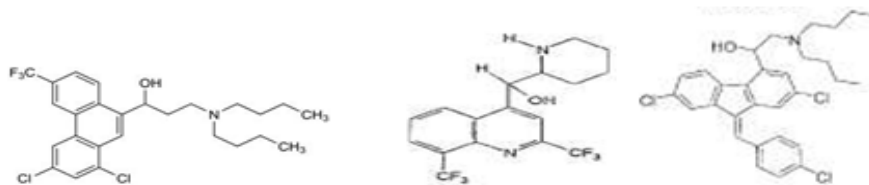


Figure 13: l'halofantrine      la méfloquine      la luméfántrine

La méfloquine a des effets secondaires neuropsychiatriques comme l'insomnie, la dépression et des crises de panique, l'halofantrine est responsable d'un risque élevé d'arythmies cardiaques (32). Contrairement à l'halofantrine, la luméfántrine n'est associée à aucun effet secondaire cardiaque dangereux (33).

### 5.2.2.3 Les dimères des 4-aminoquinoléines : les bisquinoléines

Le chef de file pipéraquline (1960) est encore efficace en Afrique (utilisation faible), car partout où elle a été fortement utilisée des résistances se sont développées. Elle est bien tolérée mais provoque de l'hypertension (34).

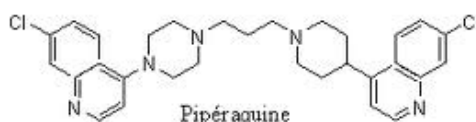


Figure 14 : la pipéraquline

### 5.2.2.4 Les anti-métaboliques

On distingue : les antifoliques et les antifoliniques agissant tous deux sur la voie des folates. Les antifoliniques sont des inhibiteurs de la dihydrofolate déshydrogénase (DHFR) et sont utilisés dans le traitement curatif du paludisme. Les antifoliques quant à eux inhibent la dihydroptéroate synthase (DHPS) et sont utilisés en association avec les antifoliniques en prise unique comme dans la combinaison : Sulfadoxine+pyriméthamine : Fansidar<sup>®</sup>. On distingue :

Les antifoliniques :

- les diamimopyrimidines : la pyriméthamine
- les biguanides : le proguanil

Les antifoliques : les sulfamides, et les sulfones (la sulfadoxine)

## Les hydroxy-1,4-naphtoquinones : l'atovaquone

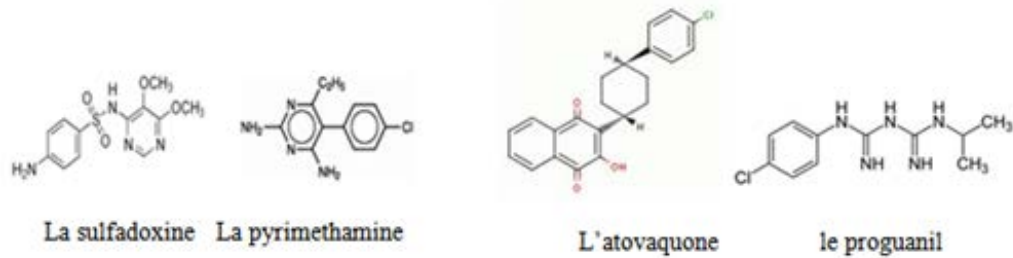


Figure 15 : quelques antimétaboliques

L'association sulfadoxine-pyriméthamine est à l'origine de l'agranulocytose et de la nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Steven-Johnson) (30). Aucun effet secondaire grave n'a été signalé pour l'atovaquone.

### 5.2.3 Les Associations schizonticides

Ces associations ont pour but de limiter les phénomènes de résistance elles sont généralement à base de dérivés de l'artémisinine (ACT).

- Artésunate-amodiaquine (**Arsucam®**)
- Artésunate-méfloquine (**Artéquin®**)
- Artéméther-luméfantrine (**Coartem®**)
- Artésunate-sulfaméthoxypyrazine-pyriméthamine (**Co-Arinate®**)
- Atovaquone-proguanil (**Malarone®**)
- Chlorproguanil-dapsone (**Lapdap®**)
- Artesunate –pyronaridine (OMS, Corée)
- Artésunate-atovaquone-proguanil
- Dihydroartémisine-pipéraquline (Eurartesim®)

## 5.3 Les gamétocytocides hépatocytaires: les 8-aminoquinoléines

Ils inhibent la transformation des gamétocytes sanguins chez l'homme en gamètes chez le moustique, entravant ainsi le cycle sporogonique et bloquant la transmission de l'espèce plasmodiale. Ils agissent par un effet gamétocytocide contre les 4 espèces de Plasmodium et un effet hypnozoïtocide dans le cas de paludisme à *P. vivax* et *P. ovale*. C'est le cas de la primaquine et plus récemment de la tafénoquine de lipophilie améliorée (35).

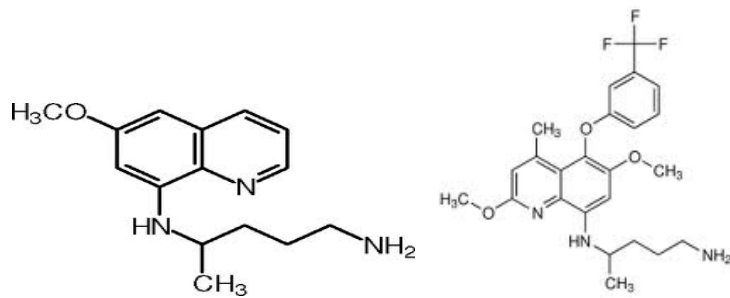


Figure 16 : La primaquine la tafénoquine

Les 8-aminoquinoléines ont des effets secondaires de plusieurs ordres à savoir : hématologiques, cardiovasculaires, digestifs, oculaires, cutanés, psychiatriques.

La primaquine provoque une hémolyse potentiellement mortelle chez les personnes déficientes en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6PD), un polymorphisme génétique particulièrement abondant en Afrique et en Asie (30). La tafénoquine est méthémoglobinisante et peut provoquer une hémolyse chez les déficients en G6PD (36).

#### 5.4 Les sporonticides :

Ces médicaments bloquent la transmission de la maladie en s'opposant au développement des oocystes chez le moustique. C'est le cas de la primaquine une 8-aminoquinoléine et la chloroguanidine.

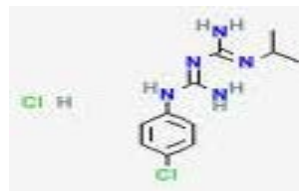


Figure 17 : La chloroguanidine

#### 5.5 Les antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur le deuxième cycle, après invasion de la cellule par un mécanisme de « mort retardée » du phénotype. Ils sont utilisés uniquement en combinaison du fait de leur clairance longue, avec un antipaludique à action rapide comme la quinine, l'artésunate ou fosmidomycine (exceptions rares comme pour la doxycycline en prophylaxie). Leur action dépendant essentiellement du temps d'incubation il faudra veiller aux fluctuations (amélioration) de l'effet dans le temps (37), d'autant que peu de travaux ont été effectués dans ce sens.

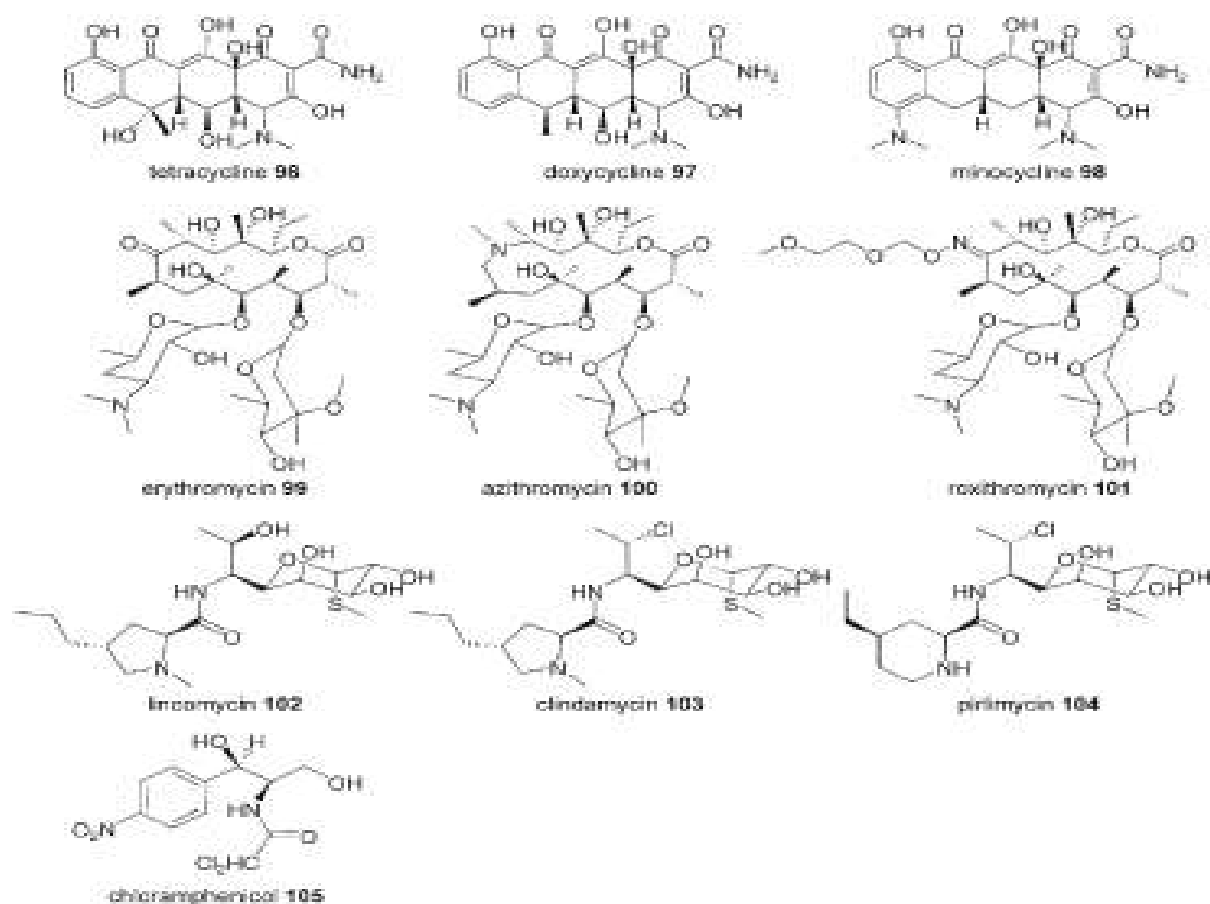


Figure 18. Quelques antibiotiques (tétracyclines, les macrolides, lincomycines et chloramphénicol) qui inhibent la biosynthèse des protéines

### 5.5.1 Les quinolones

La ciprofloxacine en tête de liste, avant d'être utilisée en combinaison doit être encore largement revue. Elle agit par liaison à la topoisomérase (gyrase) empêchant la religature de l'ADN (38).

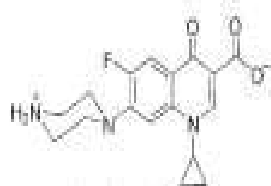


Figure 19 : la ciprofloxacine

### 5.5.2 La rifampicine

Elle agit sur un ARN homologue aux ARN bactériens qu'elle inhibe. Elle peut être combinée avec le sulfaméthoxazole, le triméthoprime et l'isoniazide dans Cotrifazidj, mais avec la quinine il y a des effets secondaires (39).

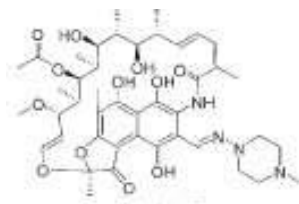


Figure 20 : la rifampicine

### 5.5.3 Les inhibiteurs de la biosynthèse des protéines

Ils inhibent la traduction chez les procaryotes et la biosynthèse des protéines dans l'apicoplaste. Parmi eux : Les tétracyclines, les macrolides, Lincosamides, le chloramphénicol, les thiazoles.

#### 5.5.3.1 Les tétracyclines

La doxycycline et la minocycline agissent sur l'apicoplaste. La doxycycline la plus utilisée peut être combinée à l'artésunate à la méfloquine et plus rarement à l'atovaquone. Elle peut même remplacer la méfloquine en prophylaxie quand cette dernière ne peut être utilisée (40). La formation de complexes phosphates – tétracycline empêche son utilisation chez la femme enceinte et les moins de huit ans où elle est remplacée par la clindamycine (41).

#### 5.5.3.2 Les macrolides

L'azithromycine la plus active des macrolides sur les souches sensibles et résistantes à la chloroquine se lie à la sous unité 50 S du ribosome. Elle est bien tolérée en prophylaxie et a une synergie d'effet avec : la quinine, la tafénoquine, la primaquine, la méfloquine (plus faiblement), l'artéméther la pyronaridine, mais des effets partagés avec l'artésunate (42).

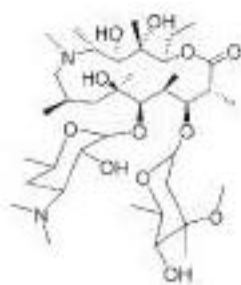


Figure 21 : L'azithromycine

#### 5.5.3.3 Lincosamides

La clindamycine, dérivé semi-synthétique de la lincomycine naturelle, est plus active et se lie également à la sous unité 50 S du ribosome. Elle exerce une synergie avec la DHA mais a une demie vie d'élimination courte et peut provoquer, même si c'est rare, une colite pseudomembranaire mortelle (43). La

pirlimycine est trois fois plus active, mais nécessite des études complémentaires (44).

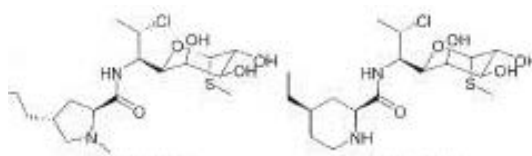


Figure 22 : Clindamycine et pirlimycine

#### 5.5.3.4 Le chloramphénicol

Il agit également sur la sous unité 50 S mais sa forte toxicité l'a éliminé de la thérapie antipalustre (45).

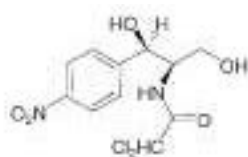


Figure 23 : Le chloramphénicol

#### 5.5.3.5 Antibiotiques thiazolés

Même s'ils agissent à divers stades de la biosynthèse des protéines (46), leur développement en thérapie palustre est peu probable (Micrococcine, amythiamycine).

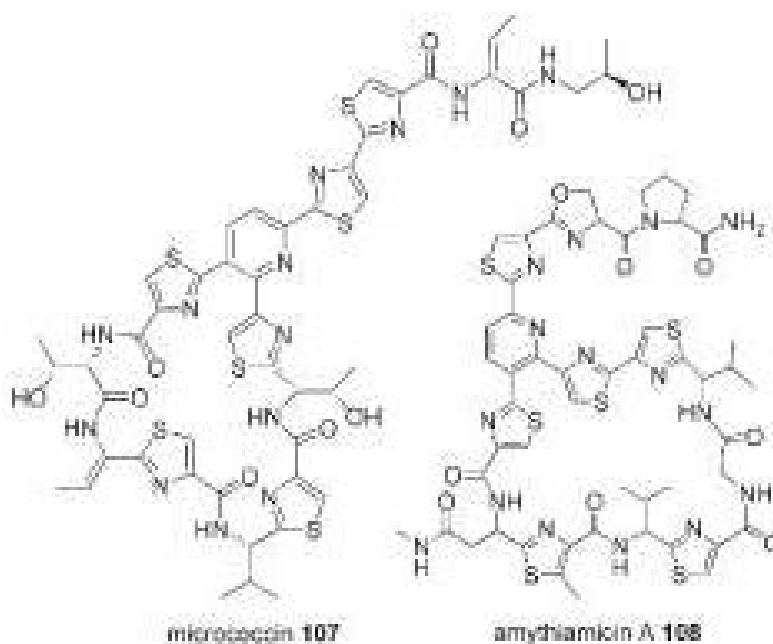


Figure 24 : quelques antibiotiques thiazolés



#### 5.5.4 Autres antibiotiques

Ils ont également une activité antipaludique :

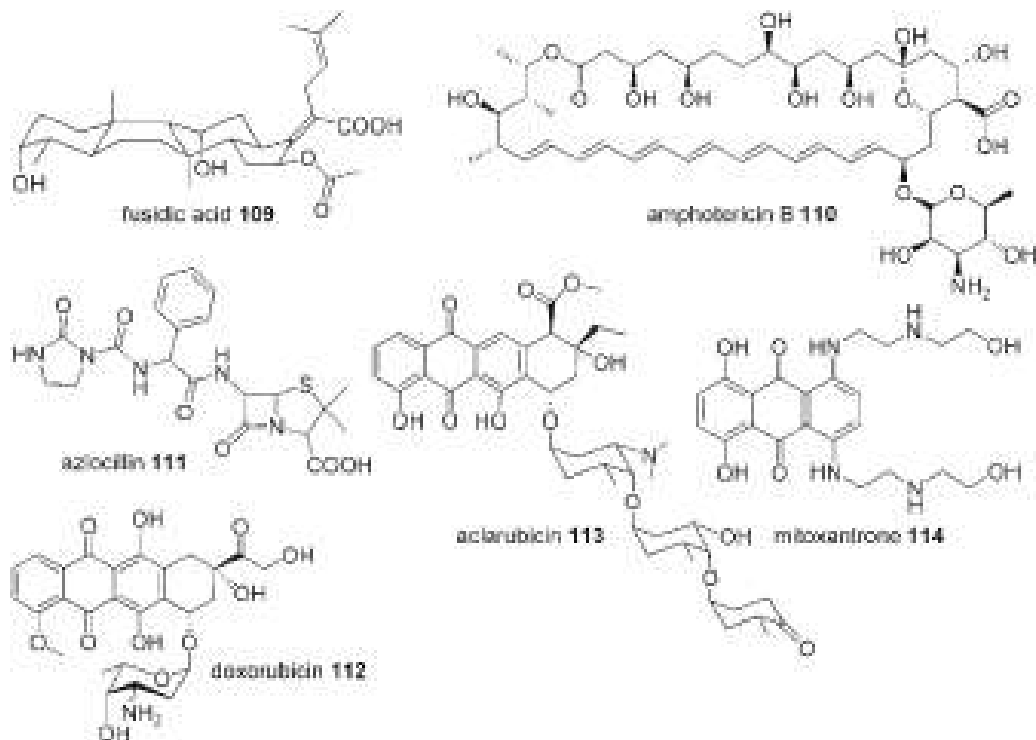


Figure 25 : Divers antibiotiques à activité antipaludique

- L'acide fusidique
- L'amphotéricine B dont la forme tolérée est aussi moins active
- L'azlocilline une bêta-lactame active sur les souches sensibles comme résistantes.
- Parmi les anthracyclines : la doxorubicine et l'aclarubicine malgré leur activité ne sont pas utilisables.

#### 5.6 Schémas de traitement de l'OMS en zone tropicale (47)

L'OMS préconise une conduite à tenir en cas d'accès simple et de paludisme grave.

##### 5.6.1 Traitement des accès simples

L'antipaludique de première intention est la chloroquine. Celui de deuxième intention pour les cas de paludisme présumés chloroquino-résistants, est la sulfadoxine-pyriméthamine même si cette association pose problème par son efficacité faible et ses effets secondaires redoutés.

### 5.6.2 Traitement du paludisme grave

Le médicament de première intention pour le traitement du paludisme grave est la quinine. En plus du traitement antiparasitaire il faudra mettre sur pied un traitement symptomatique :

- Traitement antipyrétique: Paracétamol et acide acétyl salicylique
- Traitement anticonvulsivant: Diazépam,
- Traitement antianémique: fer, transfusion sanguine,
- Antibiotique
- Rééquilibration hydro-électrolytique.

### 5.7 Les vaccins

A l'heure actuelle il n'existe pas encore de vaccin contre le paludisme. Cependant parmi les candidats le dénommé RTS,S (48) s'est démarqué. Depuis le 26 mai 2009, il est en phase III des essais cliniques et les tests montrent que son efficacité sera supérieure aux espoirs (49). Il est préparé à partir de peptides parasitaires de synthèse et de protéines recombinantes (capable d'échanger des informations génétiques avec une autre protéine), ou d'ADN (découvert dans les mitochondries et les apicoplastes de *Plasmodium*). Sachant que le parasite, pour pénétrer les hématies, prend la forme d'une protéine et est capable de muter une soixantaine de fois pour tromper le système immunitaire, cette piste utilise deux protéines recombinantes qu'elle fusionne :

- une partie de la protéine circumsporozoïtaire (CSP = Circum Sporozoïte Protein) de *P. falciparum* (RTS);
- l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (S);
- un adjuvant qui est composé de 250 µl d'émulsion d'huile dans l'eau, de 50 µg de saponine QS21 et de 50 µg de (MPL™) lipide monophosphorique immunostimulant A (AS02A).

C'est le vaccin de deuxième génération le plus avancé. Si toutes les études et les tests continuent à se dérouler normalement, il pourra très rapidement entrer en phase IV des essais cliniques (50).

D'autres vaccins sont en cours d'évaluation :

- Le vaccin MSP3 : dont l'essai de 2007 a été concluant, a pour antigène de base MSP3. C'est le concurrent direct de RTS,S , cependant il a une protection de plus longue durée et est réalisé à moindre coût.
- Le vaccin antimérozoïte appelé PfCS102/AS02A59 (51) est basé sur un peptide de synthèse circumsporozoïtaire (PfCS = Peptide Circum Sporozoïte Protein) de *P. falciparum* (PfCS102) , renforcé par un adjuvant l'AS02A .
- En novembre 2005, le prototype MSP360 (52) basé sur des antigènes, débutait la phase I des essais cliniques chez l'homme.
- En 2006, le département de la Défense des États-Unis (DoD) demande à l'Institut de Médecine (IOM) de l'Académie nationale des sciences (NAS) de reprendre le programme de recherche qu'il avait entamé en 1986 visant un vaccin pour les militaires contre *P.falciparum*.(53)
- De novembre 2006 à décembre 2007, la faculté de médecine de l'université du Maryland et l'université de Bamako testaient ensemble en phase I des essais cliniques d'un vaccin FMP2.1/AS02A. Sa substance active est une protéine issue de *P.falciparum* (FMP2.1) et elle est renforcée par l'adjuvant AS02A (54)
- En janvier 2010, L'University of Central Florida d'Orlando a annoncé un candidat-vaccin oral ou injectable à la fois efficace contre le paludisme et le choléra (55). Il cible l'immunité systémique et mucoale, via une construction antigénique fusionnant les épitopes de la sous-unité B (CTB) de la toxine cholérique avec des antigènes de la membrane apicale (AMA1) et d'une protéine de surface (MSP1) des mérozoïtes de *P. falciparum*.

## 6 . CHIMIORESISTANCE

Le paludisme a fait un retour spectaculaire, due au laxisme accusé dans les campagnes antipaludiques, l'émergence de la résistance au parasite à la majorité des médicaments antipaludiques utilisés habituellement et la résistance du vecteur aux insecticides. La résistance étant définie comme la capacité d'une souche de parasite à survivre et / ou se multiplier malgré l'administration et absorption d'un médicament donné à des doses égales ou supérieures à celles habituellement recommandées, mais dans les limites de tolérance du sujet (56). La résistance du plasmodium à la chloroquine est actuellement une réalité partout où la maladie sévit. Elle (57) se ferait plus par accumulation du

médicament associée à son extrusion que par mutation au niveau du site de liaison d'une protéine.

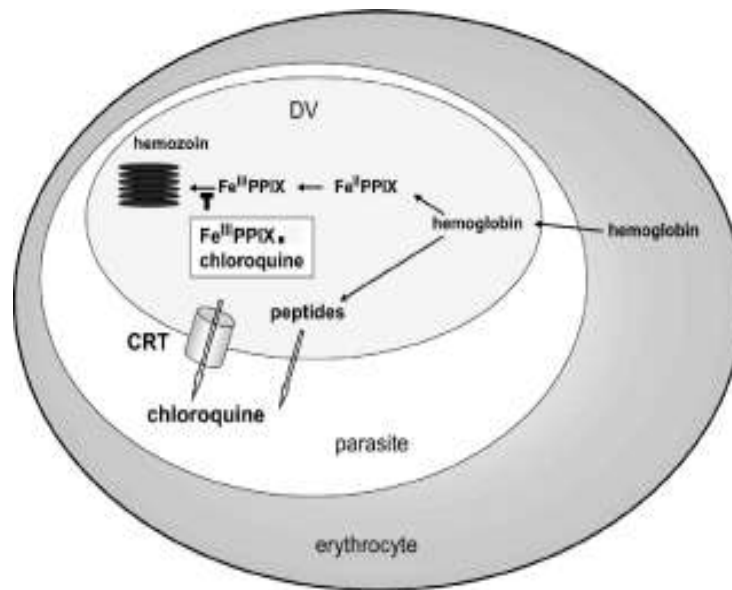


Figure 26: mécanisme de résistance à la chloroquine

A côté d'elle, la résistance généralisée aux autres amino 4-quinoléines, et aux aminoalcools pose également problème.

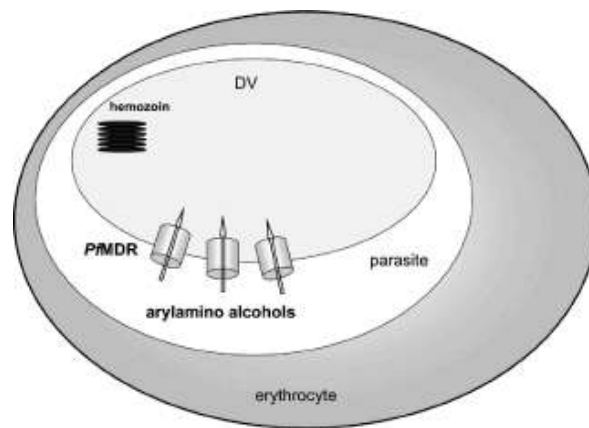


Figure 27. Mécanisme de résistance aux arylamino alcools

De plus, pour assurer la réussite thérapeutique des combinaisons d'antifolates il faudrait préalablement régler le problème de la mutation de la DHFR (58), qui est à l'origine de considérables phénomènes de résistance (59). Avec la triple forme mutante qui est insensible à la pyriméthamine, au proguanil mais est encore sensible à la chlorcycloguanil qui est cependant d'action insuffisante face à la quadruple forme mutante de la DHFR, (60). La résistance aux sulfones/sulfonamides est due à des mutations au niveau de la DHPS (61).

La famille des artémisinines qui jusque là, constituait le point focal de la thérapie antipalustre est à présent, elle aussi sujette aux phénomènes de résistance.

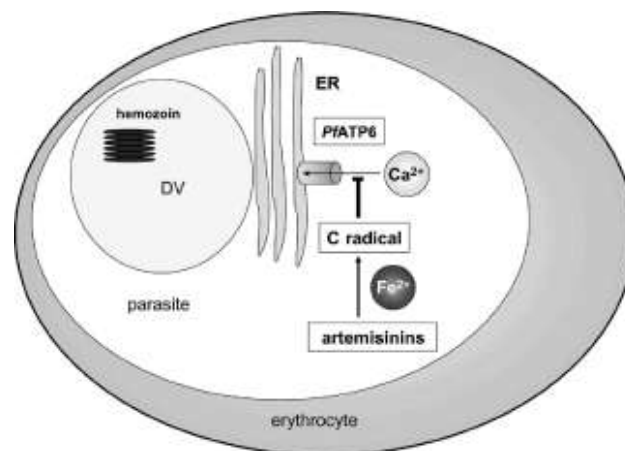


Figure 28: mécanisme de résistance aux artémisinines

De plus, la combinaison des dérivés de l'artémisinine avec des partenaires antipaludiques pour être pertinente ne doit pas être utilisée dans les zones où les partenaires en question sont eux même résistants, et ca coûterait assez cher d'entamer une lutte dans ce sens. Plus encore, la propagation de la multirésistance en particulier à *P. falciparum*, est responsable de la majorité des décès et des formes les plus sévères de la maladie, y compris le paludisme cérébral, alors que seuls des cas sporadiques de résistance ont été signalés dans le paludisme à *P. vivax*.

## Deuxième Partie

### Les nouvelles cibles du paludisme

# INTRODUCTION

Malgré les efforts déployés pour la découverte de nouveaux médicaments antipaludiques et la mise en place effective par les systèmes de santé de combinaisons thérapeutiques pour le traitement antipaludique, *P. falciparum* s'adapte en permanence et développe bon nombre de résistances. Ceci s'explique d'abord par la grande diversité génétique de *P. falciparum* due à un taux élevé de mutations dans son génome et par les masses très importantes de parasites portées par les individus infectés. Même si les mutations capables de conférer une résistance à un nouveau médicament sont extrêmement rares et peu probables, le nombre élevé de parasites pouvant infecter l'homme fait que ces mutations finissent par apparaître et par être sélectionnées par la pression médicamenteuse. Les erreurs de réplication de l'ADN dans les cellules introduisent des mutations au hasard dans le génome et permettent le processus d'évolution. Ces mutations sont à l'origine de la grande variabilité génétique de *P. falciparum* et lorsque celles-ci ne sont ni létales pour le parasite, ni silencieuses, elles peuvent dans certains cas avantager sa survie en lui permettant par exemple d'échapper au système immunitaire de son hôte, de supporter la présence de molécules toxiques dans son environnement ou de se multiplier plus rapidement que d'autres clones. Certaines mutations permettent au parasite de survivre en présence d'un antipaludique, qui devient donc résistant. La mutation est ensuite transmise à ses descendants, générant ainsi une population capable de résister à une molécule. La fréquence des mutations et la vitesse à laquelle les résistances se développent dépendent des caractéristiques de la molécule utilisée, du contexte épidémiologique (intensité de la transmission) et de la façon dont les médicaments sont utilisés. Il est cependant à noter que l'acquisition de la résistance est liée à :

- Une mauvaise utilisation des antipaludiques par les individus infectés (automédications abusives, mauvaise observance) conduisant à des traitements incomplets),
- Une indisponibilité des médicaments efficaces ou le déploiement inadéquat des médicaments sous forme de monothérapies,
- la consommation de contrefaçons sous dosées, facteurs permettant à des parasites viables de survivre à des concentrations suboptimales d'antipaludiques et d'être sélectionnés pour leur aptitude à résister.

La connaissance des mécanismes de résistance permet d'identifier les cibles de nouveaux antipaludiques et enfin d'identifier des marqueurs moléculaires pour la surveillance de la résistance aux antipaludiques ainsi que le développement de nouvelles molécules. Parmi ces molécules on note les analogues des familles



actuellement utilisées en thérapie palustre et des molécules appartenant à de nouvelles familles ciblées dans la prise en charge du paludisme.

## 1. LES ANALOGUES DES 4-AMINOQUINOLEINES

Les composés quinoléiques actifs sur les souches résistantes à la chloroquine ont tendance à être de caractère lipophile (62), bien que la base moléculaire de ce phénomène ne soit pas comprise. Trois types modifications structurales sont capables de surmonter la résistance à la chloroquine :

- l'allongement, ou plus important encore, le raccourcissement de la chaîne latérale diaminoalkyle;
- l'introduction de groupements aromatiques lipophiles dans la chaîne latérale,
- la dimérisation de deux 4-aminoquinoléines par un segment de liaison de longueur et de nature variable.

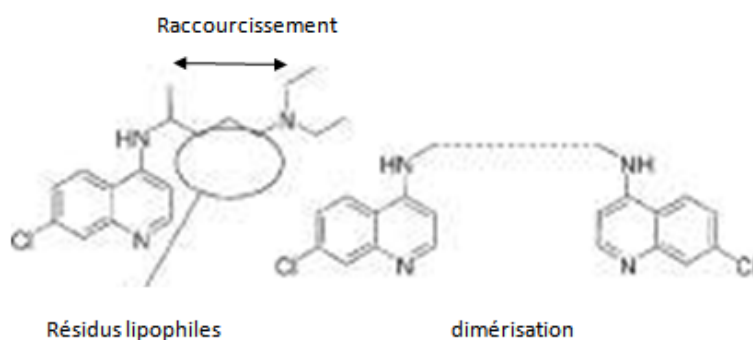


Figure 29 : Modifications de la chloroquine pour vaincre la résistance

Il faudra veiller à éviter l'oxydation en quinonimines toxiques à laquelle sont exposées les amino4quinoléines en général.

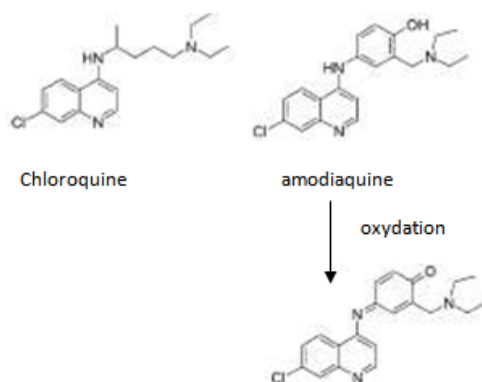


Figure 30 : Oxydation des amino4quinoléines

## 1.2 Les analogues à chaînes latérales raccourcies

La synthèse d'une série de dérivés de la chloroquine de courte chaîne (63) après le remplacement de la fonction diéthylamino avec des groupements métaboliquement plus stables sur les chaînes latérales, comme le tert-butyle, pipéridyle, ou pyrrolidino, a conduit à une augmentation substantielle de l'activité antipaludique.

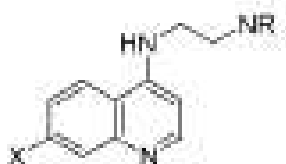


Figure 31: Structure de base des analogues a chaîne latérale raccourcie

Le AQ13 (CI<sub>50</sub> = 59nM contre 315 nM pour la chloroquine), présente les mêmes effets néfastes que la chloroquine (CQ), et parvient au profil pharmacologique de la CQ à des doses plus élevées (64). Il reste actif contre les souches chloroquino-résistantes, mais plus toxique que la chloroquine à dose élevée, en plus des phénomènes de résistance croisée. Il peut subir une désalkylation oxydative aboutissant à des dérivés inactifs (65).

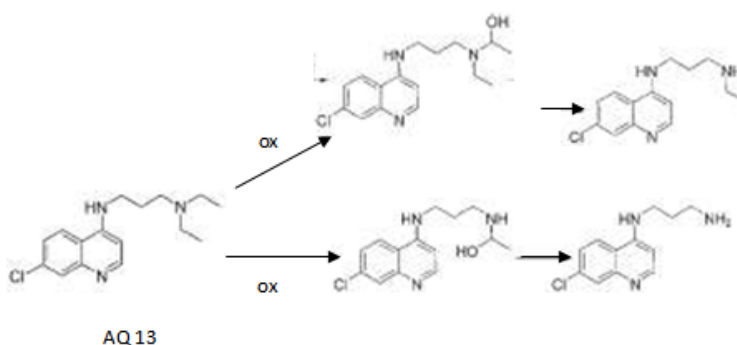


Figure 32 : AQ 13 et sa désalkylation oxydative

La capacité de ces analogues à s'accumuler à des concentrations plus élevées au sein de la vacuole alimentaire du parasite s'est avérée être un paramètre important dans l'accroissement de leur potentialité. Le dérivé F2Bu, dans lequel le résidu diéthylamino est remplacé par un groupe tertbutylamino est plus stable (66).

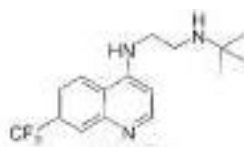


Figure 33 : F2Bu

### 1.3 Les analogues à groupements aromatiques

Ces composés sont des analogues de l'amodiaquine, qui diffère de la chloroquine par la présence d'une chaîne latérale base de mannich contenant un noyau aromatique p-hydroxyanilino. La présence de noyaux aromatiques au niveau de la chaîne latérale les rend davantage liposolubles.

#### 1.3.1 l'isoquine et ses dérivés

Afin d'éviter la formation de quinonimines toxiques, l'isoquine un analogue de l'amodiaquine par remplacement des groupes dihydroxy du phenyl par le diéthylaminométhyle, a été synthétisée. Elle est plus active que la méfloquine sur les souches résistantes à la CQ (67). Elle a une excellente  $CI_{50}$  de 6,01 nM contre la souche K1 de *P. falciparum* et également une excellente activité par voie orale *in vivo* avec une  $DE_{50}$  de 1,6 et 3,7 mg / kg contre la souche NS de *P. yoelii*, comparativement à 7,9 et 7,4 mg / kg pour l'amodiaquine (AQ). L'isoquine est une 4-anilinoquinoléine de deuxième génération ne subissant pas une bioactivation *in vivo* comme en témoignent ces études sur le métabolisme du rat. Mais il a fallu empêcher la biotransformation rapide, par la substitution du diéthylamino par un tertbutylamino aboutissant à la tertbutylisoquine (68) (GSK369796) obtenue en deux étapes à partir de matières premières bon marché et facilement disponibles. La substitution de l'hydroxyle par un groupement amino augmente l'indice de sélectivité et diminue la cytotoxicité (69). Le remplacement de la fonction hydroxy du phénol par un fluor a conduit à la fluoroamodiaquine (FAQ4) (70) dont le développement a été interrompu.

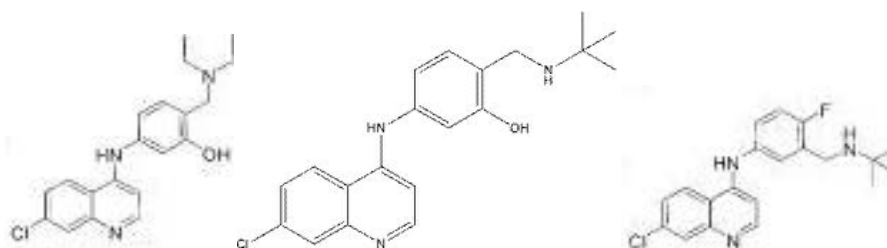


Figure 34 : Isoquine

tertbutylisoquine

FAQ 4

### 1.3.2 Les dimères des 4-amino-quinoléines et les tris-et Tetraquinoléines

Les bisquinoléines par leur encombrement stérique ne peuvent se lier au site de liaison du substrat PfDRT responsable de la résistance, et du fait de leurs quatre charges positives, elles s'accumulent davantage dans la vacuole acide. Le chef de file pipéraquline (1960) est encore efficace en Afrique (car d'utilisation faible), car partout où elle a été fortement utilisée des résistances se sont développées. Elles sont constituées de deux quinoléines reliées par un segment de liaison de structure et de longueur variable, et inhibent la croissance des parasites chloroquinosensibles et résistants avec une efficacité similaire. Vue la toxicité globale des bisquinoléines, d'autres études sont nécessaires pour développer des analogues non toxiques et des composés bisquinoléines plus puissants. Sur la base d'observations, Vennestrom et al (71) ont synthétisé une série de bisquinoléines analogues, et le développement du composé le plus efficace de la série WR 268668 malgré sa puissante activité *in vivo*, a été empêché à cause de sa phototoxicité.

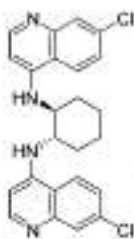


Figure 35: WR 268668

Afin de surmonter la cytotoxicité présentée par les bisquinoléines, Sergheraert et al. ont synthétisé une série de sulfonamides (72) et une série d'inhibiteurs de métallo-aminopeptidases (73) de zinc basées sur la chloroquine, portant un lien pipérazine commun. L'analogue A le plus efficace (R = 4,5-dibromothienyl<sup>2</sup>), ayant une activité 100 fois supérieure à la chloroquine après évaluation par fluorescence microscopique du dérivé fluorescent sulfonamide indique que le site d'action dans le parasite est différent de celui de la chloroquine. Dans une autre extension, Sergheraert et al. (74) ont synthétisé plusieurs séries de N1-(7-chloro-4-quinolyle) -1,4-bis (3-aminopropyl) pipérazine dans l'espoir d'améliorer le rapport activité / cytotoxicité. Les deux composés les plus efficaces de la série B (X = CH<sub>2</sub>) et B (X = CO) ont affichés une amélioration remarquable de l'activité antipaludique. Le composé B (X = CH<sub>2</sub>) de CI<sub>50</sub> égale à 8,8 nM/ par rapport à 126 nM pour la chloroquine (74) a affiché un indice de sélectivité plus élevée (CC<sub>50</sub>/CI<sub>50</sub>), entraînant la guérison de toutes les souris *in*

*vivo* à une dose de 20 mg / kg dans un lot de souris infectées par *P. berghei*. D'autre part, le composé B (X = CO) encore plus puissant avec une  $CI_{50}$  de 6,5 nM et un profil de cytotoxicité nettement amélioré, a affiché un indice de sélectivité 4,6 fois supérieur à B (X = CH<sub>2</sub>) et de 5,3 supérieur à celui de la chloroquine.

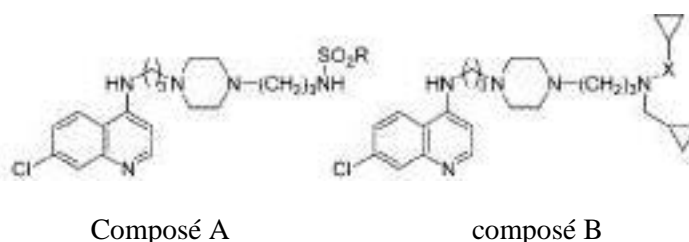


Figure 36: les composés analogues A et B

Dans le but de maintenir à la fois l'encombrement stérique et la réduction des degrés de liberté, tout en introduisant des accepteurs de protons et / ou des sites de substitution Girault et al. (75) ont conçu et synthétisés de nouvelles bis-, tris-, et tetraquinoléines 19-20, dans lesquelles le groupement 4 -amino est attaché à des tri-, et tétrazamacrocycles (cyclams).

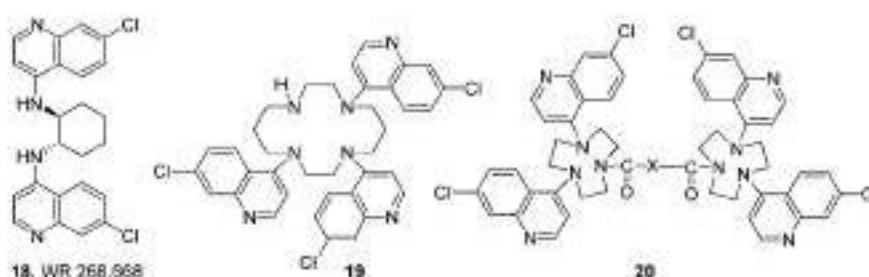
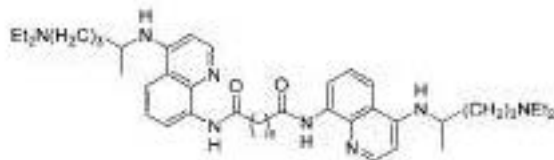


Figure 37 : Autres composés biologiquement actifs bis-, tris-, tetraquinoléines.

Une augmentation de la rigidité par cyclisation a abouti à des molécules qui ne sont pas plus actives que leurs homologues linéaires, mais qui diffèrent par l'absence d'effets cytotoxiques. Tandis que les tétraquinoléines sont jugées très efficaces contre les souches chloroquino-résistantes mais également, non-cytotoxiques contre les cellules de mammifères. Raynes et al. (76) ont préparés une série de bisquinoléines bisamides et le composé le plus efficace C (n = 4) a eu une  $CI_{50}$  de 100 nM / g contre *P. falciparum in vitro*. La biologie de tous les composés synthétisés a indiqué qu'ils ont une bonne activité contre des souches résistantes et composé le plus efficace

C (n = 4) montrait une activité de l'ordre de 120 nM. La position et la longueur de la chaîne latérale de liaison à nettement affectée l'activité.



Le composé C

Figure 38 : bisquinoléines bisamides

Deady et al. (77) ont encore étendu ce travail et synthétisé une série de bisquinoléines chloroquine (composé D) avec un lien hydrocarboné en position 2. La longueur de la liaison faisait varier l'activité et le composé le plus actif D (n = 12) a été décrit comme étant plus actif contre la souche résistante à la chloroquine [ $CI_{50}$  = 17 nM (souche K1); 43 nM (souche D10)], bien supérieur à la chloroquine ( $CI_{50}$  = 540 nM) et d'activité améliorée par rapport à la méfloquine ( $CI_{50}$  = 30 nM). Ce composé D a également été décrit comme inhibant la formation de la b-hématine avec une efficacité similaire à celle de la chloroquine.

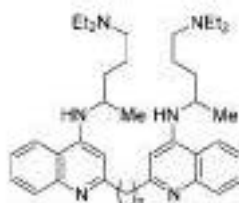


Figure 39 : Structure du composé D

### 1.3.3 La tebuquine

L'étude de la tébuquine malgré sa bonne lipophilie, a été interrompue du fait de sa toxicité pour les globules blancs. Il a été montré que la substitution du fluor au niveau du groupe hydroxyle bloque la conversion métabolique de l'amodiaquine en dérivés imine arylés (78). Cependant, cette substitution entraîne une diminution de l'activité antipaludique en raison d'une baisse du niveau d'accumulation du médicament (79).

Ces données suggèrent que la combinaison de la liaison plus une accumulation efficace est nécessaire pour une activité antipaludique appropriée.

### 1.3.4 Les azacrines

Après le succès de la pyronaridine, une série de mono-et di-, bras latéraux de base de Mannich, ont été fixés à des systèmes quinoléiques cycliques (80). Ces quinoléines bases de Mannich ont montrés une bonne activité antipaludique *in vitro*. Les composés les plus puissants étaient moins toxiques que la chloroquine chez la souris (81), avec une puissante activité *ex vivo* contre *P. falciparum* (82). Ces résultats encouragent des recherches plus approfondies.

### 1.3.5 Activité antipaludique des dérivés pyrrolizidinyl des 4-aminoquinoléines

L'équipe de Anna Sparatore et al, en association avec le département de santé publique de microbiologie, et de virologie de l'institut de chimie et de toxicologie Pietro Prates de l'université de Milan a menée une étude. Ils ont mis en évidence le fait que les groupements volumineux bicycliques des analogues quinolizidines de la quinine et de la quinacrine sont efficaces *in vitro* et *in vivo* (per os et ip), contre la désalkylation métabolique oxydative (diminuant la liposolubilité). Cette dernière est à l'origine des phénomènes de résistance à la chloroquine, et de la résistance croisée (83).

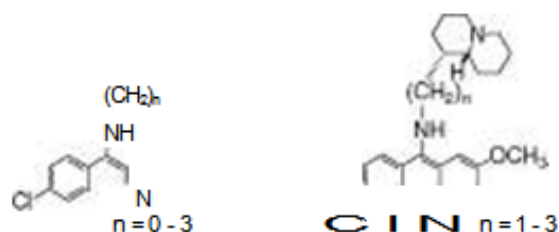


Figure 40 : Structure des analogues quinolizidine de la chloroquine et de la quinacrine

Sur cette base, ils ont synthétisés deux nouveaux analogues de la chloroquine (MG2 et MG3), dans lesquels le groupe amino de la quinoléine est lié à un fragment pyrrolizidinylalkyl ((hexa -hydro-1H-pyrroliziny17) alkyl).

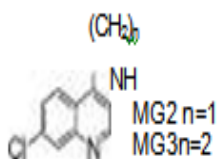


Figure 41 : Structures des dérivés pyrrolizidinylalkyl des 4-amino-7-chloroquinoléine



Ces composés ont présentés les même avantages que les quinolizidines, et de plus le noyau 7a-pyrrolizidine substitué existe dans bon nombre de substances biologiquement actives comme la pilsicainide (84), les activateurs de la fonction cérébrale (85), les muscariniques M, les agonistes des récepteurs de la sérotonine 5-HT<sub>4</sub>, et les agents gastro-intestinaux procinétiques (86). Ces composés sont synthétisés par action de la hexa-hydro-1H-7apyrrolizinyll alkylamine appropriée avec des phénols suivi d'une réduction avec LiAlH<sub>4</sub> et d'une cyclisation avec NH<sub>3</sub> et l'acide cyanoacétique (87).

### 1.3.5.1 Les études *in vitro* et *in vivo*

MG2 et MG3 ont été testés contre les souches chloroquino-sensibles (D-10 et NF-54) et résistantes (W-2 et K1) de *Plasmodium falciparum*. Un certains nombre de tests ont été réalisés et les résultats obtenus figurent dans les tableaux suivant :

Tableau II : Activité antipaludique *in vitro*, activité d'inhibition de la b-hématine (test BHIA), et cytotoxicité cellulaire de MG2 et MG3

Activités antipaludiques <i>in vitro</i> , activité inhibitrice de la b-hématine (test BHIA) et cytotoxicité cellulaire de MG2 et MG3								
Compound	D-10 (CQ-S) IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	W-2 (CQ-R) IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	NF-54 (CQ-S) IC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (nM)	K1 (CQ-R) IC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (nM)	BHIA Drug:haem molar equivalent	WEHI 13 IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	HMEC-1 IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	K562 IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)
<b>MG2</b>	5.5	54.7	6.33	19.6	1.66	61,453	>60,000	17,587
<b>MG3</b>	30.6	28.9	10.9	10.6	1.06	24,717	>60,000	18,069
CQ <sup>c</sup>	16.5	293.5		48.5	1,69	>40,000	>40,000	31,828

<sup>a</sup> : Cumul de 3-4 expériences      <sup>b</sup> : cumul de 2 expériences      <sup>c</sup> : sels  
diphosphates  
réalisés en triple

Tableau III : étude de dose unique *in vivo* de MG2 et MG3 sur un model murin<sup>a</sup> de *P. berghei*

Compound	Dose (mg/Kg)	Route	Activity (%)	Mouse survival (days) Avg.
<b>MG2</b>	100	po	98	12.3
<b>MG3</b>	100	po	99.5	13.7
CQ <sup>b</sup>	100	po	99.2	14.7
<b>MG2</b>	30	sc	99.1	8.7
<b>MG3</b>	30	sc	99.7	10.3
CQ <sup>b</sup>	30	sc	99.2	9.7
Controls				7.0

<sup>a</sup> Groups of three *P. berghei*-infected NMRI mice were treated 1-day post-infection with compounds formulated in 70/30 Tween 80/ethanol and diluted IOx with water before administration. Antimalarial efficacy was measured by percent reduction in parasitemia on day 3 post-infection and animal survival time was compared to untreated control groups (n = 5).

<sup>b</sup> Diphosphate salt.

Tableau IV : résultat d'une étude d'administrations *in vivo* sur 4 jours, de MG2 et MG3 dans un modèle murin<sup>a</sup> de *P. berghei*

Compound	Dose (mg/kg): 4x	Route	Activity (%)	Mouse survival (days)
				Avg.
<b>MG2</b>	30	po	>99.9	30.0 (3/3 mice cured <sup>b</sup> )
	10	po	>99.9	14.7
<b>MG3</b>	30	po	>99.9	25 (2/3 mice cured)
	10	po	>99.9	25.7 (2/3 mice cured)
CQ <sup>c</sup>	30	po	>99.9	30 (3/3 mice cured)
	10	po	99.9	22.3
<b>MG2</b>	10	sc	>99.9	15.3
	3	3sc	94	9.3
<b>MG3</b>	10	ce	>99.9	29.3 (2/3 mice cured)
	3	3sc	96	7.3
CQ <sup>c</sup>	10	sc	>99.9	15.7
	3	3sc	99.8	9.3
Controls				7.0

<sup>a</sup> Groups of three *P. berghei*-infected NMRI mice were treated 1 day post-infection with compounds formulated in 70/30 Tween 80/ethanol and diluted 10x with water before administration. Antimalarial efficacy was measured by percent reduction in parasitemia on day 4 post-infection and animal survival time was compared to untreated control groups (n = 5).

<sup>b</sup> Mice cured : no parasites present at day 30. Parasitemia was checked by microscopy.

<sup>c</sup> Diphosphate salt

Tableau V : toxicité et variation du poids corporel des souris après une administration ip de MG 3

Dose (mg/kg)	No. of mice	No. of surviving mice	Mean body weight (g)				
			Initial	After 5 days	% Variation	After 13 days	% Variation
150		2 <sup>a</sup>	29.5	33.30	+12.9	36.25	+22.9
100		4 <sup>b</sup>	29.4	32.45	+10.1	36.03	+22.2
50		4 <sup>c</sup>	29.9	32.38	+8.3	36.12	+20.8
Control		4	32.7	34.36	+5.1	38.40	+17.5

<sup>a</sup> Two mice died within 5-10 min; the survivors exhibited shivering and torpor but they recovered in the following 2 h. <sup>b</sup> Exhibited sluggishness, recovering before 2 h. <sup>c</sup> Asymptomatic.

### 1.3.5.2 Les résultats

- les dérivés pyrrolizidinylalkyl des 4-amino-7-chloroquinoléine MG2 et MG3 ont présentés une cytotoxicité faible et comparable à la chloroquine sur les cellules de souris et humaines. MG3 dans les études *in vivo* est toléré jusqu'à 100 mg / kg.
- MG2 et MG3 ont eu une excellente activité *in vitro* contre les souches chloroquino-sensibles et résistantes de *Pf* et *in vivo* contre *P. berghei*. Ainsi, le groupement bicyclique pyrrolizidine comme pour la quinolizidine, s'est caractérisé comme s'opposant aux mécanismes de résistance de *Pf*.

Ces éléments additionnés, à l'absence de centres chiraux, au faible coût des produits nécessaires à la synthèse et au fait que le MG3 soit le composé le plus actif, font du MG3 un candidat médicament prometteur dans la lutte antipaludique.

### 1.3.6 Les associations

Le fait que les monothérapies posent problème, a mené à l'obtention de molécules combinées ayant des sites d'action différents au niveau du parasite.

Parmi les combinaisons obtenues en thérapie palustre d'efficacité notable, on peut citer :

- artémisinine -Naphthoquine
- Pipéraquine -Dihydroartémisinine
- Pyronaridine – Artésunate
- Dapsone-chlorproguanil-artésunate

#### 1.3.6.1 Artemisinine -naphthoquine

La combinaison artémisinine-Naphthoquine (de structure très proche de l'amodiaquine) est sûre et efficace (88).

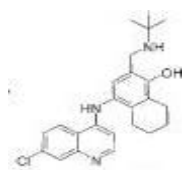


Figure 42 : la naphthoquine

#### 1.3.6.2 Pipéraquine / Dihydroartémisinine

La pipéraquine a développée une résistance dans toutes les zones où elle a été largement utilisée (89). Comme ce n'est pas le cas en Afrique où elle est encore sensible (90), combinée à la DHA elle est efficace et bien tolérée (91). Son efficacité est supérieure à celle de la combinaison artésunate-amodiaquine (92). Cependant, prudence est de mise car, elle est responsable d'une augmentation de la pression artérielle et un échantillon de résistance à la chloroquine aurait été découvert (93).

#### 1.3.6.3 Pyronaridine / Artésunate

C'est une base de Mannich développée en Chine, qui a enregistré des phénomènes de recrudescence et de résistance élevée. Elle est cependant très active en Afrique sur les souches résistantes (94) à la chloroquine car jusqu'en 2008 elle n'était pas utilisée en thérapie (95). La combinaison avec l'artésunate était

en phase clinique III en 2006 et une forme intraveineuse pour le paludisme grave doit être développée (96).

#### 1.3.6.4 Dapson / Chlorproguanil / Artésunate

Comme il a été indiqué ci-dessus, l'activité clinique pertinente de la dapson / chlorproguanil ne peut être attendue contre les parasites porteurs du gène DHFR triple mutant. Il est à craindre que la mutation quadruple déjà retrouvée dans 67% des isolats asiatiques du Sud-Est (97) se propage encore une fois dans les zones où dapson/chlorproguanil est largement utilisée (98). Pour étendre sa durée de vie utile d'utilisation, une combinaison triple fixe avec l'artésunate (99) (CDA), nommé Lapdap +, est en développement clinique. Dans une étude clinique de phase II, CDA a révélé une très courte période d'élimination comparativement à la combinaison dapson / chlorproguanil (100).

### 1.4 Les inverseurs de résistance à la chloroquine : les agents chimiosensibilisants

Une stratégie intéressante pour contrer la résistance à la chloroquine implique la potentialisation de ses effets en utilisant des composés ayant une activité antipaludique faible. Ceci a conduit à l'évaluation biologique de divers inhibiteurs calciques (101), antidépresseurs (102), antihistaminiques (103) et oligomères de prostaglandines (104) qui ont dû être abandonnés car uniquement efficaces *in vitro*. De plus, la dose efficace de ces composés en tant qu'agents d'inversion de la résistance (ou chemosensitizers) est généralement proche ou supérieur à la dose thérapeutique pour d'autres applications cliniques. Guan et al. (105) ont conçu et synthétisé une série de nouveaux agents d'inversion de la résistance à la chloroquine de *P. falciparum*, qui comprennent les dérivés appartenant à des familles tels : les phénothiazines, les iminodibenzyles, les iminostilbènes, et les diphenylamines avec une longueur de chaîne latérale allant de quatre et six atomes de carbone.

#### 1.4.1 De la famille des phénothiazines

Divers groupes amino tertiaires (même non cycliques) et des amines aliphatiques, ont été introduits pour explorer la tolérance stérique en fin de chaîne latérale.

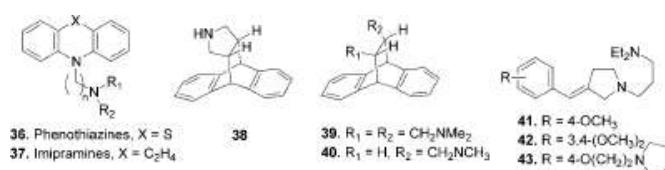


Figure 43 : Les agents d'inversion de la résistance à la chloroquine.

Les composés 36-37 ont montré une meilleure inversion de résistance à la chloroquine qu'à la méfloquine. Les études ont révélé que l'allongement de la chaîne latérale alkyle de la molécule diminue l'activité chimiosensibilisante, et les analogues à chaînes latérales de quatre carbones présentent une activité supérieure. En outre, les nouveaux modulateurs à anneau phénothiazine montrent une meilleure activité d'inversion que les quatre autres systèmes cycliques. Le meilleur modulateur (composé 36) a une concentration inhibitrice fractionnée (FIC) de 0,21, laquelle est supérieure à celle du meilleur agent d'inversion connu : le vérapamil (0,51).

#### 1.4.2 De la famille des anthracenes

Bitonti et al. ont constaté que le 9-g-méthylaminopropyl-9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracene ou maprotiline était active sur *P. falciparum* (102). Les composés 38-40 plus puissants que le vérapamil et la prométhazine, ont été moins cytotoxiques (sauf le 40). L'activité d'inversion de résistance est sous l'influence : du groupe amino, de la nature du groupe associé à l'amine, et de la longueur de la chaîne portant les fonctions. Il a été constaté que les amines secondaires (38 et 40), sont généralement plus actives que les amines primaires et quaternaires.

#### 1.4.3 De la famille des pyrrolidines

Bhaduri et al. ont signalé un dérivé pyrrolidinoaminoalcane (CDRI 87/209), comme agent d'inversion de la résistance à la chloroquine à la fois *in vitro* et *in vivo*. A la recherche de nouvelles structures moléculaires, ils ont synthétisé des composés analogues à CDRI 87/209 pour apporter une rotation restreinte autour de la position 3 de la pyrrolidine, dans le but d'évaluer l'activité biologique. Cela a conduit à la synthèse et l'évaluation de la pyrrolidine 1 - (30-diéthylaminopropyle)-3-(substitué phénylméthylène) comme agent d'inversion (103). Parmi les composés examinés *in vitro*, les composés 41-43 ont été de bons inhibiteurs de l'hème oxygénase, mais seul le composé 41 a inhibé en plus l'enzyme d'accueil de l'hôte. Sur la base de ces observations le composé 41 a été choisi pour l'évaluation *in vivo* détaillée de l'activité d'inversion résistance de la chloroquine. Le mode d'action possible du composé 41 se rapporte à l'hème ou à la voie de dégradation de l'hémozoïne et plus particulièrement à l'hème oxygénase du parasite résistant à la chloroquine augmentant ainsi la concentration de l'hème dans la vacuole alimentaire.



### 1.5.1 Les analogues des amino4quinoléines de la famille des guanidines (109)

Des études récentes ont mis en évidence le fait que les analogues proches de la chloroquine et leurs dérivés sont actifs sur les souches chloroquino-résistantes, amenant à penser que la résistance est spécifique à la drogue. Ainsi V. Raja Solomon et al. de concert avec des instituts de recherche, ont conçu des composés dans lesquels le groupement amino est modifié : les 4-aminoquinoléines guanidines.

#### Relations structure- activité

La modification de la longueur de la chaîne a permis l'obtention de dérivés actifs sur les souches CQ- résistantes *in vitro*. Leur action *in vivo* a été inférieure à celle de la chloroquine (6a) résultat de la N-désalkylation en milieux biologiques. D'où l'introduction du tertbutoxycarboxyle (Boc), des fragments guanyle, et tétramethylguanyle au niveau du groupe amino de la chaîne latérale des 4-aminoquinoléines.

Tableau VI : données biologiques et biophysiques de certains composés

C. No.	MIC (IM)	LogP	pKa1	pKa2	VAR	CAR	LogKa	IC <sub>50</sub> <sup>b</sup>
3a	9.02	1.63	7.85	±0.08	62882.12	2012.23	5.99 ±0.01	0.23 ± 0.08
4a	1.08	3.59	c	c	c	c	c	c
5a	6.66	1.33	8.00	13.83	63095.70	2019.06	0.35 ±0.02	5.56 ±0.02
6a	21.50	2.15	8.53	16.28	63095.73	2019.06	5.70 ± 0.04	1.00 ±0.05
7a	6.21	3.18	c	c	c	c	c	c
3b	4.24	2.17	8.03	10.00	62900.20	2012.81	6.02 ± 0.05	0.46 ±0.15
4b	1.05	4.12	c	c	c	c	c	c
5b	31.83	1.86	8.18	18.13	63095.71	2019.06	6.32 ±0.01	0.49 ± 0.03
6b	20.84	2.69	8.71	16.32	63095.73	2019.06	1.23 ± 0.02	7.26 ±0.02
7b	2.98	3.72	c	c	c	c	c	c
3c	8.49	1.99	8.08	10.15	62984.20	2015.49	6.24 ± 0.03	0.50 ± 0.06
4c	1.05	3.94	c	c	c	c	c	c
5c	6.36	1.68	8.23	14.00	63095.72	2019.06	6.04 ± 0.01	0.69 ± 0.05
6c	104.20	2.52	8.23	16.10	63095.73	2019.06	6.48 ± 0.02	0.02 0.86
7c	5.96	3.54	c	c	c	c	c	c
3d	8.00	2.50	8.76	10.15	62979.32	2015.34	6.45 ± 0.02	0.51 ±0.11
4d	1.02	4.45	c	c	c	c	c	c
5d	6.09	2.19	8.76	14.00	63095.72	2019.06	7.14 ±0.03	0.62 ± 0.02
6d	20.25	3.02	8.76	16.42	63095.73	2019.06	7.65 ± 0.04	1.19 ±0.07

are expressed as means ± SD from at least three

to inhibit b-hematin formation by 50% (data

7d	1.42	4.05	c	c	c	c	c	c
CQ	0.39	4.72	8.41	10.27	63002.78	2016.08	0.17 ± 0.02	5.52 ±0.02

<sup>a</sup> 1:1 complex formation in 40% aqueous DMSO, 20 mM HEPES buffer, pH 7.5 at 25 °C (data different experiments in duplicate). <sup>b</sup>

The IC<sub>50</sub> represents the millimolar equivalents of test compounds, relative to hemin, required expressed as means ± SD from at least three different experiments in duplicate). <sup>0</sup> The values not determined.

Les tests *in vitro* ont été réalisés avec la souche CQ-sensible NF-54 de *P. falciparum* (tableau 5). Et il est apparu que plus la chaîne latérale est longue, plus actifs sont les composés (4d, 5d, 6d, 7d) à 4 carbones supérieurs à (4c, 5c, 6c, 7c à 3) carbones supérieurs à (4a, 4b, 5a, 5b, 6a, 6b, 7a, 7b) à 2 carbones.

La protonation des composés à l'intérieur de la membrane est nécessaire pour une meilleure accumulation (résultat de l'activité antipaludique) et pour éviter leur extrusion. Cette accumulation est liée au pKa, dont les valeurs doivent être de l'ordre de 8,41 (pKa1) et 10,27 (pKa2) pour une activité maximale. C'est l'avantage précisément rencontré avec le groupement hydrophobe protecteur : tert-butoxycarboxyle (Boc) des dérivés boc protégés des 4-aminoquinoléines (7a-d) et des 4-aminoquinoléines guanidines (4a-d). Ils diffusent rapidement et librement sans être protonés à l'extérieur de la membrane du plasmodium et ne subissent la protonation qu'après leur libération à l'intérieur de la membrane. La guanidine biologiquement présente à un caractère fortement basique (pKa des ions guanidinium environ de 13,5). Elle est donc entièrement protonée dans les conditions physiologiques d'où la protection des dérivés synthétisés guanyles (5a-d) et tetraméthylguanyles (6a-d).

Les données spectrales (UV) ont montré que les dérivés guanidines forment un complexe avec le fer III et inhibent la formation concentration-dépendante de la b-hématine (tableau 5).

Les analogues les plus efficaces (4d, 5d, 6d, 5c) ont passés les tests *in vivo* sur une souche CQ-résistante N-67 de *P. yoelii* chez des souris suisses à 30,0 mg / kg par voie intrapéritonéale.

Tableau VII. Activité antipaludique *in vivo* contre la souche CQ-résistante N-67

C. No.	% Suppression on day 4 <sup>a</sup>	Mean survival time (MST in days) ± SE <sup>b</sup>
4d	76.08	15.80 ± 1.24
5d	88.98	14.80 ± 1.77
6d	73.92	14.67 ± 1.76
5c	56.72	16.00 ± 1.92
CQ	100.00	All animals survived
Control	—	13.20 ± 1.07

<sup>a</sup> Percent suppression = [(C—T)/C] x 100; where C = parasitaemia in control group, and T= parasitaemia in treated group.

<sup>b</sup> MST calculated for the mice which died during 28-day observation period and the mice which survived beyond 28 days are excluded

Même si l'activité *in vivo* a été moindre par rapport à la chloroquine (avec une activité *in vitro* satisfaisante), des modifications stratégiques au niveau du groupement amino de la chaîne latérale de la fraction 4-aminoquinoléine



peuvent l'améliorer. Les résultats offrent l'avantage de confirmer l'importance du respect de l'ordre des valeurs du pKa (8,41 pour le pKa1) et 10,27 pour le pKa2), et confirment le mécanisme d'action de l'activité globale antipaludique de cette classe de composés.

### 1.5.2 Les analogues de l'amodiaquine

L'amodiaquine est un antipaludique alternatif efficace contre les souches résistantes à la chloroquine qui malgré sa myélotoxicité (110), son hépatotoxicité (111) et ses cas d'agranulocytoses (112) demeure recommandée par l'OMS en association avec l'artémisine ou la sulfadoxine-pyriméthamine. Sa toxicité est due à la présence du fragment 4-hydroxyanilino qui subit une métabolisation en quinonéimine toxique (113). L'amodiaquine tout comme les 4-aminoquinoléines se lie à l'hème (114) et sa conformation active nécessite une liaison hydrogène intramoléculaire (115) à l'origine des composés fluorés (116) de l'isoquine et de son analogue IsQetBu (117).

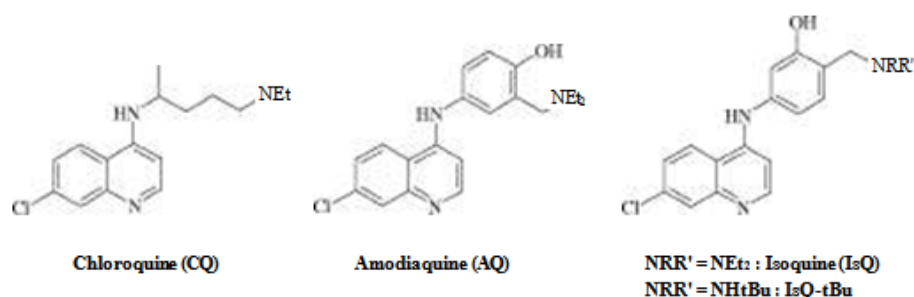


Figure 47 : les analogues de l'amodiaquine

Vu son intérêt en thérapie (118) on comprend le désir de trouver des analogues encore plus actifs, l'équipe de Sandrine Delarue-Cochin de Lille a évaluée l'influence précise du groupement 4-phénolique de l'amodiaquine sur l'activité et la toxicité. Des analogues ont été évalués pour leur activité et leur cytotoxicité sur les cellules MRC -5 :

- les dérivés 5 et 6 vu l'importance admise de l' amino en position 5 (119) ;
- les isomères 2 -, 5 - et 6-hydroxy (composés 1, 4 et 2, ) dans lesquels le diéthylamino reste en position 3,
- et à titre comparatif ; la deoxo-amodiaquine 3 [120] ainsi que l'isomère isoquine de l'amodiaquine [121]

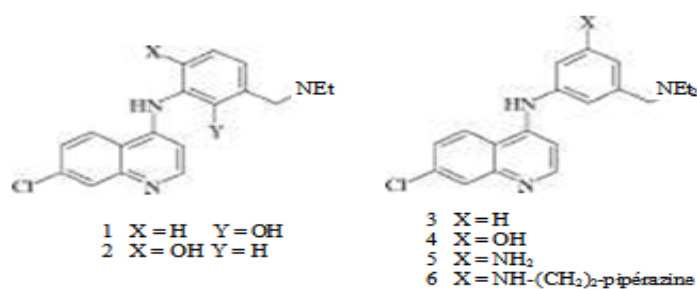


Figure 48 : structure générale des composés 1-6

### 1.5.2.1 les synthèses

Les composés 1 (122) et 2 sont obtenus en deux et quatre étapes avec un rendement globalement faible.

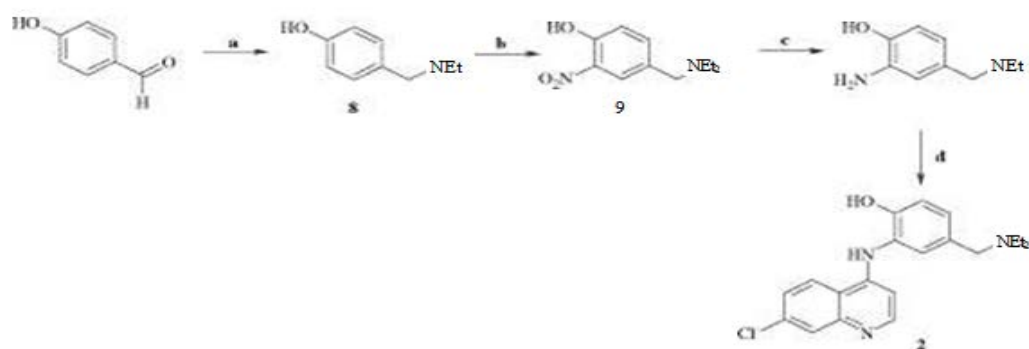
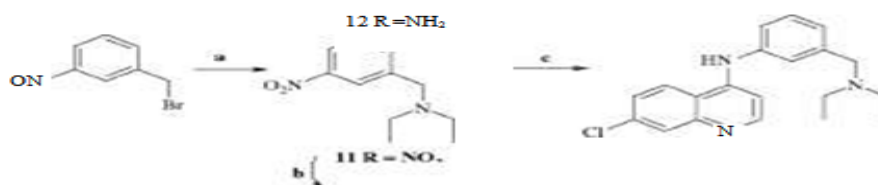


Schéma 1. Synthèse du composé 2. Réactifs: (a) HNEt<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis NaHB (OAc) 3, (b) HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, (c) Fe, HCl, EtOH, (d) 4,7-dichloroquinoléine, EtOH.

Le composé 3 est préparé en trois étapes



Schema 2 : Synthèse du composé 3. Réactifs: (a) HNEt<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ACN, la température ambiante, (b) SnCl<sub>2</sub>, HCl 1 M, THF, reflux, (c) de 4,7-dichloroquinoléine, HCl 1 M, ACN, reflux.

Le composé 4 préparé en quatre étapes, a le composé 5 (rendement 30%) comme intermédiaire réactionnel :

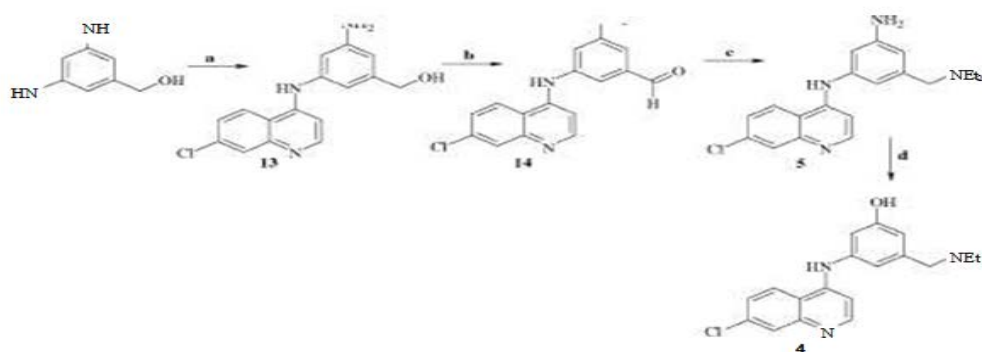


Schéma 3 : Synthèse des composés 4 et 5. Réactifs: (a) 4,7-dichloroquinoléine, N-méthylmorpholine, EtOH/CHCl<sub>3</sub>, (b) MnO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (c) HNEt<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puis NaHB (OAc) 3 (d) NaNO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0 ° C puis 50 ° C.

Le composé 6 est obtenu en trois étapes :

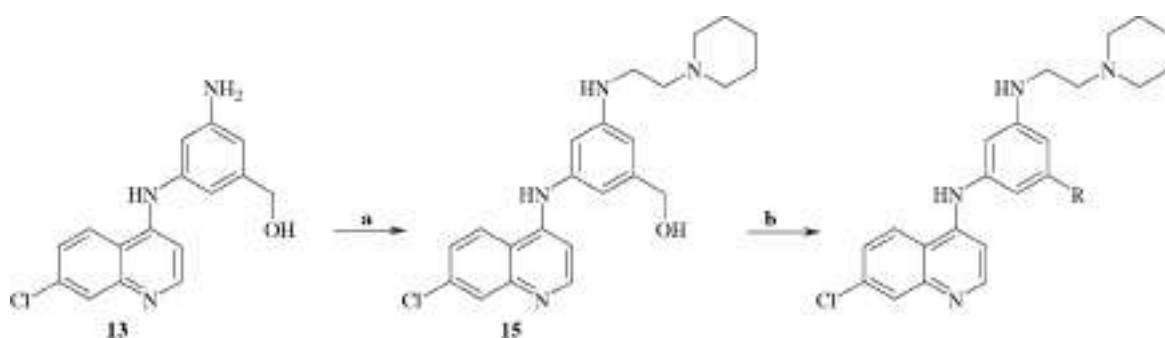


Schéma 4 : Synthèse du composé 6. Réactifs: (a) N-(2-chloroéthyl) pipéridine, le n-pentanol, le reflux, (b) MnO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (c) NaHB (OAc) 3, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Tableau VIII : l'activité antipaludique sur trois souches de *P. falciparum in vitro*, cytotoxicité des composés 1e6 et l'indice de sélectivité contre la souche K1

Compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)			SI <sup>f</sup>	CC <sub>50</sub> <sup>g</sup> (mM) upon MRC-5 cells
	Thai	FcB1R	K1		
CQ	14.3 ± 2.4 <sup>e</sup>	126 ± 26 <sup>n</sup>	183 ± 35 <sup>e</sup>	175	>32
AQ	4.6 ± 0.8 <sup>n</sup>	4.8 ± 0.9 <sup>e</sup>	9.4 ± 1.1 <sup>e</sup>	1276	12
IsQ	4.3 ± 0.5 <sup>e</sup>	5.4 ± 1.2 <sup>b</sup>	7.3 ± 1.0 <sup>e</sup>	1096	8
1	103.5 ± 14.3 <sup>n</sup>	95.2 ± 21.8 <sup>b</sup>	262 ± 20.5 <sup>d</sup>	95	>25
2	15.2 ± 1.9 <sup>n</sup>	15.4 ± 1.8 <sup>b</sup>	32.6 ± 6.1 <sup>d</sup>	583	19
3	13.2 ± 3.0 <sup>n</sup>	15.8 ± 4.6 <sup>c</sup>	17.1 ± 1.0 <sup>d</sup>	731	12.5
4	25.3 ± 1.1 <sup>n</sup>	35.2 ± 9.8 <sup>c</sup>	42.8 ± 6.7 <sup>d</sup>	584	>25
5	16.3 ± 2.1 <sup>n</sup>	18.1 ± 0.8 <sup>b</sup>	32.3 ± 4.2 <sup>d</sup>	774	>25
6	15.6 ± 0.1 <sup>n</sup>	19.1 ± 0.6 <sup>b</sup>	26.5 ± 5.9 <sup>d</sup>	152	4

<sup>a</sup> Parasites were considered resistant to CQ for IC<sub>50</sub> >100 nM. <sup>b</sup> n = 3. <sup>c</sup> n = 4. <sup>d</sup> n = 5. <sup>e</sup> n = 6. <sup>f</sup> Selectivity index towards K1 strain.

<sup>g</sup> CC<sub>50</sub> is the concentration of drug causing 50% cytotoxicity, calculated on the basis of two experiments.

Tableau IX : Inhibition de la polymérisation hème

Composé	CI50 (mM)
CQ	70
AQ	48
5	153

Tableau X : activité antipaludique du composé 5 sur *P. berghei* chez la souris

Compound	Dose (mg/kg)	Reduction (%) of parasitaemia on day 4	Excess MST <sup>a</sup> (%)
CQ	10	100	C <sup>b</sup>
AQ	10	100	C
	20	96	63
	40	100	C

<sup>a</sup> Excess MST is the change in the mean survival time of the treated mice, calculated by comparing the mean survival time of the control mice with the mean survival time of the treated mice.

<sup>b</sup> C for "cured" indicates mice surviving the infection and that can be termed cured definitively.

### 1.5.2.2. Résultats biologiques et discussion

Comparativement à l'amodiaquine qui est déjà plus active que la chloroquine, la plus faible activité a été enregistrée avec le composé 1. Le composé 6 le plus toxique est cependant encourageant il s'agira là de synthétiser des dérivés porteurs d'autres groupes amino en position 5 pour diminuer la toxicité. Le remplacement du OH dans les composé 5 et 6 comme dans le composé 4 par un amino prévoit une augmentation de la sélectivité.

C'est le composé 5 qui de surcroît ne peut pas former une liaison hydrogène intramoléculaire, qui a le meilleur indice de sélectivité envers la souche la plus chloroquino-résistante K1. Il a une très remarquable activité *in vitro* et *in vivo*, qui encourage pour des études approfondies.

## 2. LES ANALOGUES 8-AMINOQUINOLEINES

Il a été spéculé depuis longtemps que les 8-aminoquinoléines ne sont pas actives en tant que telle, mais plutôt, ce sont leurs métabolites qui sont des composés actifs. La primaquine est rapidement métabolisée. Ses deux principaux métabolites commencent à apparaître dans le sang environ 30 min après, dont

l'un d'eux a été identifié comme étant une 8-(3-carboxy-1-méthylpropylamino)-6-méthoxyquinoléine. Mais ces métabolites sont hautement toxiques et sujets à des effets secondaires (50-54) [123].

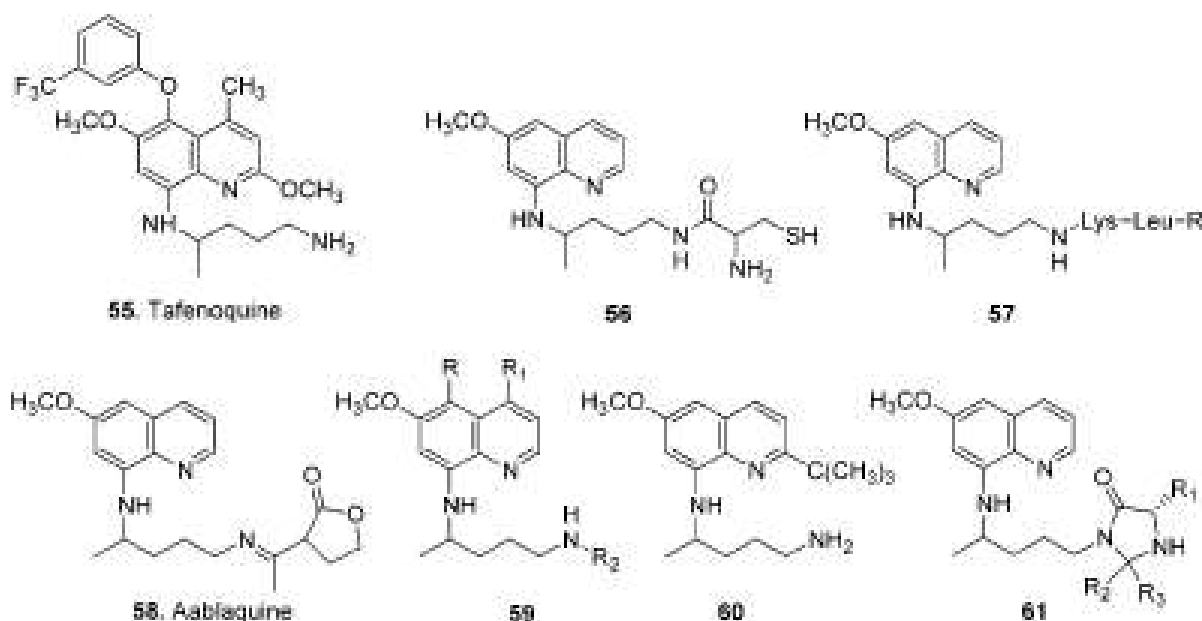


Figure 49 : quelques 8-aminoquinoléines

Après la découverte de la tafénoquine, et malgré les excellents résultats obtenus en termes d'activité *in vitro* et *in vivo* des autres composés découverts (ablaquine, 56, 57, 59) par la suite demeurerait toujours le problème de l'action méthémoglobinisante. Sur la base de ces observations, Jain et al. (124) ont émis l'hypothèse que la mise en place d'un groupement alkyle encombrant métaboliquement stable à la position C-2 du noyau quinoléine dans la primaquine peut produire des analogues avec un effet thérapeutique amélioré. Ceci du fait de leur résistance à la biotransformation en C-2 du noyau quinoléine. La 2-tertbutylprimaquine a été préparée avec une valeur  $CI_{50}$  de 39 ng M, pour bloquer la biotransformation des métabolites actifs de la bulaquine ou elubaquine (125). Elle n'entraîne pas d'augmentation de la méthémoglobine induite par la primaquine est dépourvue de toxicité, et a largement méritée d'accéder à des études précliniques.

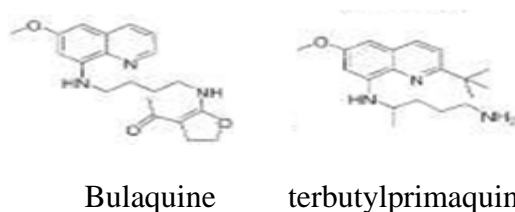


Figure 50 : Bulaquine et tertbutylprimaquine

Il est à noter que Moreira et al. (126) ont décrit des synthèses de dérivés imidazolidin-4-one (127) de la primaquine comme potentiels promédicaments agents doubles gamétocytocides.

Un énantiomère 8-aminoquinoléine NCP1161B (-) a vu le jour en 2006, son énantiomère (+) NCP1161A était méthémoglobinisant (128).

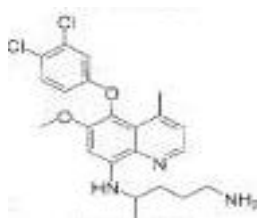


Figure 51 : NCP1161B

### 3. LES ANALOGUES ANTIFOLATES : CONTOURNEMENT DE LA RESISTANCE AUX FOLATES

#### 3.1. Chlorproguanil / dapsone (Lapdap /)

La combinaison LapDapJ de la sulfone dapsone (inhibiteur de la DHPS) et du chlorproguanil (inhibiteur de la DHFR) dont le composé actif est le chlorcycloguanil comme pour le proguanil pose problème. La chlorcycloguanil n'est active que sur la DHFR (dihydrofolate réductase) triple mutante (129) rencontrée en Afrique alors que des cas de DHFR quadruple mutante qui était circonscrite en Asie apparaissent maintenant en Afrique (130), et elle est quatre fois moins active que la pyriméthamine sur la résistance (131).

Même si la dapsone (dix fois plus active que la sulfadoxine *in vitro*) (132) est parmi les plus actifs dans la classe des sulfamides et des sulfones et résiste davantage aux mutations de la DHPS, il y a un certain degré de résistance dans le groupe des sulfamides.

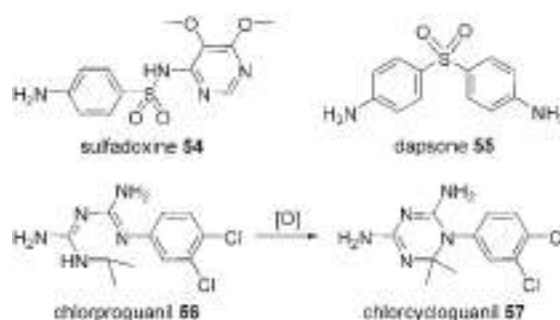


Figure 52 : quelques les antifolates

Comme précédemment évoqué, une association fixe avec l'artésunate en LapDap + est en développement clinique avec une durée de vie plus longue, et un temps de clairance parasitaire écourté (133).

## 3.2 Dihydrotriazines basés sur la structure du cycloguanil : Les inhibiteurs de la DHFR

### 3.2.1 l'analogue du cycloguanil WR99210 et ses dérivés

Plusieurs dérivés de l'analogue WR99210 du cycloguanil, mutagénotoxique, faiblement biodisponible, non toléré au niveau gastrique, ( $CI_{50} = 2,7 \text{ nM}$ ) très actif sur la PfDHFR quadruple mutante (133) et du biguanide prodrogue PS-15 (composé 59) mieux absorbé et toléré mais toxique (134) ont été synthétisés.

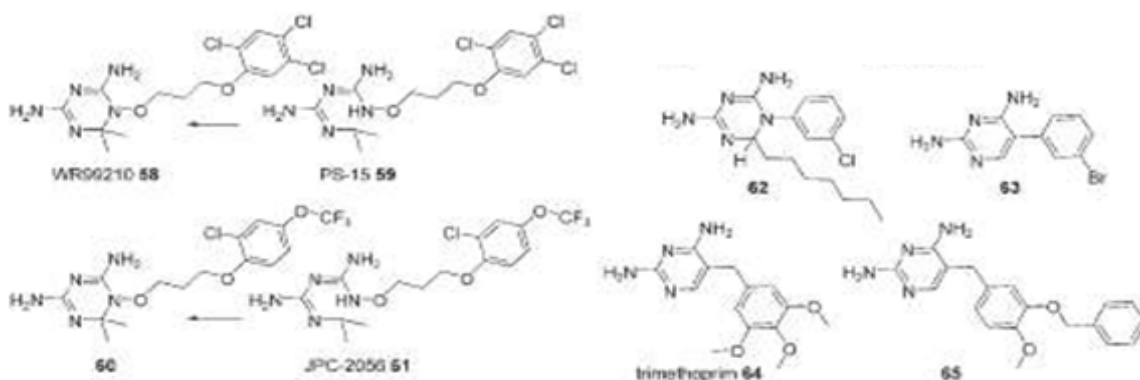


Figure 53 : quelques inhibiteurs de la DHFR

Le composé le plus prometteur a été le JPC-2056 et son composé actif est le 60 (135).

### 3.2.2 Autres dihydrotriazines

A l'opposé du cycloguanil, le dérivé 62 avec son unique substituant en position 6 contourne la mutation A16V/S108T de la DHFR avec un KI de 3,8nM cependant plus faible que celui du cycloguanil (1314 nM) et une  $CI_{50}$  de 4 nM. Mais l'inhibition des parasites en culture est faible ( $CI_{50} = 2,5 \text{ mM}$ )

## 3.3 Pyrimidines basé sur la structure de la pyriméthamine

Le dérivé bromo-substitué de la pyriméthamine 63, ne subit pas l'interaction repulsive de la chaîne latérale Asn180. Il inhibe la DHFR quadruple mutante à un Ki de 5,1nM contre 859nM pour la pyriméthamine et la croissance des parasites à une  $CI_{50}$  de 37 nM (pyriméthamine:  $CI_{50} > 5 \text{ mm /ml}$ ) (136).

### 3.4 Triméthoprine et ses dérivés

Suite aux résistances par mutation de la pyriméthamine et du cycloguanil les études de modélisation moléculaire ont suggérées que les antifolates souples, comme le triméthoprine (TMP) et ses dérivés y échapperaient, et sont potentiellement efficaces (137).

Ces études ont montré que l'ajout d'un substituant aromatique sur la chaîne latérale du phényle, conduit à une meilleure affinité de liaison aux enzymes à la fois de type animale et mutante que les dérivés portant des substituants alcoxy. L'extension de la chaîne latérale hydrophobe sur la fraction de la 5-benzyl avec les 5-benzyl-2,4-diamino, conduit à une affinité de liaison supérieure à celle du triméthoprine, en particulier avec des substituants benzyloxy qui sont environ 5 à 30 fois et 60 à 200 fois plus efficace contre les enzymes de type animal et mutant, respectivement ( $CI_{50}$  à plage micromolaire) (138). On note une nette amélioration de l'activité avec des  $K_i$  de 0,4nM et 60-90nM sur les DHFR animales et quadruples mutantes avec le dérivé du benzyloxy 65 du Triméthoprine (139).

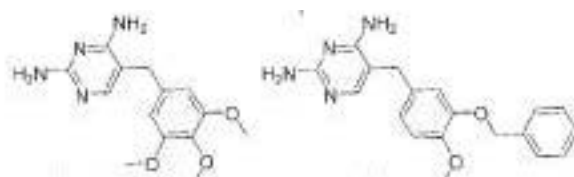


Figure 54 : triméthoprine et le composé 65

En outre, les composés ayant des substituants 6-alkyle ont une activité relativement bonne contre les parasites portant des enzymes mutantes.

### 3.5 Les analogues diaminopyrimidines

Les analogues des 2,4-diaminopyrimidines portant un métachloro et un groupe non 5-phényle substitué avec de longs substituants 6-alkyle affichent une haute affinité de liaison avec les DHFRs de type animal, S108N, et C59RpS108N (140). Ces composés présentent des valeurs de  $CI_{50}$  contre la souche résistante de *P. falciparum* (K1, avec des mutations dans C59RpS108N de la DHFR) au niveau micromolaire faible, d'environ 10-25 fois plus efficaces que leurs molécules mères correspondantes. Le composé le plus actif de cette série a une  $CI_{50}$  de 0,06 mM contre le type animal mutant.

Ces analogues ont des toxicités faibles à inexistantes dans les cellules de mammifères. D'autres études ont conduits à l'identification de deux inhibiteurs puissants, qui sont également actifs contre la PfDHFR animale ( $K_i = 1,4$  nM, et



$K_i = 1,6 \text{ nM}$ ; cycloguanil,  $K_i = 1,5 \text{ nM}$ ), et sont environ 100 fois plus efficace contre le mutant A16VpS108T comparé au cycloguanil. Il est intéressant de noter que ces deux composés ont un atome de chlore en position 3 au niveau du cycle aromatique, qui est soupçonné avoir un rôle important dans l'amélioration de l'activité (141).

### 3.6 Composés structurellement différents

Les inhibiteurs de la DHFR 66 à 69 malgré les  $K_i$  faibles présentent l'atout d'avoir des structures novatrices utilisables pour un développement ultérieur (142). Une classe structurellement différente des antifolates a été rapportée récemment. Dans la classe des diaminoquinazolines le composé 70 à une forte synergie avec la dapsones et inhibe la souche V1S (quadruple mutant DHFR) à une valeur  $CI_{50}$  de  $8,9 \text{ nM}$  (143). Les dérivés pyrroloquinazolidines étaient des antagonistes des folates mais fortement toxiques (144). La prodrogue tétraacétyl 71 est plus active et plus sûre comparée à l'artésunate dans le paludisme grave (145).

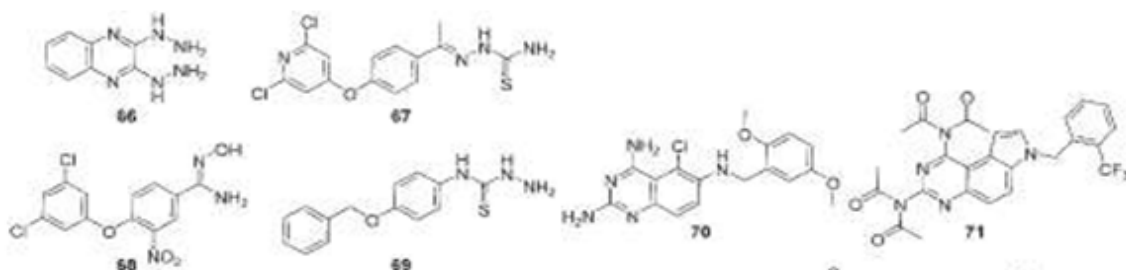


Figure 55 : quelques composés structurellement différents

### 3.7 Précurseurs méthotrexate

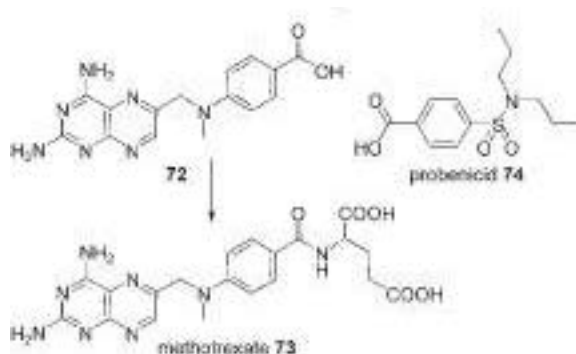


Figure 56 : methotrexate et précurseurs

Un précurseur du méthotrexate, est un inhibiteur toxique de la DHFR quadruple mutante, c'est le composé 72 qui se transforme en méthotrexate non toxique dans le parasite (146).

### 3.8 L'inhibition de l'absorption des folates : inverseurs de résistance

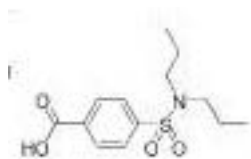


Figure 57 : Le probénécide

Le probénécide inhibe la récupération exogène des folates et agit par inversion de la résistance aux antifolates *in vitro* (147). La combinaison pyriméthamine-sulfadoxine-probénécide est plus efficace que la pyriméthamine-sulfadoxine (148).

### 3.9 Inhibiteurs de la thymidylate synthase

Parmi le peu d'inhibiteurs de la thymidylate synthase (TS), la 5-fluoro orotate (composé 75) convertie en un puissant inhibiteur 5-fluoro-2'-désoxyuridine-5'-monophosphate (composé 76) à dû être abandonnée à cause du risque de toxicité (149). Cependant il existe une synergie d'association avec le composé 77 sulfa monométhoxine (150).

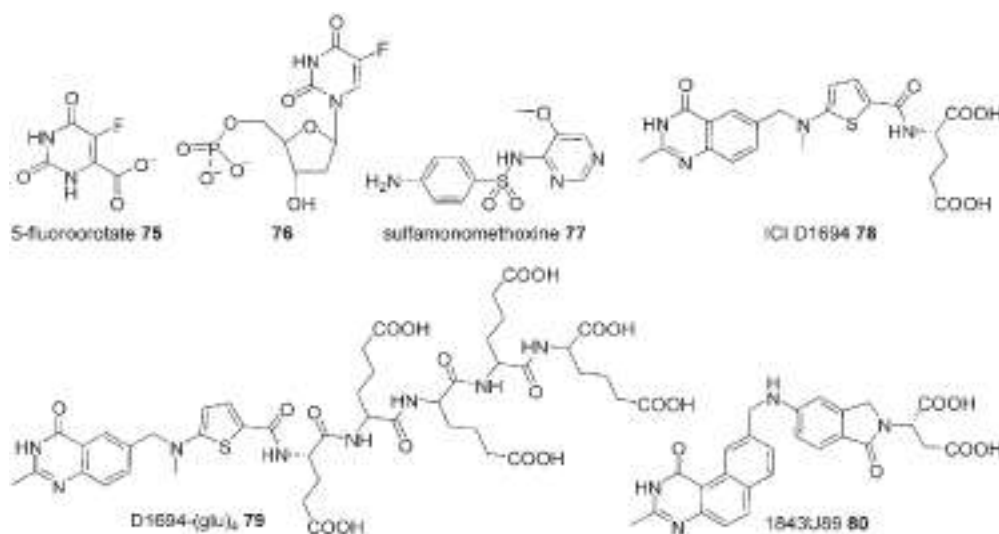


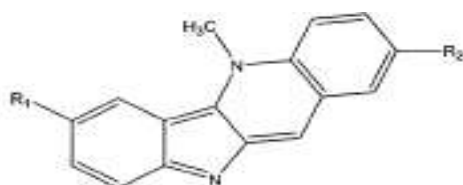
Figure 58 : quelques inhibiteurs de la TS

Le dérivé quinazoline ICI D1694 le composé 78 contrairement à son activité chez l'homme n'a été que faiblement actif chez le parasite, son analogue 79 polyglutamilé D1694 - (glu) 4, lui a été un puissant inhibiteur de la TS ( $K_i = 1,5$  nM) [151]. Le 1843U89 (80), inhibe la TS ( $K_i$  de 1,0 nM) et la croissance de plusieurs souches de *P. falciparum* avec une  $CI_{50}$  de 70 nM.

## 4. LES COMPOSES OBTENUS A PARTIR DES PLANTES

### 4.1. Alcaloïdes

Extraits d'arbuste de l'Afrique de l'Ouest *Cryptolepis sanguinolenta*, la cryptolepine largement utilisée par les herboristes africains pour guérir le paludisme. C'est (152) un alcaloïde extrait de ses racines avec un bon rendement et qui exerce une action antipaludique *in vitro* (153) et *in vivo* (154) per os. Elle chélate l'ADN (155), inhibe la formation de la b-hématine stabilise le complexe covalent topoisomérase II-ADN et stimule la scission de l'ADN par la topoisomérase (156) mais est cytotoxique. Parmi les dérivés la 2,7-dibromocryptolepine, le plus actif *in vitro* a l'avantage de chélater faiblement l'ADN.

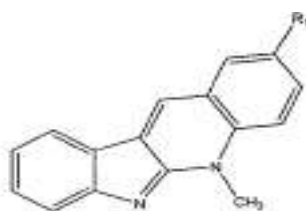


$R_1=R_2=H$  cryptolepine ( $CI_{50}$  de 0.44 pmol/ml)

$R_1=R_2=Br$  2,7-dibromocryptolepine ( $CI_{50}$  de 0.49 nM)

Figure 59 : cryptolepine et dibromocryptolepine

La neocryptolepine est peut être moins active que la cryptolepine, mais enregistre une toxicité moindre (157).



$R_1=H$  neocryptolepine

$R_1=Br$  bromoneocryptolepine

Figure 60 : Neocryptolepine et bromoneocryptolepine

la bromoneocryptolepine en plus d'une bonne action antipaludique ( $CI_{50}$  4,0 mM souche W2 de *P. falciparum*) présente les meilleures caractéristiques : elle n'inhibe pas la topoisomérase II, chélate faiblement l'ADN et ne présente aucune forme toxicité évidente (cellules MRC-5,  $CI_{50} > 32$  mm/ml)(157). Avec le dérivé dibromoneocryptolepine, correspondant même s'il n'a pas été signalé

et à l'instar de la 2,7-dibromocryptolepine on pourrait s'attendre à une activité encore plus grande.

Des naphthylisoquinoléines extraites des lianes tropicales appartenant aux familles Dioncophyllaceae et Ancistrocladaceae ont été isolés les antipaludiques dioncophyllines B et C et la dioncopeltine A avec un bon profil *in vitro* et *in vivo* (158). L'alcaloïde le plus prometteur la dioncophylline C (153), a entraîné la suppression complète des parasites après administration par voie orale (4 jours) à *P. berghei* chez des souris infectées à une dose de 50 mg/kg/jour sans effets toxiques notables mais ont des problèmes probables de biodisponibilité.

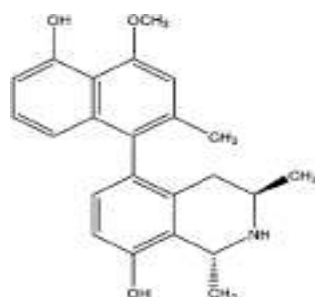
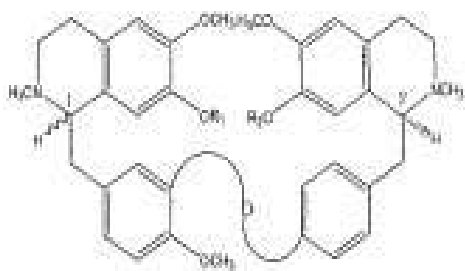


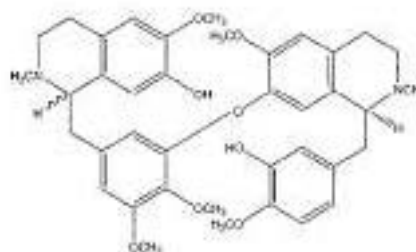
Figure 61 : Dioncophylline c

Les alcaloïdes à fraction bisbenzyl (Menispermaceae, Berberidaceae, Ranunculaceae, Annonaceae, et Monimiaceae) ont mis en évidence trois composés majeurs : les analogues de la biscoclaurine comme la neothalibrine le temuconine et le dérivé bisreticuline ; la malekulatine. Ils sont faiblement toxiques ( $CI_{50} < 300$  nM), mais présentent une action antipaludique appréciable, fortement affectée par la quaternisation ainsi que la N-oxydation. Les composés actifs possèdent un pont éther unique, tandis que les inactifs plus flexibles en possèdent deux.



$R_1=H, R_2=CH_3$  : neothalibrine

$R_1=CH_3, R_2=H$  : temuconine



malekulatine

Figure 62 : composés neothalibrine, temuconine, malekulatine

La manzamine A (50 mg / ml, 95 nM) contre *P. berghei* (ANKA), un alcaloïde b-carboline isolé de diverses espèces d'éponges marines dans les eaux tropicales a un début d'action rapide mais présente un index thérapeutique étroit (159). La 8-hydroxymanzamine (158) a eu une activité comparable à celle de la manzamine cependant son dérivé cétonique manzamine F a été inactif. La synthèse totale de la manzamine A connue (160), devrait autoriser la synthèse de dérivés plus sélectifs.

## 4.2. Terpenes

La dégradation de l'hémoglobine est largement considérée comme une cible très intéressante pour la chimiothérapie antipaludique. On suppose que les médicaments qui complexent ou interagissent avec la ferriprotoporphyrine (FP) diminuent, l'activité de ces enzymes favorisent son accumulation et finalement conduisent à la disparition des parasites (161).

Certains terpènes isonitriles isolés à partir d'éponges marines, possèdent une activité antipaludique, (162) et empêchent la destruction peroxydante de la FP, sa répartition induite par la GSH (163), et également la formation de la b-hématine. Une approche par modélisation moléculaire d'un pseudorécepteur a été utilisée pour définir le pharmacophore présent dans ces isonitriles terpéniques : la ferriprotoporphyrine IX (hème, FP) par formation d'un complexe drogue-FP .La preuve a été apportée que les isonitriles actifs comme l'axisonitrile-3 et la diisocyanoadociane ( de plus forte liaison) interagissent avec la FP, alors qu'aucune interaction n'a été notée pour les isonitriles inactifs comme 7-isocyanoamphilecta-11 et 7-isocyanoisothiocyanoamphilecta-11 (20)-ène (163).

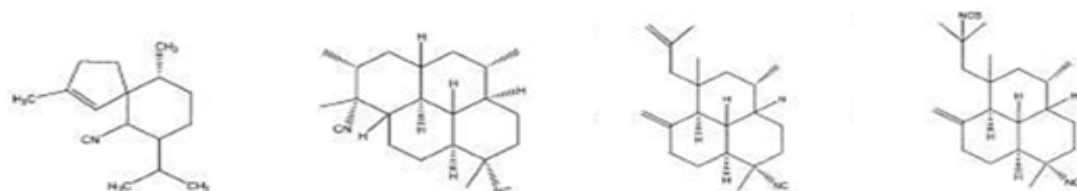


Figure 63 :axisonitrile-3 diisocyanoadociane 7-isocyanoamphilecta11  
7isocyanoisothiocyanoamphilecta-11 (20)-ène

## 4.3. Xanthones

Les xanthones sont des métabolites secondaires des plantes que l'on trouve presque exclusivement parmi les membres de deux familles de plantes

supérieures, Guttiferae et Gentianaceae, ainsi que certains champignons (*Aspergillus*, *Actinoplanes*), fougères et lichens(164). Les xanthones sont traditionnellement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la fièvre (165). L'activité antipaludique des xanthones peut être attribuée à l'anthraquinone hydroxylé le rufigallol (166). L'activité antipaludique du rufigallol a été signalée en 1995, motivée en partie par les similitudes structurelles partagées avec les naphtoquinones (souvent associé à activité antipaludique) et les hydroxyanthraquinones (167). Il ya une certaine disparité dans la littérature en ce qui concerne l'activité inhibitrice du rufigallol, avec un premier rapport indiquant une  $CI_{50}$  de 35 nM, (167) et un dernier (168) évoquant une valeur  $CI_{50}$  de 226 nM, contre les isolats sensibles à la chloroquine D6 de *P. falciparum*.

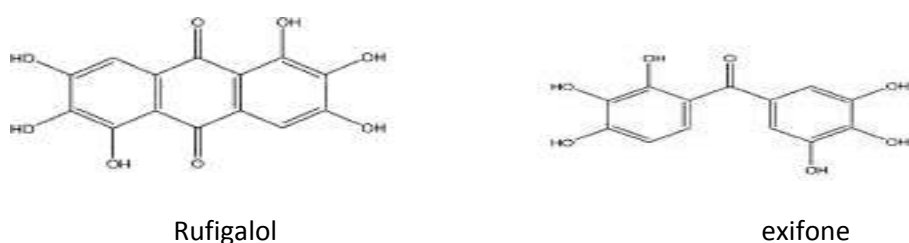


Figure 64 : rufigallol et exifone

Le rufigallol dispose de six groupes hydroxyles et il a été noté que l'activité est tributaire du nombre et du type de substitution de ces groupes sur les deux cycles aromatiques. Fait intéressant, le rufigallol a nettement potentialisé l'activité antipaludique de son analogue structural, l'exifone une benzophénone (168) de  $CI_{50}$  de 4,1 nM, est environ 20 fois plus faible que rufigallol ( $CI_{50}$  226 nM) en termes d'inhibition de *P. falciparum* (D6), dans des conditions similaires d'essai. Toutefois, lorsque l'exifone est administrée en association avec le rufigallol, un degré élevé de synergie (60-300 fois, selon que les analyses ont été effectuées sur des isobogrammes asynchrones ou non) a été observé. D'après, l'hypothèse xanthone évoquée pour expliquer cette remarquable synergie,

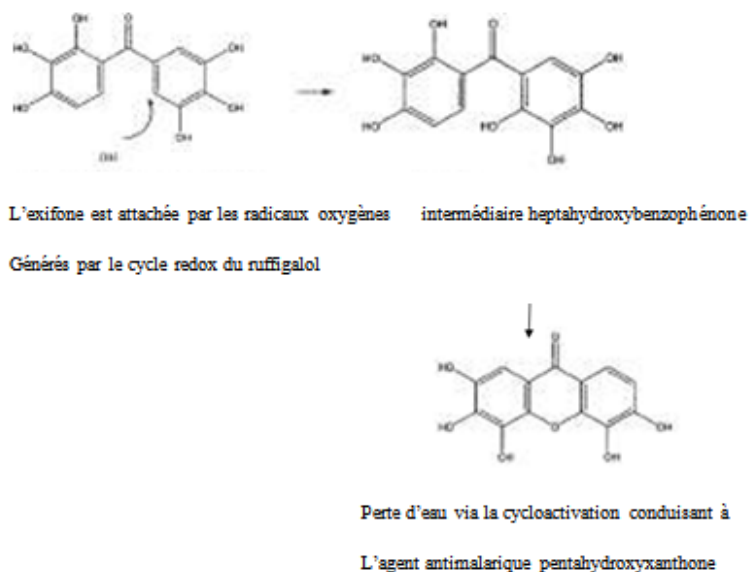


Figure 65 : L'hypothèse "xanthone: Activation" de exifone par rufigallol de donner un «actif» xanthone antipaludique.

le rufigallol subit un cycle redox, qui réduit l'oxygène dans le processus de production de superoxydes et d'autres radicaux libres. Ces radicaux hautement réactifs attaquent l'exifone pour former un intermédiaire heptahydroxy, qui après cyclodéshydratation produit une pentahydroxyxanthone, supposée être l'agent final antipaludique.

Pour confirmer cette hypothèse, plusieurs hydroxyxanthones y compris la présumée active 2,3,4,5,6-pentahydroxyxanthone, ont été évaluées pour une activité antipaludique (169). Cependant, elle a démontrée une activité antipaludique seulement submicromolaire ( $CI_{50}$  0,4 mM), contrairement à la faiblement nanomolaire attendue en raison de la synergie rufigallol-exifone.

Il a été proposé que la disparité entre les puissances attendues et réelles s'explique par le fait que l'exifone est transportée plus efficacement que la 2,3,4,5,6-pentahydroxyxanthone (charge négative due à des groupes fortement acides phénoliques en positions 3 et 6) dans les cellules (170) parasitées. Pour confirmer cette hypothèse, le dérivé pentacetyl de la 2,3,4,5,6-pentahydroxyxanthone, dans lequel les groupes phénoliques sont acylés, a été synthétisé et s'est avéré plus puissant ( $CI_{50}$  de 75 nM).

Un soutien supplémentaire pour l'hypothèse xanthone provenait d'enquêtes montrant qu'une comparable action synergique antipaludique a pu être démontrée pour l'acide ascorbique sous exifone en milieu légèrement acide

(170). Il a été proposé que, dans ces conditions, l'acide ascorbique agit comme un pro-oxydant, ce qui réduit les ions ferriques (à partir de la dégradation de l'hémoglobine) en ions ferreux qui, à leur tour réagissent avec le peroxyde d'hydrogène pour donner des radicaux hydroxyles. Ceux-ci attaqueraient l'exifone qui subirait une cyclodéshydratation dans le parasite pour former la xanthone antipaludique.

L'action antipaludique des xanthones a été liée à leur capacité à inhiber la polymérisation de l'hème (FP), qui conduit à l'accumulation de la FP dans la vacuole alimentaire du parasite. Les données spectroscopiques soutiennent une interaction entre la FP et la 4,5-dihydroxyxanthone qui implique une coordination carbonyle-fer et un empilement p-p des anneaux coplanaires aromatiques des liaisons hydrogènes entre les substituants hydroxylés de la xanthone, et les chaînes latérales propionate de la FP (171). Afin d'optimiser les interactions avec les chaînes latérales propionates de la FP et de faciliter l'accumulation dans la vacuole alimentaire du parasite, les xanthones avec des chaînes latérales aminées protonables en positions 3 et 6 ont été synthétisées (172). Les résultats obtenus à partir d'une série homologue de 3,6-bis-o-diethylaminoalkoxyxanthones ont montré une augmentation de l'activité avec l'élongation de la liaison alcoxy, et une activité optimale observée chez les analogues amyloxy (19,  $n = 5$ ) et hexyloxy (20,  $n = 6$ ). Les deux composés étaient plus de 1000 fois plus actifs que la 3,6-dihydroxyxanthone ou la 3,6-bis-diethylaminoxanthone. Les avantages de 19 et 20 résident peut-être dans leurs bonnes activités contre les souches résistantes de parasites et leur mécanisme d'action novateur. Les composés 19 et 20 se lient à FP avec une plus grande affinité que la chloroquine et la quinine. La stoechiométrie de liaison a établi qu'il faut 2 molécules d'hème par molécule de xanthone.



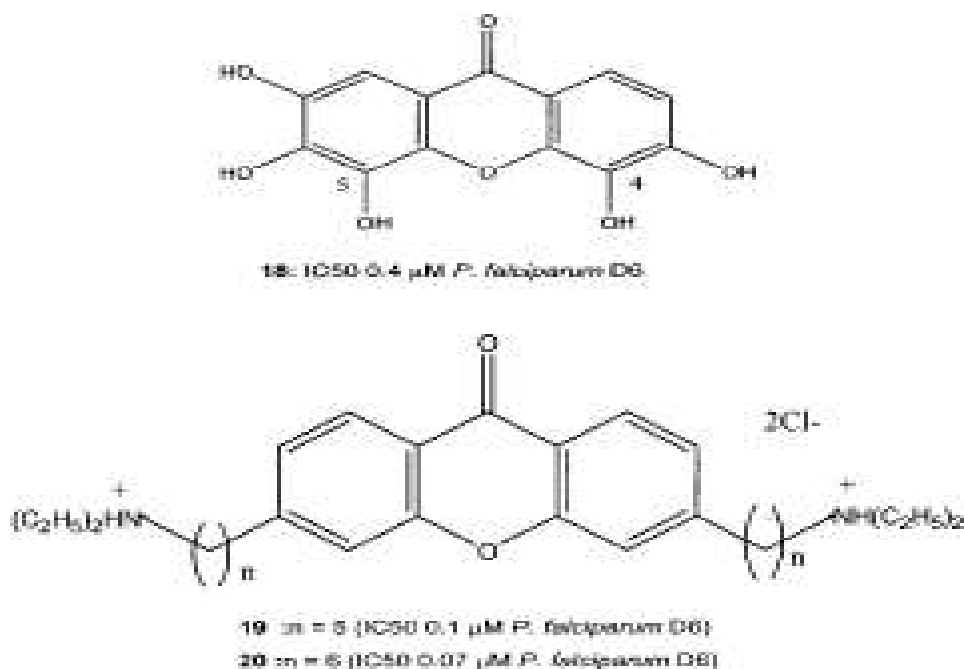


Figure 66: Autres xanthones

#### 4.4 Chalcones

L'activité antipaludique de la lidochalcone A extraite des racines de réglisse de Chine (Gan cao) (173), a amené l'intérêt de ces précurseurs des flavonoïdes. Les chalcones ont été obtenues à partir d'un bis-hydrazide par le raccourcissement de la chaîne de liaison de huit en un quatre-acyl hydrazide dans l'espoir de réduire l'hétérogénéité de la conformation. Et le fait de renforcer la stabilité métabolique par remplacement de la liaison hydrazide par un pont à trois atomes cétone a caractérisé le squelette chalcone. Elles inhibent la cystéine protéase plasmodiale (CI<sub>50</sub> <10 mM) (174), auraient une action acridione-like caractérisée par une vacuolisation cytoplasmique et un développement limité au stade trophozoïte, et alkyleraient le groupe thiol aboutissant à la formation de molécules conjuguées au glutathion (175).

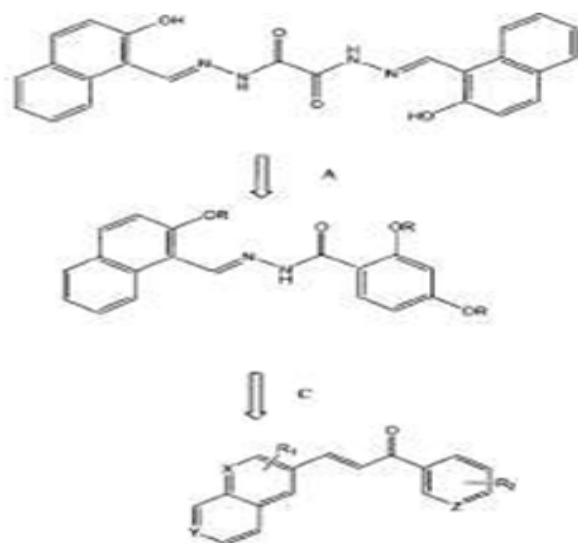


Figure 67: optimisation du bis hydrazide d'acyle pour l'obtention des chalcones. A: raccourcissement des huit atomes d'hydrazide de liaison en quatre atomes acylhydrazide. C: Remplacement du lien hydrazide par une chaîne ab carbonyle insaturé pour améliorer la stabilité métabolique. R1 et R2 sont des substituants hydroxyle, alcoxy, ou un groupe chloro. X, Y, Z = N ou CH.

### Relation structure activité

Le modèle d'homologie de base utilisé est le composé 22 1 - (2,5-dichlorophényl) -3 - (4-quinoliny)-2-propène-1 -one la chalcone la plus active, ayant une activité à une concentration submicromolaire à la fois contre les parasites chloroquino-résistants et sensibles (176). Dominguez et al. ont rapportés que les chalcones phenylurenyles ont une excellente activité antipaludique avec le composé le plus actif 119 qui fait preuve d'une  $CI_{50}$  de 1,76 mM contre *P. falciparum*. Xue et al. ont effectué des analyses sur des chalcones alcoxylées et hydroxylées afin de déterminer les facteurs nécessaires à l'activité de ces composés.

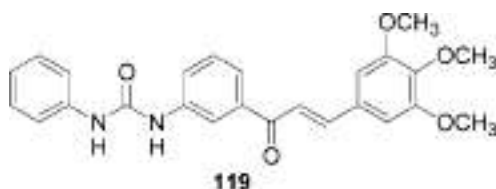


Figure 68 : le composé 119

Le dérivé 1 - (2,3,4-triméthoxyphényl) -3 - (3-quinoliny)-2-propène-1-one (composé 23) a été identifié comme le plus actif dans cette série de quelques 100 chalcones alcoxylées et hydroxylées. Les résultats ont fourni des outils pour

prédire l'affinité des composés connexes, et pour guider la conception et la synthèse de nouveaux et plus puissants agents antipaludiques.

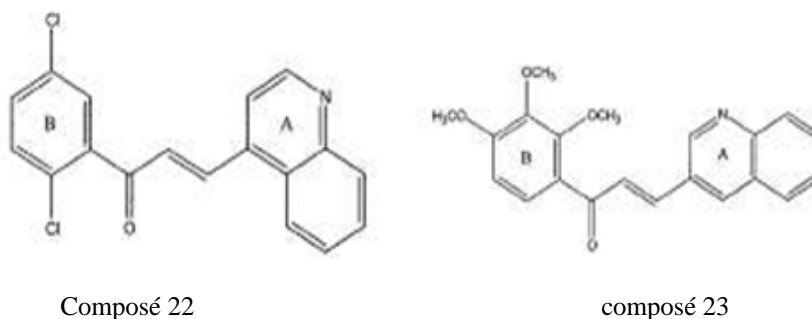


Figure 69 : Les composés 22 et 23

La substitution du noyau A par un halogène ou son remplacement par une quinoléine aboutie à une bonne activité (177). Celle du noyau B à une incidence négative même avec les groupes méthoxy di-ou tri-substitués souvent associés à une bonne activité. De plus le composé 4-éthoxy a maintenu une faible activité (178).

Il réside cependant quelques zones d'ombres :

Les composés 26 et 27 inhibent similairement la falcipaine ( $CI_{50}$  4-5 mM), mais la supériorité d'action de 26 ( $CI_{50}$  6 mM contre 60 mM, *P. falciparum*) n'est pas seulement liée à l'effet acridione-like car 26 induit une vacuolisation cytoplasmique sans signe d'accumulation de l'hémoglobine contrairement à 27, qui a des effets opposés.

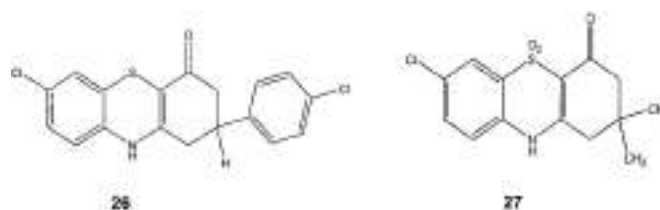


Figure 70 : Composés 26 et 27

Cependant, les résultats indiquent que les chalcones exercent leur activité via de multiples mécanismes, n'incluant pas la désintoxication de l'hème. Pour étudier le rôle du ferrocène dans l'activité antipaludique, Wu et al. (179) ont synthétisé plusieurs chalcones ferrocényles avec des caractéristiques électroniques et lipophiliques variables et ont constatés que les propriétés physico-chimiques de l'anneau ferrocène ne contribuent pas de manière significative à l'activité

antipaludique, la ferrochloroquine le composé 28 est cependant, moins active que ses prédécesseurs (178). Ces variations ne sont pas attribuables aux propriétés lipophiles ou électroniques de ces composés. Seule la substitution 4-nitro sur le cycle phényle accroît nettement l'activité (180). La chalcone ferrocényle la plus active est : 1 - (3-pyridyl)-3-ferrocényl-2-propène-1-one (le composé 29).

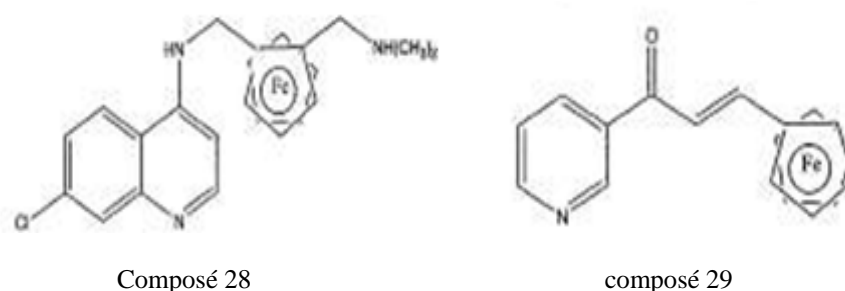


Figure 71: composé 28 et 29

L'activité antipaludique des chalcones a suscité l'intérêt de l'identification et la réexamination de la licochalcone A comme un puissant inhibiteur de *P. falciparum*. Les chalcones ont été largement pensées pour agir contre la cystéine protéase du paludisme, une enzyme utilisée par le parasite pour la dégradation de l'hémoglobine.

## 5. LES COMPOSES PEPTIDIQUES ET PEPTIDOMIMETIQUES ANTIPALUDIQUES

### 5.1 Inhibiteurs peptidomimétiques de la farnésyl transférase plasmodiale

Des études récentes ont suggéré que la protéine farnésyl (FT) est une cible prometteuse pour le développement de nouveaux agents anti-parasitaires (181). Elle reconnaît la séquence dipeptidique, de la séquence clé terminale de type CaaX des protéines G. La stratégie de conception des peptidomimétiques a consisté à remplacer la séquence dipeptidique centrale par un fragment aminobenzoyle hydrophobe et semi-rigide, la substitution du résidu cystéine avec un groupe imidazolyle qui conserve la capacité à coordonner le zinc (FTase est un métalloenzyme de zinc), mais plus métaboliquement stable que la cystéine et un X méthionine ou non.

FT-276 (composé 30), un puissant inhibiteur de la FTase des mammifères ( $CI_{50}$  1,7 nM), n'a été qu'un faible inhibiteur de la croissance du plasmodium. De même FTI-2148(110, R = H), l'un des plus puissants inhibiteurs de la PFT des mammifères ( $CI_{50}$  = 1 nM), n'a affiché aucune inhibition contre *P. falciparum* ( $DE_{50}$  => 30 mg / mL). Il est probable que cette inhibition améliorée soit due à la perméabilité membranaire supérieure de l'ester par rapport à celle de l'acide libre. Ces résultats ont menés à la synthèse, d'une série de prodrogues esters de FIT-2148 afin d'étudier, l'effet du groupement ester sur l'activité antipaludique (182). Après évaluation contre *P. falciparum* dans les globules rouges les dérivés esters ont exposés une importante activité antipaludique, et 110 (R =  $CH_2C_6H_5$ ) a montré la meilleure inhibition ( $DE_{50}$  = 150 nM).

Par contre les inhibiteurs imidazolés tels que l'IMOA-2217 ( composé 31) ont eu une activité antipaludique satisfaisante. La présence ou non de résidu méthionine n'a pas affecté l'activité antipaludique.

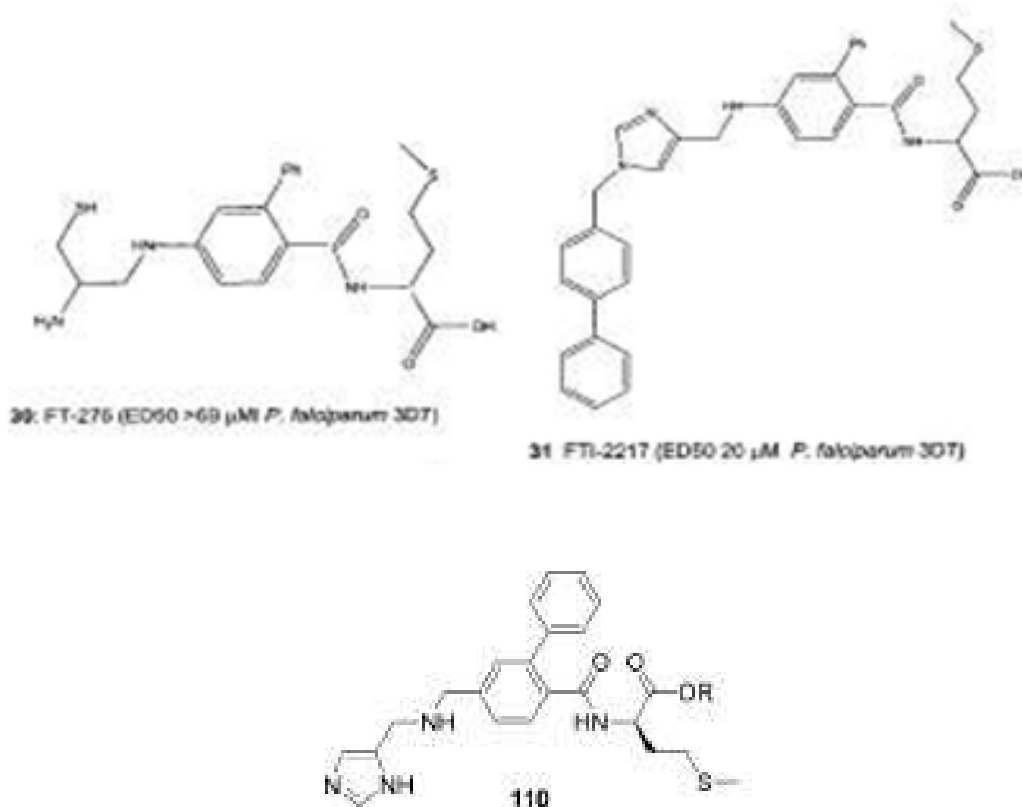


Figure 72 : Quelques composés

## 5.2 Les inhibiteurs de protéase

L'hydrolyse de l'hémoglobine fait des protéases des cibles attrayantes. Les protéases aspartiques plasmepsines I et II sont responsables des clivages initiaux de l'hémoglobine et la cystéine protéase clive par la suite des fragments de globine de plus petite taille.

### 5.2.1 Les inhibiteurs de la cystéine protéase (*falcipaine*) plasmodiale

La difficulté pour l'obtention d'un bon inhibiteur réside dans le fait qu'il doit être stable et résistant à l'hydrolyse des protéases d'accueil afin d'échapper d'ailleurs à l'effet toxique résultant, il ne doit pas avoir un effet irréversible (sulfones vinyliques) au risque que les complexes covalents résultants soient responsable de réactions indésirables auto-immunes et autres, et il doit accéder à sa cible intracellulaire.

Parmi, les premiers inhibiteurs, les fluorométhyls cétones ont vus leur activité augmentée dans la morpholino-cétone (Mu)-phénylalanine-homophénylalanine-fluorométhyl (composé 32) après administration parentérale et orale chez la souris (183).

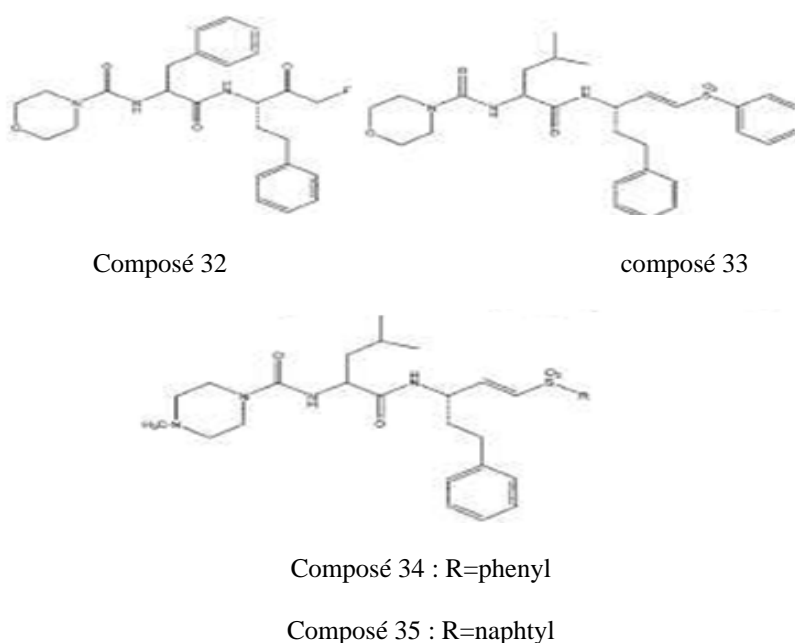


Figure 73 : Les composés 32-35

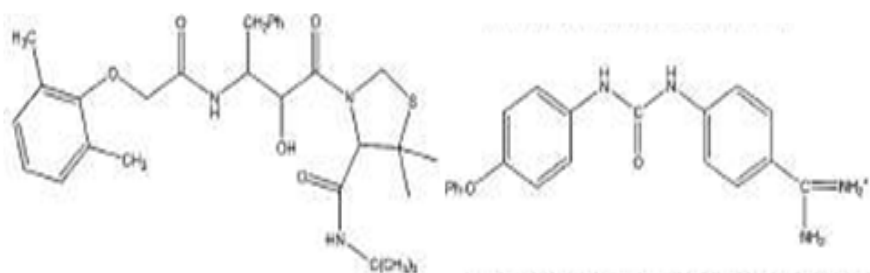
La substitution de l'arginine par le résidu homophénylalanine non-natif pourrait être importante dans l'amélioration de la stabilité et donc de la biodisponibilité du peptide. Mais leur probable toxicité a conduit à leur remplacement par les

vinylsulfones (184) moins toxiques et aussi moins puissantes (185). Initialement identifiée la morpholino-leucine-homophénylalanine-phénylvinylsulfone (33, Mu-Leu-Hph-VSPH) (184) voit son efficacité *in vivo* améliorée par le remplacement du groupe morpholino-urée par le groupement N-méthylpiperazinyllurée (34, N-Me-Leu-pipu-Hph-VSPH) soluble dans l'eau. Cependant une amélioration des propriétés inhibitrices et antipaludéennes a été constatée dans le remplacement du groupe phényle lié au fragment vinylsulfonyl par un naphthalène de taille plus grande (35, N-Me-Leu-pipu-HphVS-2NP) (185). Les peptides ayant des résidus Leu-HPS sont de meilleurs inhibiteurs de falciparine-2 (de *P. falciparum*) mais de plus faibles inhibiteurs de la protéase à cystéine, sans distinction entre les souches de souris de *P. vinckei* et de *P. falciparum* (185).

### 5.2.2 Les inhibiteurs de la protéase aspartique (plasmepsine)

Le défi à relever pour obtenir un inhibiteur fiable c'est qu'il soit sélectif des plasmepsines (Plm) en dépit de leur homologie (73% et 35% pour plm I Et II) avec la protéase aspartique humaine cathepsine D , et qu'il ne se lie pas aux protéines sériques ; albumine et  $\alpha$ 1-glycoprotéine acide. Les inconvénients des inhibiteurs de Plm sont évidemment leur squelette peptidique et leur poids moléculaire élevé, ce qui les empêchent certainement d'avoir de bonnes propriétés pharmacocinétiques et une haute stabilité métabolique. Parmi les nombreux inhibiteurs de la protéase du VIH-1 beaucoup ont incorporés des structures à base d'hydroxyéthylamine comme isostère de transition et des fractions de statines (186,187) ; d'allophenylnorstatine (188) ; de diphenylurée (189). Etant donné que les inhibiteurs de Plm II sont sélectifs par rapport à l'homologue chez l'homme de la plasmepsine : la cathepsine D, la Plm II peut être considérée comme un objectif raisonnable pour de futurs médicaments antipaludiques.

WR268961 (composé 37), est un petit dérivé diphenylurée non peptidique puissamment soluble dans l'eau ayant une bonne sélectivité pour la plasmepsine II et une activité antipaludique submicromolaire (189) : Le remplacement du groupe amidine par un acide sulfonique maintien l'inhibition mais fait décliner l'action antipaludique.



Composé 36

composé 37

Figure 74: les inhibiteurs des plasmepsines : 36 et 37

Une synergie des effets inhibiteurs mais également toxiques est constatée quand les deux inhibiteurs de la cystéine protéase et de la protéase aspartique sont combinés (190). Leur pénétration dans les érythrocytes parasités se fait par des voies induites par le parasite lui-même (191).

Une série d'inhibiteurs de protéase I et II, ayant un isostère hydroxyéthylamine basique de transition a permis d'obtenir le quadruplement de la sélectivité pour l'une des protéases. Les composés présentaient une plus grande sélectivité pour la Plm que pour la cathepsine D avec une  $DE_{50}$  aussi basse que 1,6 mM pour le composé 104 en dépit des valeurs de  $K_i$  de 115 nM pour la Plm I et 121 nM pour la Plm II. Une elongation de la chaîne accroît l'activité et l'effet le plus marqué est observé lorsque l'hydrogène dans la position para est échangé avec le brome, conduisant à une activité inhibitrice 20 fois plus élevée pour la Plm. Le meilleur inhibiteur double Plm I / Plm II, le composé 105 de cette série a un  $K_i$  de 0,8 et 6 nM, respectivement, contre la croissance du parasite dans les cellules en culture (192).

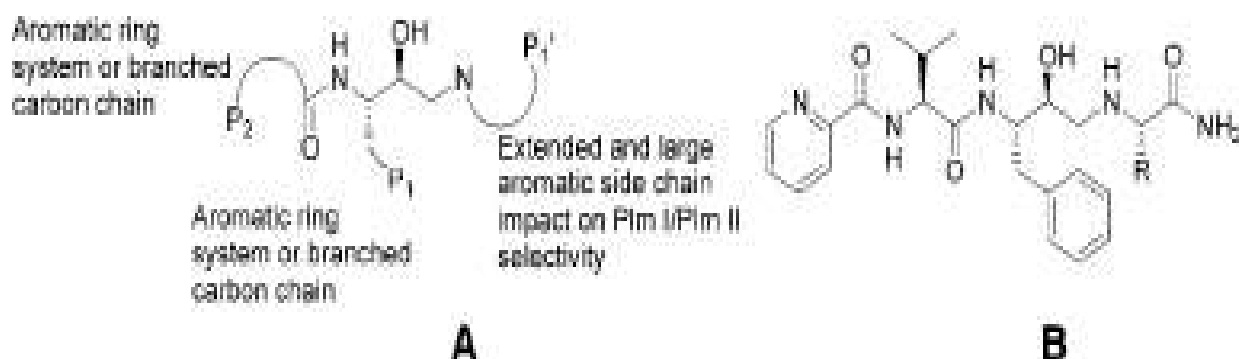


Figure 75 : Les exigences structurales de l'inhibiteur à base hydroxyéthylamine des plasmepsines I et II; (B) la structure générale des inhibiteurs des plasmepsines I et II.



Dahlgren et al. (193) ont synthétisé de nouveaux isostères (inversés) de statine, qui présentaient une activité modeste mais prometteuse contre la Plm I et II. Le meilleur inhibiteur 106 a présenté une activité *in vitro* de 28% pour Plm II à 0,5 mM ( $K_i = 5,4$  mM) et a été fortement sélectif pour la plasmepsine par rapport à la cathepsine.

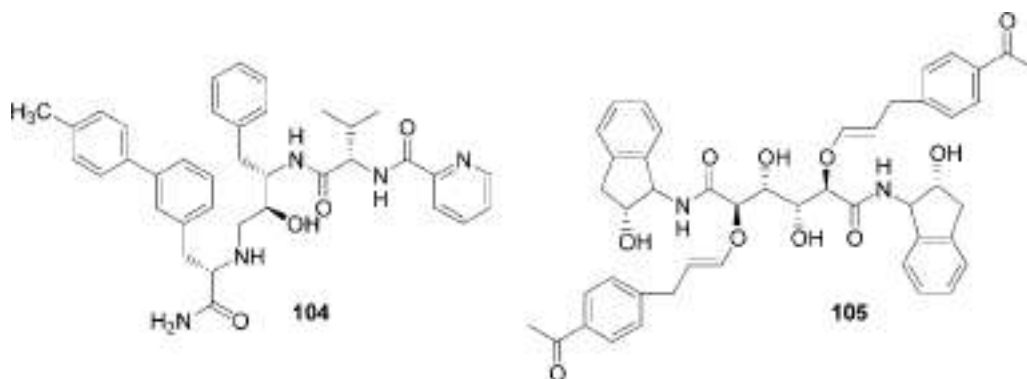


Figure 76: Inhibiteurs des plasmepsines I et II 104 et 105

Oscarsson et al. (194) ont synthétisés des dérivés N-benzyles et aza-benzyles, le composé 107 a montré une activité prometteuse à la fois pour la Plm I et II. En outre, la présence du groupe benzylcarbamate, soit seul ou couplé avec la valine, dans la position P20 semble être bénéfique en termes de puissance. Pour évaluer l'influence de la chiralité sur l'activité des inhibiteurs, le puissant inhibiteur à base aza-107 a été sélectionné et tous les stéréoisomères (en ce qui concerne le noyau central) de cet inhibiteur ont été synthétisés et des valeurs de  $K_i$  ont été déterminées. Étonnamment, parmi tous les stéréoisomères, le meilleur inhibiteur 108 (R, S) expose une inhibition de 98% à 5 mmol pour Plm I ( $K_i = 250$  nM) et de 74% à 5 mmol pour le (S) ( $K_i = 1,4$  nM).

Dans une autre étude, Greenbaum et al. (195) ont rapporté une série de thiosemicarbazones et le Composé 109 a été le plus efficace parmi ceux rapportés, avec une  $CI_{50}$  de 20 mM et une  $DE_{50}$  de 0,03 mM contre Plm II et *P. falciparum*, respectivement.

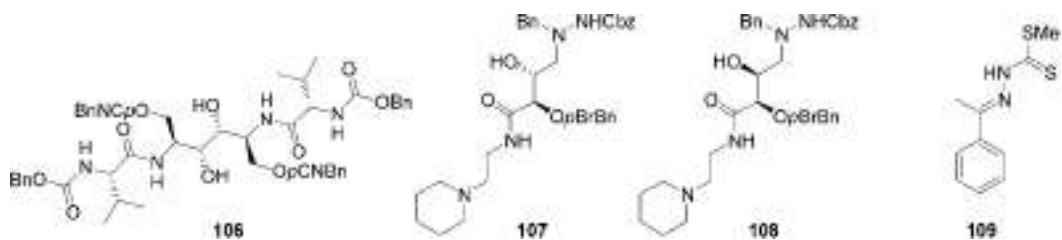


Figure 77: Inhibiteurs de la Plasmeprase I et II 106, 107, 108, 109

Les inhibiteurs des protéases du VIH et des plasmepsines ont une action comparable. Koushi Hidaka et al. en collaboration avec les instituts de recherche et des universités spécialisées ont synthétisés une série de dipeptides de type inhibiteurs de la protéase du VIH, qui contiennent un groupement allophenylnorstatine diméthylthioproline, inhibiteur puissant de la plasmepsine II (196). La fixation des groupes lipophiles et hydrophiles a permis de surmonter le désavantage du caractère peptidomimétique rencontré chez les inhibiteurs des protéases du VIH, et le composé KNI-10006. Ceci a permis de rétablir, l'équilibre des caractéristiques inhibitrices. Et dans ce sens les groupements alkyl amino ont fait leur preuve au rang sous micromolaire avec :

- Une bonne activité inhibitrice contre la Plm
- Une action antipaludique prometteuse
- Une cytotoxicité faible

Les composés amino tels que KNI-10283 et KNI-10538, avec plus de 15 fois l'activité antipaludique renforcée, au niveau sous-micromolaire ont été identifiés. Le dérivé allophenylnorstatine KNI-727 a eu une inhibition nanomolaire avec une sélectivité 22 fois plus grande pour la Plm II par rapport à la cathepsine D à une  $CE_{50}$  de 10 mM (197).

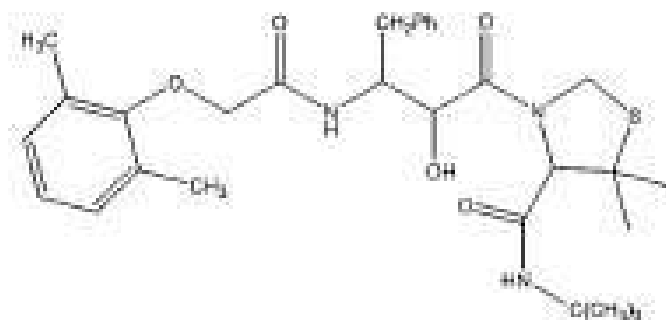


Figure 78 : KNI-727

### 5.2.3 Les inhibiteurs de la kinase dépendante des cyclines : la pfmrk

Les kinases cycline-dépendantes (KCD) sont des cibles validées importantes en thérapie palustre (198), et sont impliquées dans le contrôle de la progression (croissance et différenciation) du cycle cellulaire, même leur rôle précis est mal connu. Les meilleures cibles KCD sont : la PfPK5 analogue de la KCD5 humaine, la Pfmrk un homologue de la KCD activatrice de kinase de *Plasmodium falciparum* et analogue de la KCD7 humaine (199). Il est à noter qu'il existe des différences significatives entre les enzymes plasmodiales et humaines. La Pfmrk est un CDK plasmodiale qui montre une homologie significative avec la CDK7 humaine. Dans une tentative pour identifier de nouveaux composés qui inhibent la Pfmrk, Li et al (200) ont synthétisés des composés contenant une fraction lactame de cinq classes structurales différentes. L'inhibiteur le plus puissant est un dérivé 3-phenylquinolinone (201) est une 3-phenylquinolinone ayant une  $CI_{50}$  de 18 mM. Il est le premier composé rapporté à inhiber la Pfmrk dans la gamme micro molaire. D'autres études ont conduit à l'élaboration d'un modèle par Waters et al. (202) qui a permis l'identification de plusieurs puissants inhibiteurs spécifiques à la Pfmrk et le meilleur composé (203) de cette série a une  $CI_{50}$  de 2,5 mM dans le modèle-test.

### 5.2.4 Autres inhibiteurs de protéases

La bestatine est un dipeptide inhibiteur des protéases aminopeptidases en particulier : aminopeptidase B et leucine peptidase qui a un large spectre, dont : l'activité antipaludique. Partant de l'importance de son groupement 1,2-aminoalcool les homologues synthétisés bien que plus actifs, agissaient cependant selon un mécanisme différent (204).

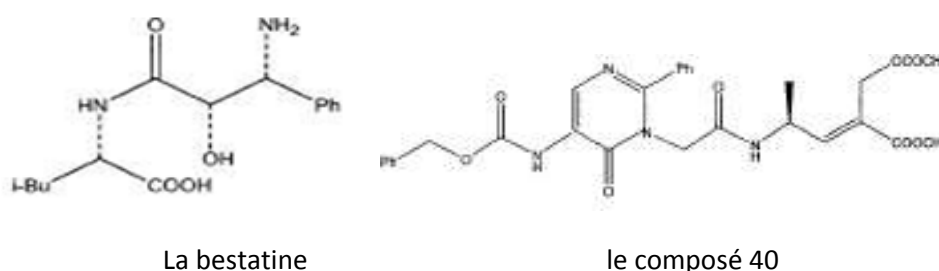


Figure 79: La bestatine et le composé 40

La classe des composés peptidomimétiques pyrimidinyles a été conçue pour venir à bout des problèmes de stabilité et de non-spécificité, constatés chez les inhibiteurs synthétiques de faible poids moléculaire, par remplacement de la 5-aminopyrimidone par une chaîne acceptrice latérale méthyl-2-hydroxyméthyl-

but-2-énoate de Michael (205). Cependant la perte de la chaîne latérale attendue n'a pas été obtenue même s'il a été constaté une activité antipaludique. On note une cytotoxicité faible à modérée (1,4 à 88,9 mM) et le composé le plus actif est le 40.

### 5.3 Les dermaseptines

Les dermaseptines sont une famille de peptides cationiques linéaires de 28-34 acides aminés isolés de la peau de grenouilles arboricoles du genre *Phyllomedusa*. Leur activité antiparasitaire reposerait sur l'action cytolytique (206) résultante de la réaction de leur segment amphipathique de 1-18 résidus avec les phospholipides membranaires.

Leur noyau central (10-19 résidus) est inactif. L'activité est affectée par le raccourcissement du peptide N-terminal et progressivement restaurée par l'allongement des résidus 1-4, puis 1-8 et 1-18 (206).

Basé sur l'activité antipaludique des dermaseptines naturelles fortement lipophiles et hémolytiques associées à l'aggrégation S4 (28 résidus) et S3, on a pu obtenir un peptide raccourci de S4, K4S4 (1-13) rapide perméable et moins hémolytique contre les érythrocytes non infectés. K4S4 acétylé alkylé ou lié à un groupe sulfonyl, enregistre une augmentation de son activité antipaludique et hémolytique attribuable à la lipophilie. Les dérivés acylés (le N-propionyle et le N-isobutyryle) de K4S4 (1-13) ont assuré un bon équilibre antipaludique/hémolytique, tandis que les dérivés N-aminoacyl (N-aminoheptanoyle) moins lipophiles ont présentés les meilleures caractéristiques en terme d'équilibre.

### 5.4 Oligopeptides

Lombardi et Crisanti (207) ont révélé l'activité antipaludique mais grandement cytotoxique de la distamycine un oligopeptide pyrrol-amidine isolé du mycélium de *Streptomyces distallicus* ; car elle agissait par insertion sur les séquences riches dA-dT retrouvées dans le génome de *Pf* (82%).

L'instauration de certaines modifications sont à mesure de produire une activité exceptionnelle c'est le cas de :

- la conversion de la fonction amide C terminale en une fonction amidine,
- le remplacement du groupe N-formyle N-terminal par le N-formimidolyle ou N-carbamoyle,

- l'augmentation du nombre d'unités pyrrolocarboxamido de trois (de la distamycine) à cinq qui à elle seule augmente l'activité.

Le dérivé 42 le plus actif avec ses cinq chaînons carbamoyles combinait une plus grande activité antipaludique ( $CI_{50}$  0,25 mM, *P. falciparum* IT04) et une cytotoxicité de dix fois diminuée ( $CI_{50}$  l'inhibition de la prolifération cellulaire de Hep2 a été jugée  $> 400$  mM) (207), attribuée à la grande stabilité de la liaison terminale carbamoyle.

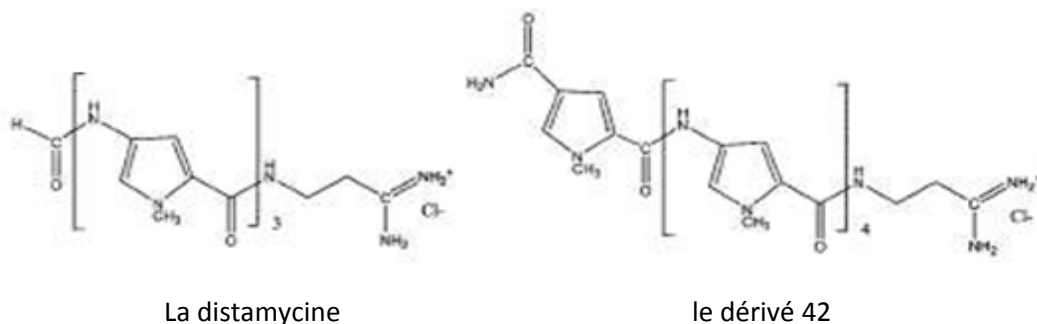


Figure 80 : La distamycine et le dérivé 42

## 6. LES NAPHTOQUINONES

A l'opposition des organismes eucaryotes évolués, le transport d'électrons mitochondrial de *P. falciparum* est associé à la glycolyse anaérobie (non à la synthèse d'ATP), a pour source principale les déshydrogénases dont l'enzyme clé est la dihydroorotate déshydrogénase.

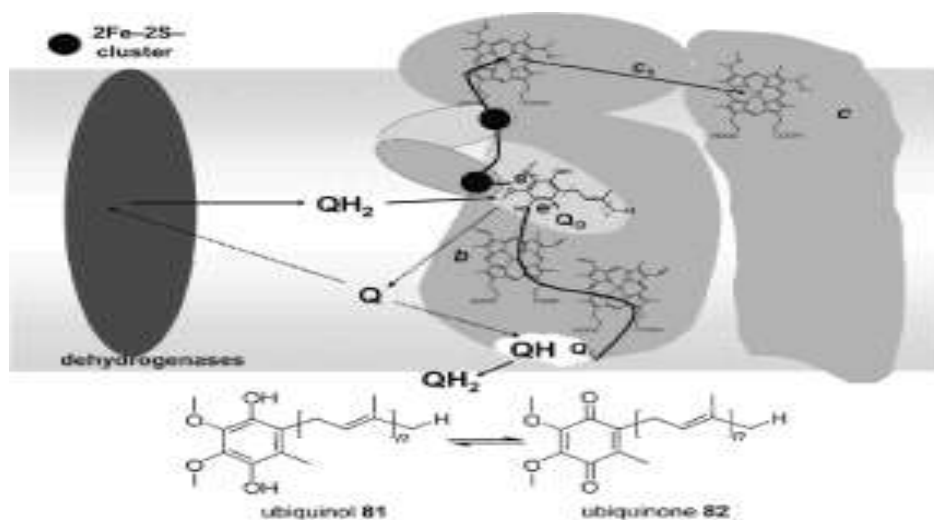


Figure 81 : Représentation du flux d'électrons au travers du complexe cytochrome bc1 de la chaîne respiratoire du parasite

Les naphthoquinones sont des antipaludiques (208), l'hydroxynaphthoquinone dérivée de l'atovaquone (analogue de l'ubiquinone lipophile) est un agent très actif. Elle agit tout comme l'atovaquone en interférant avec la chaîne de transport des électrons par inhibition de la cytochrome C réductase aboutissant à l'effondrement du potentiel mitochondrial (209) et à la perturbation de la synthèse et de la réplication de l'ADN plasmodial par inhibition de la dihydroorotate déshydrogénase (210).

Parmi les naphthoquinones synthétiques et naturelles (211) évaluées pour leur activité, les dérivés 1,2 - et 1,4-naphthoquinones ont eu une modeste activité contre les isolats W2 et D6 et l'herbicide 2-amino-3-chloro-1,4-naphthoquinone avec sa toxicité faible chez le rat, a été désigné chef de file pour des synthèses futures. Les dérivés naphthoquinones sont généralement peu actifs. Cependant la buparvaquone ( $CI_{50} = 550 \text{ nM}$ ) (212) une autre 2-hydroxynaphthoquinone analogue de l'atovaquone (57), son complexe de cuivre ( $CI_{50} 0,2 \text{ nM}$ ) (213) et surtout certains 2-aziridynaphthoquinones (composé 90,  $CI_{50} 24\text{nM}$ ) (214) ont faits la différence.

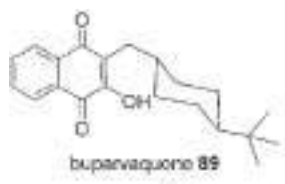


Figure 82 : la buparvaquone

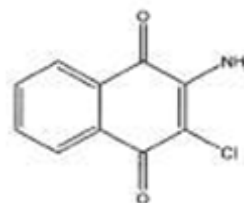
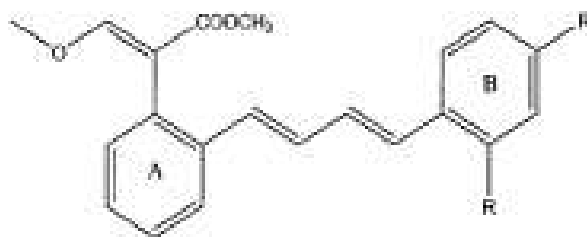


Figure 83 : la 2-amino-3-chloro-1,4-naphthoquinone

D'autres inhibiteurs de la cytochrome C réductase ont été découverts par Alzeer et al. (215) : les b-methoxyacrylates, dérivés de l'acide 3-méthoxyacrylique ont le même site d'action que les 2-hydroxy-naphthoquinones mais réalisent des interactions avec les chaînes latérales différentes. Trois composés (47-49) ont répondu à leurs caractéristiques essentielles :

- la nature de la liaison des deux noyaux aromatiques A et B (insaturée E, E-butadiène)
- la substitution du noyau aromatique distal B (disubstitution 2,4)
- la position du groupe b-méthoxyacrylate sur le noyau A (ortho)

Ils ont une puissante activité *in vitro* au moins 100 fois supérieure à la chloroquine et une synthèse simple et abordable.



Phenyl β-méthoxyacrylates : Activity against *P.falciparum* K1

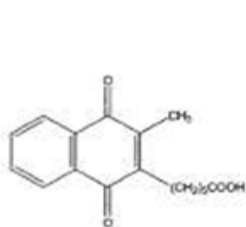
47: R = CF<sub>3</sub> (IC<sub>50</sub>: 0.14 nM)

48: R = Cl (IC<sub>50</sub>: 0.08 nM)

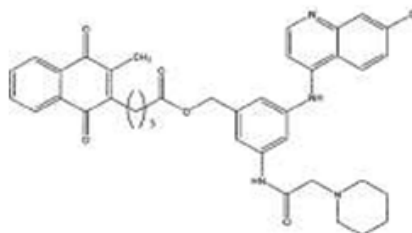
49: R = CH<sub>3</sub> (IC<sub>50</sub>: 0.09 nM)

Figure 84 : Les composés 47, 48, 49

Le noyau 1,4-naphthoquinone s'est trouvé également comme inhibant la glutathion réductase (GR) (215) qui réduit le glutathion disulfure (GSSG) en glutathion (GSH), lequel assure la dégradation des 2/3 de l'hème (216). Des dérivés carboxyliques (L'acide carboxylique (45 ; 6 - [2 - (3-méthyl)naphthoquinolyl] -hexanoïque) chef de file) obtenus ont permis la synthèse de double-droque, d'un groupement alcool associé à une quinoléine antipaludique. L'ester obtenu 46 s'est trouvé très actif suffisamment stable, faiblement toxique et efficace *in vitro* comme *in vivo*.



Composé 45



composé 46

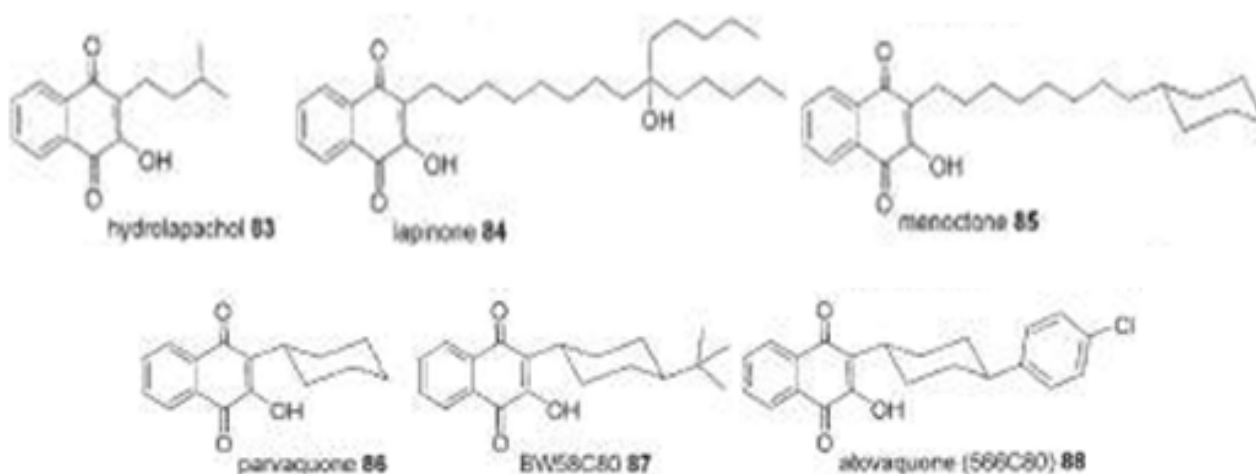


Figure 85: quelques naphthoquinones à activités antiparasitaires : 45,46, 83-88

Dans la classe des pyridones et par analogie au clopidol un produit naturel le GW844520 (217) synthétique a été abandonné au profit de GW308678 qui a franchi le cap des essais cliniques.

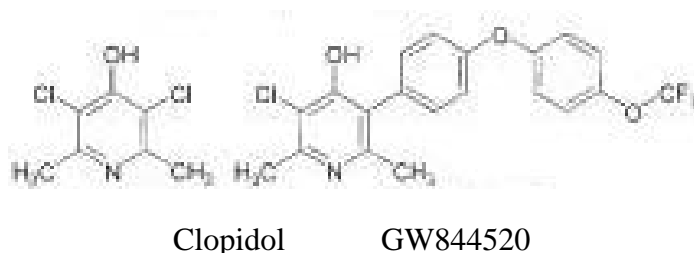
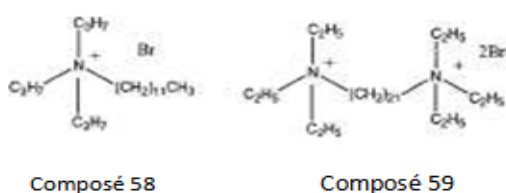


Figure 86 : clopidol et GW844520

## 7. COMPOSES D'AMMONIUM QUATERNAIRE : SELS MONO ET BISQUATERNAIRES

Les sels d'ammoniums bis et monoquaternaires sont de bons antipaludiques (218). Même si leur mécanisme d'action n'est pas clairement établi, il est postulé que les bisammoniums agissent sur la synthèse de la phosphatidylcholine et la détoxification de l'hème (liaison à la FP) puis s'accumulent dans l'érythrocyte. Et par analogie aux bisamidines pénètrent les cellules infectées par des mécanismes induits par le parasite lui-même via le transporteur de choline (219). Le tout premier composé le G25(220) prometteur a du être abandonné suite à sa toxicité et à son manque de biodisponibilité orale, et le dérivé bis (triéthylammonium,  $CI_{50}$  3pmol/ml) le composé 129, était le plus actif de la première génération (221).

Le sel monoquaternaire le plus actif N, N, N-triethyl-N-dodécyl ammoniumbromide (composé 58), avec une  $CI_{50}$  de 33 nM contre *P. falciparum*, a respecté les exigences structurales à savoir une augmentation de la lipophilie autour de l'azote quaternaire par, une augmentation de la longueur de la chaîne alkyle de 6-12 groupes méthylènes. Il en est de même du bisquaternaire le composé 59 ( $CI_{50}$  de  $3 \times 10^6$  mM), avec l'encombrement stérique de la tête polaire, la lipophilie autour de l'azote et une chaîne alkyle de 5-21 groupes.





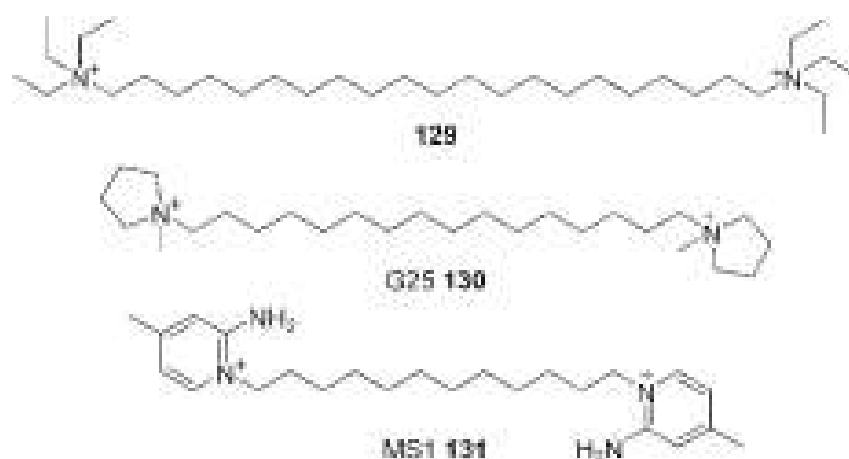


Figure 87 : première et deuxième génération des composés dicationiques : 58, 59, 129, 130, 131

Le remplacement des ammoniums quaternaires par des groupements bioisostériques amidino et guanidino (MS1 ;  $CI_{50} = 0,3 \text{ nM}$ ) était pressenti pour produire des composés de biodisponibilité améliorée, cela a été le cas plutôt des bis-thiazoliums de troisième génération. Les prodrogues neutres T3 et T4 ont été révélées ainsi que leurs thioesters TE3 et TE4a (222). Même si ces composés sont rapidement clivés par les estérases qu'ils ont une courte demie vie (5 min), et sont peu stables, il est à espérer que le T3 entré en essais clinique en 2007 (223) confirmera son profil prometteur.

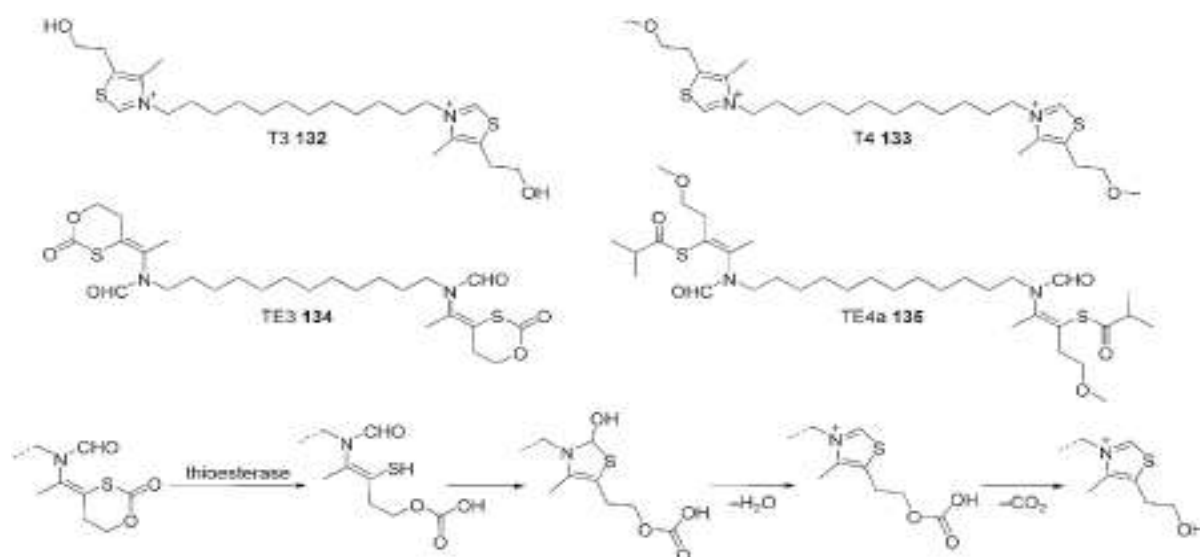


Figure 88 : Troisième génération des composés dicationiques et leurs prodrogues. La bioactivation de TE3 est initiée par clivage catalytique par une thioestérase du diester acide thiocarboxique suivie d'une formation spontanée du noyau thiazolium.

## 8. LES DIAMIDINES

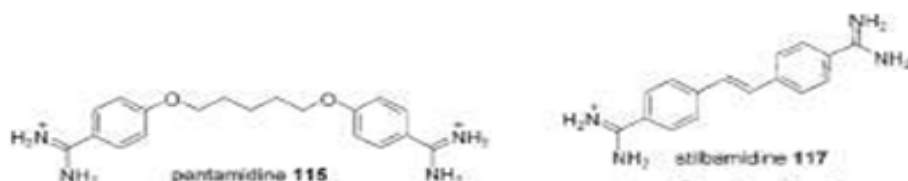


Figure 89 : pentamidine et stilbamidine

Le mécanisme d'action des diamidines n'est pas clairement connu, bien qu'elles soient utilisées comme antiparasitaires depuis longtemps. Elles exerceraient leur action antiparasitaire sur le plasmodium par liaison à la FP (224) et par l'effondrement du potentiel membranaire mitochondrial comme avec la pentamidine, le DB75 et son dérivé furamidine (225). Cependant pour résoudre le problème de la mauvaise résorption de la furamidine au niveau du tractus gastro-intestinal, la prodrogue efficace et bien tolérée O-méthylkamidoxime pafuramidine (DB289 testée en essai clinique II) neutre a été mise au point.

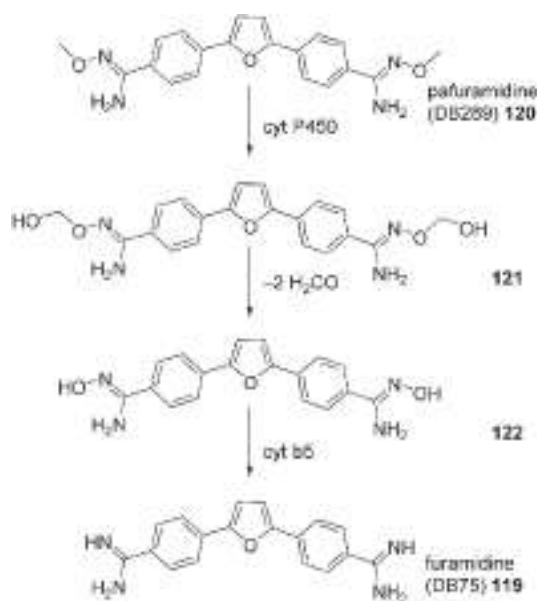


Figure 90: DB289, le promédicament biodisponible par voie orale de la furamidine, est transformé dans le foie en diamidine active.

Cependant il semblerait qu'un seuil d'affinité de liaison à l'ADN (226) soit nécessaire à l'action antiparasitaire. De plus, l'hypothèse selon laquelle les diamidines ne peuvent pas se lier à la FP (227) est victime de controverses. Les stilbamidines ont également fait preuve de leur activité curative antiplasmodiale. Les pentamidines ne pénétreraient que les érythrocytes infectés et aux travers de la nouvelle voie de perméabilité (NPP ou NVP) (228) même si 25% de la pentamidine est transportée par endocytose avec l'hémoglobine (229).

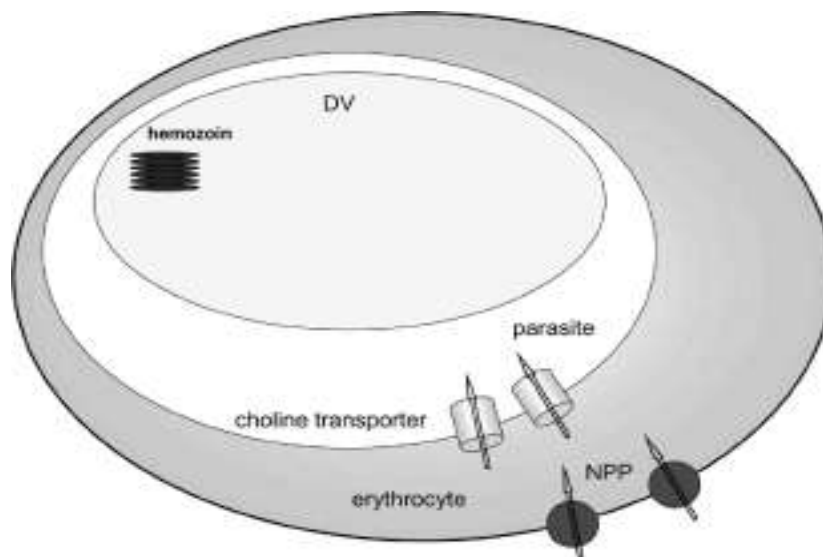


Figure 91 : Les diamidines et les composés dicationiques entrent via les NVP

Les dérivés :

- Diaza de la furamidine 123 ( $CI_{50} = 3,9 \text{ nM}$ ) [230],
- 1,4-diamidinophenylpipérazine 124 ( $CI_{50} = 4 \text{ nM}$ ), [231],
- biphenylbenzimidazole 125 (le plus puissant  $CI_{50}$  de  $0,5 \text{ nM}$ ),
- bisguanidinofluorène 126 ( $CI_{50} = 2,3 \text{ nM}$ ) [226] ainsi que deux diamidines linéaires (composés 127 et 128) à haute activité ( $CI_{50}$ :  $1,0$  et  $0,5 \text{ nM}$ , respectivement) (232) découverts ces dernières années sont tous plus actifs que la furamidine ( $CI_{50} 15,5 \text{ nM}$ ).

Les alkylamidoximes par leur action sur les multirésistances et leur grande tolérance à l'instar de DB289 font des diamidines une classe prometteuse.

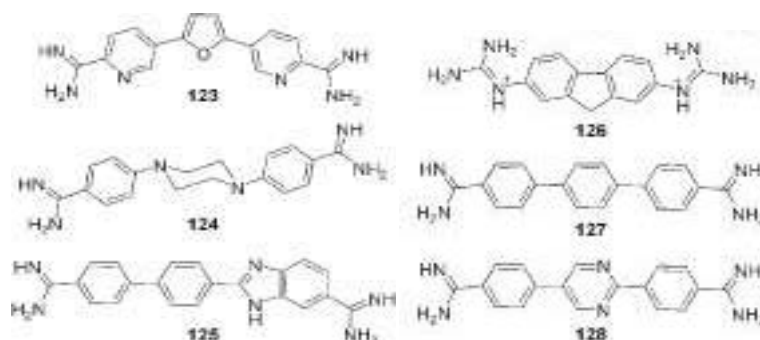


Figure 92 : Autres diamidines

La toxicité et la faible biodisponibilité orale des diamidines en particulier la, pentamidine doit être résolue avant leur utilisation en clinique.

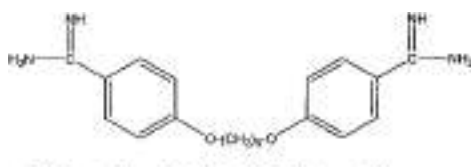


Figure 93 : La pentamidine

## 9. PHENOTHIAZINES

Les phénothiazines à l'instar du bleu de méthylène sont des antipaludiques qui exerceraient leur action en se liant à la FP puis en inhibant la formation de la b-hématine (233). Elles potentialiseraient également l'activité de la chloroquine (chlorpromazine) sur les souches résistantes de *Plasmodium falciparum* (234).

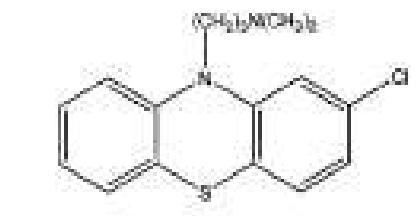


Figure 94 : La chlorpromazine

Enfin elles exercent tout comme les diphenylamines, les iminodibenzyles et les iminostilbènes une action chimiosensibilisante par inversion de la résistance à la chloroquine supérieure de surcroît au vérapamil, qui est l'agent modulateur standard de résistance multidrogués. Les caractéristiques optimales nécessaires à savoir : l'azote pyrrolidinyle stériquement condensé et la chaîne alkyle de quatre carbones se retrouvent dans le composé 63 qui a une activité modérée contre la lignée cellulaire TM91C235, avec la suppression d'environ 38% de la croissance cellulaire à 50 ng / ml (154 nM)

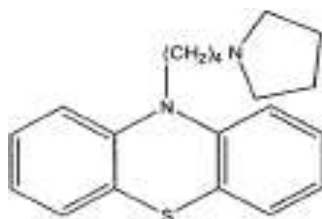


Figure 95 : Composé 63

## 10 LES INHIBITEURS DE L'ADOHCY HYDROLASE

La S-adénosyl-L-homocystéine (AdoHcy) hydrolase, responsable de l'hydrolyse de l'AdoHcy en adenosine et en L-homocystéine, a été reconnue comme une nouvelle cible pour des agents antipaludiques car le plasmodium possède une AdoHcy spécifique, qui est essentielle pour la prolifération du parasite. Plusieurs inhibiteurs de l'hydrolase AdoHcy, tels que l'antibiotique nucléoside carbocyclique la néplanocine A (NPA), ont de bons effets antipaludiques. Des études ont abouti à l'élaboration d'un dérivé méthylé de la NPA, la (60R)-60-C-méthylneplanocin A (RMNPA, composé 113) qui inhibe efficacement la croissance des parasites du paludisme à la fois *in vitro* et *in vivo*. Le composé 113 a une  $CE_{50}$  de 1,0 mg / kg / jour contre *P. berghei* chez la souris supérieure à celle de la chloroquine ( $CE_{50} = 1,8$  mg / kg / jour). Il a une importante activité *in vitro* avec une  $CI_{50}$  de 0,10 mM, supérieure à celle de la NPA ( $CI_{50} = 0,20$  mM). Il a également une cytotoxicité inférieure contre la prolifération des cellules III KATO ( $CI_{50} = 1,1$  mM) par rapport à NPA ( $CI_{50} = 0,22$  mM) et est complètement inactif dans les cellules Vero en phase stationnaire, avec aucun effet cytotoxique jusqu'à des concentrations de 1.800 mM (235).

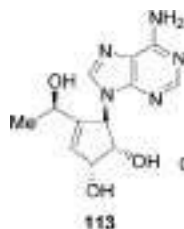


Figure 96 : le composé 113

## 11. LES INHIBITEURS DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE (AC)

*P. falciparum* code pour une anhydrase carbonique (CA) enzyme possédant des propriétés catalytiques distinctes de celle de l'homme. Une série de sulfonamides aromatiques, dont la plupart étaient des bases de Schiff, a été étudiée pour l'inhibition *in vitro* de l'enzyme (CA) et la croissance de *P. falciparum* (236). Plusieurs inhibiteurs avec une affinité dans la gamme micromolaire ( $K_i = 0,08$  à 1,23 mM) ont été détectés, les dérivés les plus puissants étaient l'acétazolamide utilisé cliniquement comme un sulfonamide inhibiteur de l'AC, et le 4 - (3,4-dichlorophenylureidoethyl)

benzènesulfonamide (composé 114). Le Composé 114 lipophile, expose un  $K_i$  de 80 nM, soit quatre fois plus efficace par rapport à l'acétazolamide ( $K_i = 315$  nM). Il est également efficace *in vitro* comme inhibiteur de la croissance de *P. falciparum* ( $CI_{50} = 2$  mM), tandis que l'acétazolamide atteint le même niveau d'inhibition à seulement 20 mM. L'efficacité accrue de ce composé par rapport à l'acétazolamide peut être expliquée par le fait qu'il est plus liposoluble et donc a une meilleure pénétration membranaire. En effet, en inhibant cette enzyme essentielle pour le cycle de vie du parasite, la synthèse des pyrimidines médiée par la carbamoyl synthase est altérée chez les *P. falciparum* mais pas dans l'hôte humain, ainsi ces sulfamides inhibiteurs de l'AC ont le potentiel qu'il faut pour le développement de nouveaux antipaludiques (236).

## 12. LES CHELATEURS DE FER

Le fer est essentiel pour la croissance, la multiplication parasitaire, et pour la ribonucléotide réductase, qui est un métalloenzyme contenant du fer (synthèse d'ADN). Il a été constaté que les essais cliniques de la thérapie de chélation avec de la desferrioxamine dans le paludisme cérébral réduit rapidement les symptômes de la parasitémie. Van Zyl et al (233) ont proposés que la desferrioxamine (234) en quelque sorte perturbe le complexe hémozoïne, générant ainsi des niveaux toxiques, des fragments dissociés de l'hème. Fait intéressant, le peroxyde hautement efficace contenu dans l'artémisinine dépend également de l'hémozoïne. Il convient toutefois de noter, que la desferrioxamine et la 3-hydroxypyridin-4-one inhibent l'activité antipaludique de l'artémisinine. Il est concevable, par conséquent, que la sélectivité de l'artémisinine pour les érythrocytes infectés ne soit pas associée à la présence de l'hémozoïne, mais, au niveau élevé de complexes de fer de faibles poids moléculaires.

Inspirée par ces enquêtes clés, une gamme variée de chélateurs de fer a été synthétisée, testée et trouvée comme possédant une activité antipaludique :

- les sidérophores tris-hydroxamate y compris les tripodes hydroxamates (235)
- les hydroxypyridin-4-ones (236)
- les ligands phénoliques et catécholiques incluant le HBED (237)
- la desferrithiocine (238)
- la daphnéine (234)

- une classe de composés dihydroxycoumarine (234)

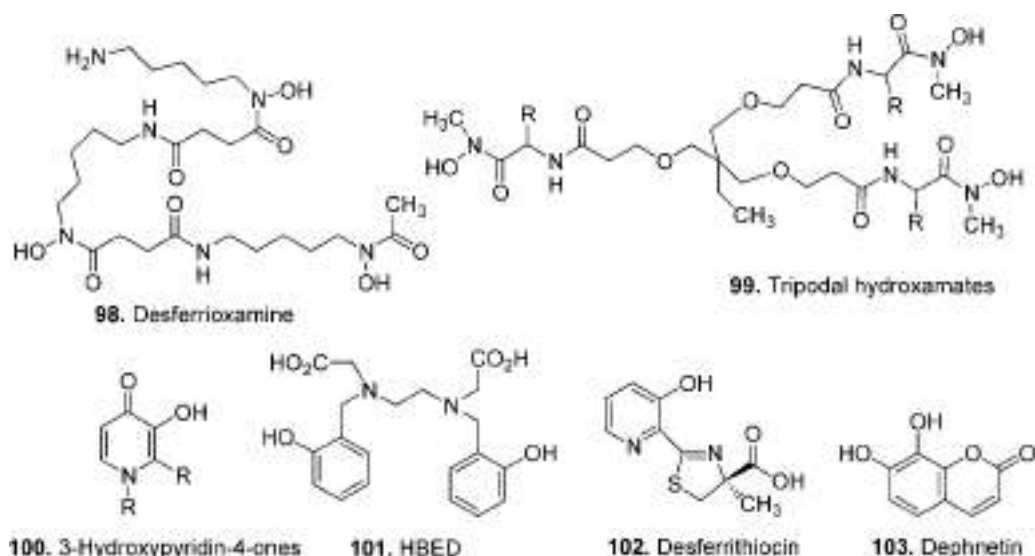


Figure 97 : les chélateurs de fer

Des dommages irréversibles dans le plasmodium peuvent être induits par l'utilisation simultanée de deux chélateurs, généralement un hydrophile et l'autre hydrophobe par conséquent, hautement perméable au parasite (239).

## 13. LES 1-ARYL-3,3-DIALKYLTRIAZENES

Dans le but de lutter contre la résistance il est apparu important de développer de nouveaux antipaludiques possédant des structures chimiques nouvelles (240). Keiji Nishiwaki et al. ont donc, évalués l'activité antipaludique des 1-aryl-3,3-dialkyltriazènes, basée sur le fait que les composés triazènes: les 1,3-diaryltriazènes, l'Isométramidium et le Bérénil possèdent une activité antipaludique.

### 13.1 Synthèse des 1-aryl-3,3-dialkyltriazène

Dans les normes standards la synthèse des alkyltriazènes a fournit de bons rendements (241) dans une étude menée sur douze composés. Les arylamines ont été traitées avec une solution de HCl dans NaNO<sub>2</sub> pour générer l'ion diazonium, puis les amines secondaires respectives et le carbonate de potassium ont été ajoutés à la solution en continu.

## 13.2 Résultats

Après évaluation de l'activité antipaludique *in vivo* sur la souche NK-65 sensible à la chloroquine et sur des souris femelles JCL-ICR (4-5 semaines, femelles), infectées par *Plasmodium berghei* à une dose de 100 mg / kgbw de triazènes, les taux : de survie, de 50% de survie et de parasitémie sur une étude de 14 jours ont été calculés.

Tableau XI : Activité antipaludique de triazènes contre *P. berghei* NK-65 chez des souris infectées par des parasites du sang, traités par voie sous-cutanée

Entry	Compound	Survival rate <sup>a</sup> (%)	50% Survival day <sup>b</sup>	> Parasitemia (% infected erythrocytes)		
				Day 3	Day 7	Day 14
1	4	80	>12.6	4.8	17.6	67.9
2	5	0	7.5	2.9	66.3	—
3	6	0	8.0	2.3	44.6	—
4	7	20	9.4	1.7	53.5	60.4
5	8	60	>14.0	4.8	27.0	62.5
6	9	0	10.3	1.7	53.9	—
7	10	40	10.4	5.6	54.6	81.7
8	11	0	7.0	4.2	76.4	—
9	12	40	>12.4	4.4	12.4	73.3
10	13	60	11.4	4.1	38.5	74.6
11	14	0	7.0	4.2	76.4	—
12	CQ	100	>14.0	ND	(<1.0)	(8.5)
Infected control	5% Arabic gum	0	7.0	4.8	76.5	—
Normal control		100	>14.0	NT	NT	NT

<sup>a</sup> Survival rate (%) = (the number of survival mice/5) x 100. <sup>b</sup> 50% Survival day = the total survival day of five mice/5.

Les 1-aryl-3,3-dialkyltriazènes possèdent donc effectivement une activité antipaludique utilisable en thérapie, avec des résultats intéressants en particulier concernant le 3,3-di-méthyl-1-(4-(trifluorométhyl)phényle)1-triazène (composé 4). Il apparaît que la substitution des groupes 3,3-diméthyl et 3,3-tétraméthylène sur le 3-azote du groupe triazényle a été bénéfique ainsi que celle du p-trifluorométhylphényle, p-chlorophényle et des groupes mésityles sur le 1-azote du groupe triazényle. Le composé 6 s'est également démarqué dans cette étude.



## 14. LES 2-METHYL-6-UREIDO-4-QUINOLINAMIDES

Dans la recherche de nouvelles classes de médicaments antipaludiques, Rastelli et al ont mis en évidence de puissants agents antipaludiques dérivés de l'urée (242) : Les 2-méthyl-6-uréido-4-quinolinamides. Le mécanisme d'action présumé a été l'interaction (liaison hydrogène) avec la dihydrofolate réductase (DHFR) de *Plasmodium falciparum* (Pf), d'autres chercheurs ont également évoqués l'inhibition des plasmepsines. Ces composés sont synthétisés avec la 2-méthyl-6-nitro-4-aminoquinoléine (243) comme substrat de base, et classés selon leur substitution en position 4 en deux groupes principaux :

- Les 2-méthyl-6-uréido-4-quinolinobenzamides
- Les 2-méthyl-6-uréido-4-quinolinoacétamides

### 14.1 La synthèse

Le substrat de départ le 2-méthyl-6-nitro-4-aminoquinoléine (244) a été préparé par une réaction connue (243). La réaction avec le chlorure d'acétyle, chlorure de benzoyle, le chlorure de benzoyle substitué ou le chlorure de chloroacétyle a fournie par la suite les amides requis. Ces amides ont été soumis à une réduction, soit par l'intermédiaire d'une hydrogénation en présence de Pd-C ou de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O afin obtenir de bons rendements.

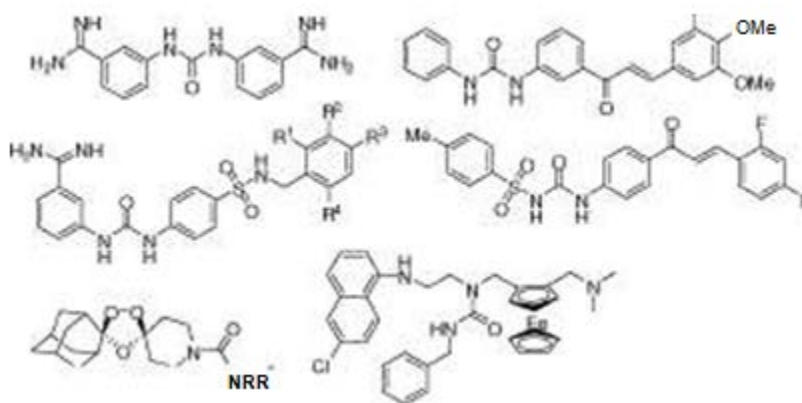


Figure 98 : quelques dérivés de l'urée qui présentent une activité antipaludique.

### 14.2 Les études *in vivo* et études de docking

Les études ont été menées à une dose orale de 100 mg / kg / jour contre la souche mdr de *P. yoelii nigeriensis* pendant sept jours et il apparaît une absence de suppression de la parasitémie qui supposerait la faible absorption des médicaments. Les études de docking (technique de modélisation moléculaire

bioinformatique) n'ont pas pu expliquer la puissante activité des noyaux furanes et ont cependant permis de suivre l'interaction d'un composé type choisi : l'antifolate WR99210.

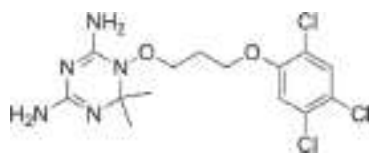


Figure 99 : Structure de WR99210

Elle retrace le modèle d'interaction des 2-méthyl-6-uréido-4-quinolinamide en général et de WR99210 en particulier.

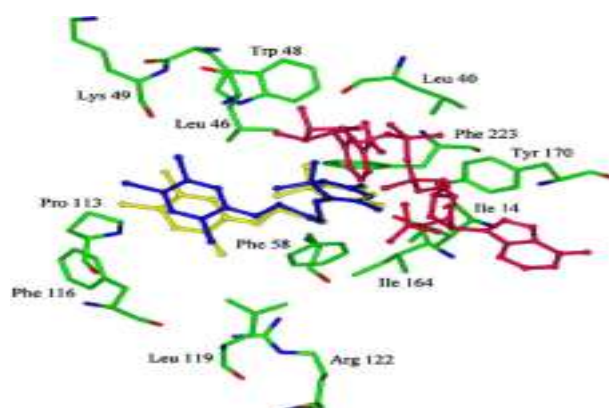


Figure 100 : Structure du WR99210 et sa conformation ( jaune ) lors des études de docking.  
La conformation de la structure cristalline de WR99210 (bleu) dans la PfDHFR.

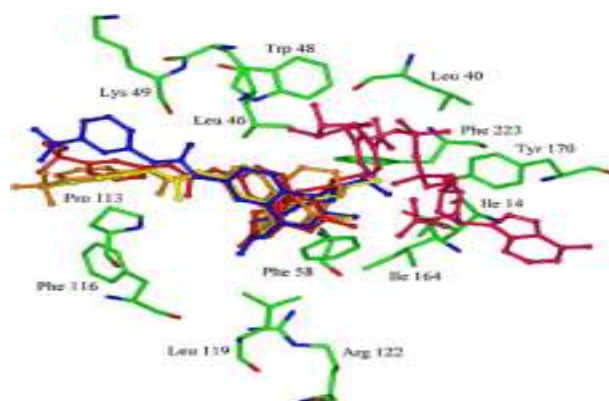


Figure 101 : Conformation après docking de 13i (violet), 14j (vert clair), 15a (gris), 16e (bleu clair) dans la PfDHFR.

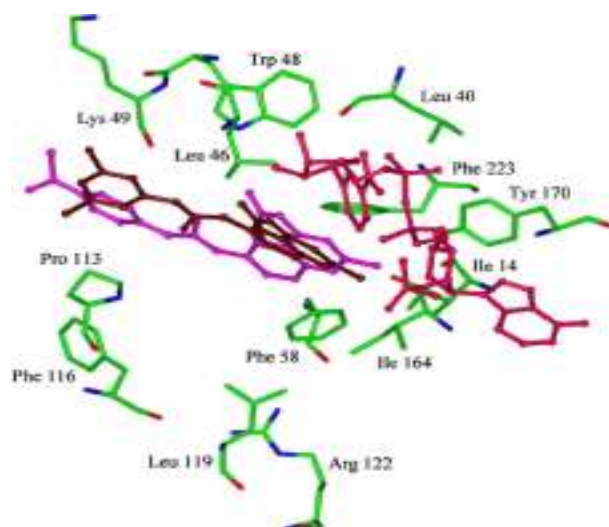


Figure 102 : Conformation de 17h (magenta), 17j (marron) dans la PfDHFR.

Les composés disubstitués sur le cycle phényle au niveau de la sous unité arylurée, en général sont plus actifs que les monosubstitués. L'introduction d'un chlore sur le phényle de la sous unité benzamide n'améliore que de peu l'activité on obtient une remarquable activité par substitution par un furyle, comme dans le composé 16. Le remplacement de la pipérazine par une pipéridine aboutie a une activité prometteuse. Les 2-méthyl-6-uréido-4-quinolinamides arylurées ont démontrés en plus de leur puissante activité antipaludique un effet antibactérien supérieur à celui de la gentamycine. Même si par manque d'information, il est difficile de se prononcer sur leur mécanisme d'action, et que la suppression de la parasitémie n'est pas totale du fait d'une possible faible absorption, ce groupe est un prometteur en thérapie palustre.

## 15. LE HGF ET SON RECEPTEUR C-MET, CIBLES POSSIBLES DE LA PROPHYLAXIE ANTIPALUDIQUE

Lors des études des mécanismes moléculaires qui sous-tendent le passage du plasmodium, Margarida Cunha-Rodrigues et al. ont réalisé que les hépatocytes blessés par des sporozoïtes de migration communiquaient un ou plusieurs facteurs susceptibles d'induire l'infection (ISIF), lesquels rendaient les hépatocytes voisins sensibles à l'infection. Des travaux subséquents ont montrés que l'un de ces ISIF libérés est le facteur de croissance des hépatocytes (HGF) et que le développement du sporozoïte dans les hépatocytes dépend de l'activation du récepteur du facteur de croissance des hépatocytes (HGF), également connu sous le nom de protooncogène c-MET (244).

La liaison HGF-MET est naturellement inhibée, la forme soluble de c-MET, génère génétiquement une protéine de fusion MET-IgG, des anticorps anti-MET (245), et des aptamères c-MET sélectifs (246). De plus l'angiostatine, un fragment du plasminogène par son homologie de séquence à 47% inhibe sélectivement mais en partie le c-MET et donc les effets de HGF.

D'après les études menées le développement des sporozoïtes dans le foie pourrait être compromis par des composés qui :

- inhibent l'expression soit de HGF ou de c-MET
- et / ou interfèrent avec les fonctions de c-MET au niveau de la membrane plasmique
- inhibent la médiation de la transduction du signal de HGF. Et ses inhibiteurs de la dégradation (247), sont des peptides correspondant à la séquence C-terminale du c-MET en contact avec la poche catalytique (248)
- provoquent l'activation du précurseur pro-HGF de chaîne unique par clivage protéolytique entre Arg494 et Val495 (249) car l'activité de HGF est étroitement contrôlée par les modifications post-traductionnelles.
- empêchent la liaison de HGF à son récepteur c-MET qui est un récepteur tyrosine kinase comme c'est le cas de certaine isoformes de HGF générées par épissages différentiels de la transcription des HGF primaires. NK2 est un antagoniste qui entraîne des métastases (250) et NK4 un antagoniste pur (251) dont les variantes ont été développées par la société Biotech Genentech (252).

L'utilisation des inhibiteurs de tyrosine kinase en thérapie palustre est pertinente car le plasmodium ne possède pas de tyrosines kinases limitant ainsi les phénomènes de résistance (253). Le K525 est un carbazole inhibiteur de la plupart des protéines kinases et inhibiteur de c-MET à des concentrations nanomolaires (254) *in vitro* (255). La génistéine (256) inhibe la signalisation HGF/MET et la tyrosine *in vitro* et *in vivo*. Même si elle semble non qualifiée la diminution de l'incidence des cancers qu'elle entraîne et l'absence d'effets indésirables évident font d'elle un chef de file très prometteur.

Une autre voie d'étude concerne celle du SU11274 un sulfamide inhibant la croissance cellulaire induite par un récepteur de fusion protéique constitutivement actif la TPR-HGF, mais sans effet sur les autres tyrosines kinases (257).

Le fait que la signalisation HGF / MET activerait la PI3K responsable dans les hépatocytes infectés de la réorganisation de l'actine (256) et inhiberait l'apoptose des cellules d'accueil (258), fait des protéines impliquées de potentielles cibles. Ce qui emmène à dire que les protéines supplémentaires qui y sont impliquées pourraient servir de cible.

# CONCLUSION

Selon le Rapport mondial de 2011, le paludisme est prévalent dans 106 pays des régions tropicales et subtropicales. Le paludisme est un problème majeur de santé publique, surtout pour les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes en Afrique, où on rencontre la majorité des cas de décès et de maladie. Au cours des dix dernières années, il ya eu un regain dans l'investissement massif international pour la lutte antipaludique. Le Sénégal dispose aujourd'hui du réseau de sites sous surveillance démographique et sanitaire continue le plus ancien (1962), et le plus important d'Afrique. En 2012 près de 800 000 personnes enregistrées étaient suivies dans sept sites regroupant près d'un millier de villages et couvrant les principaux faciès épidémiologiques du pays. La prévalence du paludisme était de 5,7 % en 2009 avec un taux de morbidité de 3,07% et de mortalité à 4,41% (versus 29,72% en 2005), témoignant d'une évolution dans la lutte antipaludique.

Cependant, d'une façon générale, l'émergence rapide et la propagation de la résistance renforce la nécessité de la détection précoce des souches de Plasmodium résistantes aux médicaments et une variété de méthodes ont été développées pour résoudre ce problème

Aujourd'hui, juste une poignée de médicaments sont utilisables :

- La quinine, toujours en vigueur dans le traitement du paludisme grave, associable à la doxycycline ou la clindamycine.
- L'amodiaquine et la méfloquine, toujours efficaces même si elles demeurent sujettes à des phénomènes de résistance.
- Concernant la famille des artémisinines, les monothérapies ont clairement montré leur limite et parmi les combinaisons :
  - La combinaison artéméter-luméfantrine, souffre de rapports attestant une inquiétante baisse d'efficacité en Asie du Sud.
  - l'atovaquone-proguanil a fait ses preuves, mais coûte cher.
  - L'artésunate, le partenaire de combinaison principal, recommandé par l'OMS, pose problème à cause de sa dégradation, la possibilité de résistance, et du problème de disponibilité du produit naturel : l'artémisinine.
- La combinaison antifolate de la dapsonne, abordable et efficace contre les souches prédominantes en Afrique, ne l'est plus en Asie et une résistance est à craindre même en Afrique.

La primaquine, la seule efficace contre les stades dormants, entraîne des effets secondaires mortels chez les déficients en G6PD.

Ceci a conduit à une recrudescence dans le développement de nouveaux médicaments et de mécanismes d'action novateurs, et une réévaluation des médicaments existants afin de surmonter le problème de résistance. Le séquençage du génome de *P. falciparum* sur la base d'un consortium international a suscité l'espoir que des informations précieuses à l'égard des cibles de médicaments et de vaccins soient obtenues pour vaincre une maladie concurrençant le sida et la tuberculose en tant que problème mondial de santé le plus pressant. Une bonne partie des médicaments qui sont sur le point de franchir le cap de développement clinique appartiennent à des classes de médicaments qui ont longtemps été utilisées à savoir : les 4-aminoquinoléines avec le F<sub>2</sub>B<sub>U</sub> plus stable que l'AQ 13, la tert-butyl-isoquine, les pyrrolizidinyles comme le MG3 prometteur ; et dans l'inversion de résistance à la chloroquine : les pyrrolidines, les phénothiazines, les anthracènes mais surtout les ferroquines. Le développement de certaines molécules comme, les bisquinoléines libres d'effets secondaires toxiques, et d'analogues quinoléiques modifiés comme les guanidines, les quinolinamides, peuvent être utiles à l'obtention de candidats-médicaments inhibant la croissance des parasites chloroquino-sensibles et résistants. En ce qui concerne les 8-aminoquinoléines, la tert-butyl primaquine avec l'absence de la formation de méthémoglobine et de biotransformation constitue avec les imidazolidin-4-ones et le NPCP1161B des composés intéressants. Les antifoliques dihydrothiazines, diamidopyrimidines et quinazolines (ICI D1694), ont pu contourner le problème de résistance à cette classe.

Quelques combinaisons ont été découvertes, parmi lesquelles :

- La combinaison artémisinine-Naphthoquine (de structure très proche de l'amodiaquine) sûre et efficace ;
- La combinaison pipéraquine-dihydroartémisinine supérieure d'efficacité à l'artésunate-amodiaquine et souffrant de résistance et d'augmentation de la pression artérielle;
- La combinaison pyronaridine-artésunate en développement et la trithérapie dapson-chlorproguanil-artésunate prometteuse et également en développement. Cependant toutes ces combinaisons ont déjà été victimes de résistance en Asie.



Parmi les endoperoxydes : l'OZ439, le fenozan B07, le RKA 182, les dimères carba non-acétal en C-10, les dérivés 1, 2,4-trioxolanes peuvent être considérés comme prometteurs, et sont à divers stades de développement.

D'autres nouvelles cibles peuvent maintenir ce fléau ancien en échec de façon soutenue et uniforme. Quelques points intéressants sont notés à partir de cet examen de nouveaux agents antipaludiques. Tout d'abord, il ya une grande diversité structurale dans les composés qui possèdent une activité antipaludique intéressante (micromolaire et inférieure). Même si le mécanisme d'action de beaucoup de ces composés reste flou, la diversité structurelle peut être un reflet de la variété des cibles potentielles qui existent dans le plasmodium, un organisme d'une complexité considérable. On note aussi une tendance encourageante à la mise au point de médicaments contre des cibles spécifiques plasmodiales telles que: la farnésyl transférase plasmodiale, les kinases dépendantes des cyclines, les protéases et les transporteurs de choline. Il est à noter que bon nombre de nouveaux agents d'origine naturelle sont des molécules lipophiles peptidiques et peptidomimétiques. Les cibles basées sur des agents antipaludiques chélateurs de fer, les sels d'ammoniums quaternaires comme T3 dont la confirmation de la pertinence est attendue, les 1 aryl-3,3-diakyltriazènes du fait de leur nouveauté d'apport en chimie, ont prouvés leur importance.

Nous notons que parmi ces composés, certains ont un mécanisme d'action novateur qui n'avait pas encore été exploité en thérapie palustre : c'est le cas de T3, de la fosmidomycine, et de la furamidine. Les dérivés fluorés des composés dans la grande majorité des cas se sont révélés être de très puissants inhibiteurs de l'activité antipaludique. Une grande variété de protéines de petit poids moléculaire interférant avec le facteur de croissance HGF et son récepteur c-Met ont pu conduire, à K525a, et à l'évaluation de la génistéine. Nous croyons que la génistéine pourrait être une piste très prometteuse sur les stades hépatiques de l'infection et en prophylaxie.

Toutes ces études ont menées à la découverte de molécules intéressantes et prometteuses disponibles pour une optimisation plus poussée dans le but de fournir des composés utilisables en thérapie palustre. On compte également, le développement de vaccins tels que, MSP3 et surtout le prometteur RTS,S, ainsi que les pistes nouvelles récemment explorées comme :

- la découverte de nouveaux marqueurs moléculaires de résistance,

- la mise en évidence d'une protéine capable de bloquer la survie du parasite, d'une protéine humaine clé de l'infection et l'identification d'une mutation protectrice de l'hémoglobine.

Toutes ces informations, donnent aux progrès en cours une impulsion décisive et optimiste en vue de l'éradication, d'un fléau qui a frappé l'humanité avec une telle impunité.

## Références :

- 1- Fiche d'actualité scientifique numéro 394 jan 2012 ; IRD (institut de recherche pour le développement).
- 2- Anonyme. Le paludisme dans le monde. [http : // astrium. Com/maladies : visa09-6.html](http://astrium.Com/maladies:visa09-6.html) : 11/2000.
- 3- OMS. Paludisme, Aide Mémoire n°94. Avril 2010. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/index.html>
- 4- Malvy D, Djossou F, Thiebaut R, Le Bras M. Plasmodies-Malaria. Formes cliniques et diagnostic dans Encyclopédie médico-chirurgicale. Paris, Elsevier, 2000 : 8-507-A-20.
- 5- La lettre d'information n° 29 du 30 septembre 2012 est consacrée au paludisme, Professeur Pierre Aubry. Texte écrit le 30 septembre 2012
- 6- Mendis K, Sina B, Marchesini P, Carter R, « The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria », dans Am J Trop Med, vol. 64, n°1-2, p. 97-106, 2001
- 7- DESAKORN V., DONDORP A.M., SILAMUT K.B, Stage-dependent production and release of Histidin-rich protein 2 by *Plasmodium falciparum*, *trans. R. Soc. Med. Hyg.* 99 (2005) 517-524.
- 8- Gentilini M. Le paludisme dans Médecine Tropicale. Paris : Flammarion, 1990 : 91:122.
- 9- Wiesner J., Ortmann R., Jomaa H., Schlitzer M., New antimalarial drugs. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 5274-5293.
- 10- Pages F, Orlandi-Pradines E and Corbel V. Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. *Med Mal Infect.* 2007 Mar;37(3):153-61.
- 11- Carnevale P et Robert V. Les anophèles, Biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. IRD Editions: Collection Didactique. Marseille. 2009:391 p.
- 12- OMS. Recommandations de l'OMS pour les voyages internationaux. Chapitre 7 Paludisme. Edition 2011. <http://www.who.int/ith/fr/>
- 13- ANOFEL Parasitologie Mycologie. 7eme Edition. Format Utile Editions. Saint-Maur. 2002:494 p.
- 14- Rial M, Checa MÁ, Genovés J y Carreras R. Malaria y embarazo: fisiopatología y manejo. *Ginecología y Obstetricia Clínica.* 2009;10(3):157-64.
- 15- WHO. (2000) Severe *Plasmodium falciparum* Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 94, Suppl: 90 p.
- 16- DE GENTILE L., Diagnostic biologique du Paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*, Rapport bibliographique pour la conférence du consensus<<prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*>> Méd. Mal. Infect. 29(suppl.2) (1999) 187s-203s
- 17- Parzy, D., Raphenon B 1994., Martet G., Nicholas P., Touze J.E., Boudon D. Lacamus J.L., 1990: Quantitative buffy coat (Q.B.C) Monofluorokit *falciparum* test, comparative value in the rapid Diagnosis of malaria

- 18- Mullis K. (1990) The unsuaal origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, April 1990, S.36-43.
- 19- Greenwood, D. (1995) Conflicts of interest: the genesis of syn-thetic antimalarial agents in peace and war. *J. Antimicrob. Chemother.* 36: 857-872.
- 20- Greenwood, D. (1995) Conflicts of interest: the genesis of synthetic antimalarial agents in peace and war. *J. Antimicrob. Chemother.* 36: 857-872.
- 21- Peters, W. (1987) *Chemotherapy and Drug Resistance in Malaria*. Academic Press, London.
- 22- Hofheinz, W. and Merkli, B. (1984) Quinine and quinine analogues. In: *Antimalarial Drugs II*, pp. 61-81, Peters, W. and Richards, W. H. G. (eds.) Springer Verlag, Berlin
- 23- Sweeney, T. R. ( 1984) Drugs with quinine-like action In: *Antimalarial Drugs II: Current Antimalarials and New Drug Developments*, pp. 267-313, Peters, W. and Richards, W. H. G. (eds.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- 24- Palmer, K. J., Holliday, S. M. and Brogden, R. N. (1993) Mefloquine. A review of its antimalarial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 45: 430—475.
- 25- Matson, P. A., Luby, S. P., Redd, S. C., Rolka, H. R. and Meri-wether, R. A. ( 1996) Cardiac effects of standard-dose halofantrine therapy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 54: 229-231.
- 26- M. T. Duraisingh, A. F. Cowman, *Acta Trop.* 2005, 94, 181-190.
- 27- Meshnick SR, Jefford CW, Posner GH, Avery MA, Peters W. Second-generation antimalarial endoperoxides. *Parasitol Today* 1996;12:70-82.
- 28- W. R. Taylor, N.J.White, *Drug Saf* 2004, 27, 25-61.
- 29- Chang, C., Lin-Hua, T. and Jantanavivat, C. (1992) Studies on a new antimalarial compound: pyronaridine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86: 7-10.
- 30- J. Berman, *Travel Med. Infect. Dis.* 2004, 2,171 -184.
- 31- F. Ezzet, M. van Vugt, F. Nosten, S. Looareesuwan, N. J.White, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 697-704.
- 32-Basco LK, Ruggeri C, Le Bras J. Molécules antipaludiques. Paris: Masson. 1994;115-120.
- 33- W. H. Wernsdorfer, *Curr. Opin. Anti-Infect. Invest. Drugs* 2000, 2, 88-98.
- 34- G. D. Shanks, M. D. Edstein, *Drugs* 2005, 65, 2091 -2110.
- 35- A. A. Divo, T. G. Geary, J. B. Jensen, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985,27, 21-27.
- 36- P. M. Hawkey, *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, 51, 29-35.
- 37- S. Pukrittayakamee, S. Prakongpan, S. Wanwimolruk, R. Clemens, S. Looareesuwan, N.J. White, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, 47,1509-1513.
- 38- A. E. T. Yeo, M. D. Edstein, G. D. Shanks, K. H. Rieckmann, *Parasitol. Res.* 1997, 83,489-491.

- 39- B. Lell, P. G. Kremsner, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002, 46,2315-2320.
- 40- W. R. Taylor, T. L. Richie, D. J. Fryauff, H. Picarima, C. Ohrt, D. Tang, D. Braitman, G. S. Murphy, H. Widjaja, E. Tjitra, A. Ganjar, T. R. Jones, H. Basri, J. Berman, *Clin. Infect. Dis.* 1999, 28, 74-81
- 41- J. Wiström, S. R. Norrby, S. Eriksson, G. Ganström, L. Lagergren, G. Englund, C. E. Nord, B. Svenungsson, *J. Antimicrob. Chemother.* 2001, 47,43-50.
- 42- R. D. Birkenmeyer, S. J. Kroll, C. Lewis, K. F. Stern, G. E. Zurenko, *J. Med.Chem.* 1984, 27, 216-223.
- 43- F. SchlSnzen, R. Zarlvach, J. Harms, A. Bashan, A. Toclij, R. Albrecht, A. Yonath, F. Franceschi, *Nature* 2001, 413, 814-821.
- 44- Antibiotics and the Plasmodial Plastid Organelle": B. Clough, R. J. M.Wilson in *Antimalarial Chemotherapy: Mechanisms of Action, Resistance, and New Directions in Drug Discovery* (Ed.: P. J. Rosenthal), Humana, Totowa, 2001, pp. 265-286.
- 45- A
- 46- WHO scientific group, *Chemotherapy of Malaria and Resistance to Antimalarials*. WHO, Geneva 1973. Noedl, H., Bronnert, J.,
- 47- I. M. Hastings, *Trends Parasitol.* 2004, 20, 512-518.
- 48- S. Krudsood, M. Imwong, P. Wilairatana, S. Pukrittayaka-mee, *et al., Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2005, 99, 142-149.
- 49- M. D. Parenti, S. Pacchioni, A. M. Ferrari, G. Rastelli, *J. Med. Chem.* 2004, 47, 4258-4267
- 50- J. A. Simpson, D. Hughes, C. Manyando, K. Bojang, *et al., Br. J. Clin. Pharmacol.* 2006, 61, 289-300.
- 51- Triglia, T., Menting, J. G. T., Wilson, C. and Cowman, A. F. (1997) Mutations in dihydropteroate synthase are responsible for sulfone and sulfonamide resistance in *Plasmodium falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 13944-13949.
- 52- Ismail, F. M., Dascombe, M. J., Carr, P. and North, S. E. (1996) An exploration of the structure-activity relationships of 4-aminoquinolines: novel antimalarials with activity in-vivo. *J. Pharm. Pharmacol.* 48: 841-850.
- 53- Ryckebusch A, Deprez-Poulain R, Maes L, Debreu-Fontaine M-A, Mouray E, Grellier P, Sergheraert C. Synthesis and in vitro and in vivo antimalarial activity of N1-(7-chloro-4-quinolyl)-1,4-bis(3- aminopropyl)piperazine derivatives. *J Med Chem* 2003;46:542-557.
- 54- F. Mzayek, H. Deng, F. J. Mather, E. C. Wasilevich, *et al., PLoS Clin. Trials* 2007,2, e6.
- 55- R. G. Ridley, W. Hofheinz, H. Matile, C. Jaquet, A. Dorn, R. Masciadri, S. Jolidon, W. F. Richter, A. Guenzi, M.-A. Girometta, H. Urwyler, W. Huber, S. Thaithong, W. Peters, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996,
- 56- P. A. Stocks, K. J. Raynes, P. G. Bray, B. K. Park, P. M. O'Neill, S. A. Ward, *J.Med. Chem.* 2002, 45, 4975-4983.

- 57- Bitonti AJ, Sjoerdsma A, McCann PP, Kyle DE, Oduola AMJ, Rossan RN, Davidson DE, Jr. Reversal of chloroquine resistance in malaria parasite *P. falciparum* by desipramine. *Science* 1988;242:1301-1303.
- 58- P. M. O'Neill, *Parasitologica* 2005, 47(suppl. 1)ACHEGRTNU, 37. [80] P. M. O'Neill, personal communication. [81] P. M. O'Neill, A. C. Harrison, R. C. Storr, S. R. Hawley, S.A. Ward, B. K.Park, *J. Med. Chem.* 1994, 37, 1362-1370. [82] J. Lee, J. Son, S.-J. Chung, E.-S. Lee, D.-H. Kim, *J. Mass Spectrom.* 2004,
- 59-Peters W, Ekong R, Robinson BL, Warhurst DC, Pan XQ. Antihistaminic drugs that reverse chloroquine resistance in *P. falciparum*. *Lancet* 1989;334-335.
- 60-Guan J, Kyle DE, Gerene L, Zhang Q, Milhous WK, Lin AJ. Design, synthesis and evaluation of new chemosensitizers in multi-drug-resistant *Plasmodium falciparum*. *J Med Chem* 2002;45:2741-2748.
- 61- Vennerstrom JL, Ellis WY, AgerLA, Anderson SL, GerenaL, Milhous WK. Bisquinolines: 1. N,N-Bis(7-chloroquine-4-yl)alkanediamines with potential activity against chloroquine-resistant malaria. *J Med Chem* 1992;35:2129-2134.
- 62- O'Neill PM, Willock DJ, Hawley SR, Bray PG, Storr RC, Ward SA, Park BK. Synthesis, antimalarial activity, and molecular modeling of tebuquine analogs. *J Med Chem* 1997;40:437-448.
- 63- Vippagunta SR, Dorn A, Matile H, Bhattacharjee AK, Karle JM, Ellis WY, Ridley RG, Vennerstorm JL. Structural specificity of chloroquine-hematin binding related to inhibition of hematin polymerization and parasite growth. *J Med Chem* 1999; 42:4630-4639.
- 64- Ryckebusch A, Deprez-Poulain R, Debreu-Fontaine M-A, Vandaele R, Mouray E, Grellier P, Sergheraert C. Parallel synthesis and antimalarial activity of a sulfonamide library. *Bioorg Med Chem Lett* 2002; 12:2595-2598.
- 65-Girault S, Grellier P, Berecibar A, Maes L, Lemiere P, Mouray E, Elisabeth DC, Sergheraert C. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of bis-, tris- and tetraquinolines with linear cyclic amino linkers. *J Med Chem* 2001 ;44:1658-1665.
- 66-Raynes K, Galatis D, Cowman AF, Tilley L, Deady L. Synthesis and activity of some antimalarial bisquinolines. *J Med Chem* 1995;38:204-206.
- 67- MINODIER P., Dépistage du paludisme : Tests rapides, *Journal de pédiatrie et de puériculture* 18 (2005) 386-388.
- 68- SMITH T., CHARLWOOD J.D., KIHONDA J., Absence of seasonal variation in malaria parasitaemia in area of intense seasonal transmission. *Acta Trop.* 1993; 54: 55-72.
- 69- AyadF, Tilley L, Deady LW. Synthesis, antimalarial activity and inhibition of heme detoxification of novel bisquinolines. *Bioorg Med Chem Lett* 2001; 11:2075-2077.
- 70- Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales , Actualités 2012 ,Texte mis à jour le 14/01/2013, Professeur Pierre Aubry (1), Docteur Marie-Christine Jaffar-Bandjee

- 71- O'Neill, P. M., Harrison, A. C., Storr, R. C., Hawley, S. R., Ward, S. A. and Park, B. K. (1994) The effect of fluorine substitution on the metabolism and antimalarial activity of amodiaquine. *J. Med. Chem.* 37: 1362-1370.
- 72- O'Neill, P. M., Willock, D. J., Hawley, S. R., Bray, P. G., Storr, R. C., Ward, S. A. and Park, B. K. (1997) Synthesis, antimalarial activity, and molecular modeling of tebuquine analogues. *J. Med. Chem.* 40: 437-448.
- 73- Barlin, G. B., Nguyen, T. M. T., Kotecka, B. and Rieckmann, K. H. (1992b) Potential antimalarials. XV. Di-Mannich bases of 2-[7-chloroquinolin-4'-yl<sup>amino</sup>]phenol and 2-[7'-bromo(and trifluoromethyl)-1\5'-naphthyridin-4'-ylamino]phenol *Aust. J. Chem.* 45: 1651-1662.
- 74- Barlin, G. B., Jiravinyu, C., Butcher, G. A., Kotecka, B. and Rieckmann, K. (1992a) The in vitro and in vivo antimalarial activity of some Mannich bases derived from 4-(7'-trifluoromethyl-1',5'-naphthyridin-4'-ylamino)phenol, 2-(7'-trifluoromethyl-quinolin-4'-ylamino)phenol, and 4'-chloro-5-(7''-trifluoromethylquinolin-4''-ylamino)biphenyl-2-ols. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 86: 323-331
- 75- Kotecka, B. M., Barlin, G. B., Edstein, M. D. and Rieckmann, K. H. (1997) New quinoline di-Mannich base compounds with greater antimalarial activity than chloroquine, amodiaquine, or pyronaridine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 1369—1374.
- 76- O'Neill, P. M.; Ward, S. A.; Berry, N. G.; Jeyadevan, J. P.; Biagini, G. A.; Asadollaly, E.; Park, B. K.; Bray, P. G. *Curr. Top. Med. Chem.* 2006, 6, 479.
- 77- Miyano, S.; Sumoto, K.; Satoh, F.; Shima, K.; Hayashimatsu, M.; Morita, M.; Aisaka, K.; Noguchi, T. *J. Med. Chem.* 1985, 28, 714.
- 78- Takeda, M.; Tsukamoto, K.; Yamano, M.; Uesaka, H. *Jpn. J. Pharmacol.* 1999, 292.
- 79- Oka, M.; Baba, K.; Nakamura, L.; Dong, L.; Hamajima, H.; Unno, R.; Matsumoto, Y. *J. Heterocycl. Chem.* 2003, 40, 177.
- 80- <http://www.mmv.org>.
- 81- J. Wang, W. Cao, C. Shan, M. Zhang, G. Li, D. Ding, Y. Shi, B. Wu, *Acta Trop.* 2004, 89, 375-381.
- 82- T. M. Davis, T. Y. Hung, I. K. Sim, H. A. Karunajeewa, K. F. Ilett, *Drugs* 2005, 65, 75-87.
- 83- J. K. Baird, E. Schwartz, S. L. Hoffman, *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2007, 9, 39-46.
- 84- Medicines for Malarial Venture (<http://www.mmv.org>).
- 85- A. R. Hasugian, H. L. Purba, E. Kenangalem, R. M. Wuwung, *etal.*, *Clin. Infect. Dis.* 2007, 44, 1067-1074.
- 86- B. Janssens, M. van Herp, L. Goubert, S. Chan, *et al.*, *Trop. Med. Int. Health* 2007, 12, 251-259.
- 87- S. Looareesuwan, D. E. Kyle, C. Viravan, S. Vanijanonta, *et al.*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996, 54, 205-209.
- 88- J. Wang, W. Cao, C. Shan, M. Zhang, G. Li, D. Ding, Y. Shi, B. Wu, *Acta Trop.* 2004, 89, 375-381.

- 89- T. M. Davis, T. Y. Hung, I. K. Sim, H. A. Karunajeewa, K. F. Ilett, *Drugs* 2005, 65, 75-87.
- 90- J. K. Baird, E. Schwartz, S. L. Hoffman, *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2007,9, 39-46.
- 91- Medicines for Malarial Venture (<http://www.mmv.org>).
- 92- A. R. Hasugian, H. L. Purba, E. Kenangalem, R. M. Wuwung, *etal.*, *Clin. Infect. Dis.* 2007,44,1067-1074.
- 93- B. Janssens, M. van Herp, L. Goubert, S. Chan, *et al.*, *Trop. Med. Int. Health* 2007,12, 251-259.
- 94- S. Looareesuwan, D. E. Kyle, C. Viravan, S. Vanijanonta, *etal.*, *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 1996,54, 205-209.
- 95- B. Pradines, M. Mabika, M. M. Mamfoumbi, D. Parzy, *et al.* *Am.J. Trop. Med. Hyg.* 1999,60,105-108.
- 96- I. Bathurst, C. Hentschel, *Trends Parasitol.* 2006, 22, 301-307
- 97- S. Krudsood, M. Imwong, P. Wilairatana, S. Pukrittayakamee, *et al.*, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2005, 99, 142-149.
- 98- A. Nzila, E. Ochong, E. Nduati, K. Gilbert, *et al.*, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2005,99, 341-346.
- 99- I. Bathurst, C. Hentschel, *Trends Parasitol.* 2006, 22, 301-307.
- 100- MMV Press Release, November 15,2005.
- 101- Martin SK, Oduola AM, Milhous WK. Reversal of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* by verapamil. *Science* 1987;235:899-901.
- 102- Bitonti AJ, Sjoerdsma A, McCann PP, Kyle DE, Oduola AMJ, Rossan RN, Davidson DE, Jr. Reversal of chloroquine resistance in malaria parasite *P. falciparum* by desipramine. *Science* 1988;242:1301-1303.  
Institute of Medicine -Rapport du 25 mai 2006 - Battling Malaria: Strengthening the U.S. Military Malaria Vaccine Program
- 103- Peters W, Ekong R, Robinson BL, Warhurst DC, Pan XQ. Antihistaminic drugs that reverse chloroquine resistance in *P. falciparum*. *Lancet* 1989;334-335.
- 104- Chandra S, Ohnishi ST, Dhawan BN. Reversal of chloroquine resistance in murine malaria parasites by prostaglandin derivatives. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:645-651.
- 105- Guan J, Kyle DE, Gerene L, Zhang Q, Milhous WK, Lin AJ. Design, synthesis and evaluation of new chemosensitizers in multi-drug-resistant *Plasmodium falciparum*. *J Med Chem* 2002;45:2741-2748 D. Taramelli, *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 5338-5345.
- 106- A. Sparatore, N. Basilico, S. Parapini, S. Romeo, F. Novelli, F. Sparatore, D. Taramelli, *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 5338-5345.
- 107- Ryckebusch A, Debreu-Fontaine M-A, Mouray E, Grellier P, Sergheraert C, Melnyk P. Synthesis and antimalarial evaluation of new N1-(7-chloro-4-quinolyl)-1,4-bis(3-aminopropyl)piperazine derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 2005; 15:297-302.



- 108- Stocks PA, Raynes KJ, Bray PG, Park BK, O'Neill PM, Ward SA. Novel short chain chloroquine analogs retain activity against chloroquine resistant K1 P. falciparum. *J Med Chem* 2002;45:4975-4983.
- 109- Wiesner, J.; Ortmann, R.; Schlitzer, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2003, 42, 5274.
- 110- M.D. Tingle, H. Jewell, J.L. Maggs, P.M. O'Neill, B.K. Park, *Biochem. Pharmacol.* 50 (1995) 1113e1119.
- 111- K.A. Neftel, W. Woodtly, M. Schmid, P.G. Frick, J. Fehr, *Br. Med. J.* 292
- 112- C.S.R. Hatton, C. Bunch, T.E.A. Peto, G. Pasvol, S.J. Russell, C.R.J. Singer, G. Edwards, P. Winstanley, *Lancet* (1986) 411e414.
- 113- A.C. Harrison, N.R. Kitteringham, J.B. Clarke, B.K. Park, *Biochem. Pharmacol.* 43 (1992) 1421e1430.
- 114- P.M. O'Neill, D.J. Willock, S.R. Hawley, P.G. Bray, R.C. Storr, S.A. Ward, B.K. Park, *J. Med. Chem.* 40 (1997) 437e448.
- 115- H.L. Koh, M.L. Go, T.L. Ngiam, J.W. Mak, *Eur. J. Med. Chem.* 29 (1994) 107e113.
- 116- P.M. O'Neill, A.C. Harrison, R.C. Storr, S.R. Hawley, S.A. Ward, B.K. Park, *J. Med. Chem.* 37 (1994) 1362e1370.
- 117- [www.mmv.org](http://www.mmv.org)
- 118- S.R. Meshnick, A.P. Alker, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73 (2005) 821e823.
- 119- S. Delarue, S. Girault, L. Maes, M.-A. Debreu-Fontaine, M. Labaied, P. Grellier, C. Sergheraert, *J. Med. Chem.* 44 (2001) 2827e2833.
- 120- P.M. O'Neill, S.R. Hawley, P.G. Bray, S.A. Ward, B.K. Park, *Pharmacol. Ther.* 77 (1998) 29e58.
- 121- P.M. O'Neill, A. Mukhtar, P.A. Stocks, L.E. Randle, S. Hindley, S.A. Ward, R.C. Storr, J.F. Bickley, I.A. O'Neil, J.L. Maggs, R.H. Hughes, P.A. Winstanley, P.G. Bray, B.K. Park, *J. Med. Chem.* 46(2003) 4933e4945.
- 122- J.H. Burckhalter, J.H. Tendwick, F.H. Jones, P.A. Jones, W.F. Holcombe, A.L. Rawlins, *J. Am. Chem. Soc.* 70 (1948) 1363e1373.
- 123- Strother A, Allahyari R, Buchholz J, Fraser IM; Tilton BE. In vitro metabolism of the antimalarial agent primaquine by mouse liver enzymes and identification of a methemoglobin-forming metabolite. *Drug Metab Dispos* 1984;12:35-44.
- 124- Jain M, Vangapandu S, Sachdeva S, Singh S, Singh PP, Gena GB, Tikoo K, Ramarao P, Kaul CL, Jain R. Discovery of a bulky tert-butyl group containing primaquine analog that exhibits potent blood-schizontocidal antimalarial activities and complete elimination of methemoglobin toxicity. *J Med Chem* 2004;47:285-287.
- 125- M. Jain, S. Vangapandu, S. Sachdeva, S. Singh, P. P. Singh, G. B. Jena, K. Tikoo, P. Ramarao, C. L. Kaul, R. Jain, *J. Med. Chem.* 2004, 47, 285-287.
- 126- Gomes P, AraujoMA, Rodrigues M, ValeN, Azevedo Z, Iley J, Chambel P, Morais J, MoreiraR. Synthesis of imidazolidin-4-one and 1H-imidazo[1,2-a]isoindole-2,5-(3H,9bH)-dione derivatives of primaquine: scope and limitations. *Tetrahedron* 2004;60:5551-5562.

- 127- Chang, C., Lin-Hua, T. and Jantanavivat, C. (1992) Studies on a new antimalarial compound: pyronaridine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86: 7-10.
- 128- B. L. Tekwani, L. A. Walker, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2006, 19, 623-631. W. M. Watkins, E. K. Mberu, P. A. Winstanley, C. V. Plowe, *Parasitol. Today* 1997, 13,459-464.
- 129- W. M. Watkins, E. K. Mberu, P. A. Winstanley, C. V. Plowe, *Parasitol. Today* 1997, 13,459-464.
- 130- A. M. Mc Collum, A. C. Poe, M. Hamel, C. Huber, Z. Zhou, Y. P. Shi, P. Ouma, J. Vulule, P. Bloland, L. Slutsker, J. W. Barnwell, V. Udhayakumar, A. A. Escalante, *J. Infect. Dis.* 2006, 194, 189-197.
- 131- A. Nzila-Mounda, E. K. Mberu, C. H. Sibley, C. V. Plowe, P. A. Winstanley, W. M. Watkins, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998, 42, 164-169.
- 132- Y. Zhang, S. R. Meshnik, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991, 35, 267-271
- 133- (a)MMV Press Release, November 15, 2005. (b) N. P. Jensen, A. L. Ager, R. A. Bliss, C.J. Canfield, B. M. Kotecka, K. H. Rieckmann, J. Terpinski, D. P. Jakobus, *J. Med. Chem.* 2001, 44, 3925- 3931.
- 134- S. Y. Hunt, C. Detering, G. Varani, D. P. Jacobus, G. A. Schiehsler, H.-M. Shieh, I. Nevchas, J. Terpinski, C. H. Sibley, *Mol. Biochem. Parasitol.* 2005, 144, 198-205.
- 135- T. W. Shearer, M. P. Kozar, M. T. O'Neil, P. L. Smith, G. A. Schiehsler, D. P. Jacobus, D. S. Diaz, Y. Yang, W. K. Milhous, D. R. Skillman, *J. Med. Chem.* 2005,48,2805-2813.
- 136- A. Sardarian, K. T. Douglas, M. Read, P. F. G. Sims, J. E. Hyde, P. Chitnum-sub, R. Sirawaraporn, W. Sirawaraporn, *Org. Biomol. Chem.* 2003, 1, 960-964.
- 137- Sirichaiwat C, Intaraudom C, Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J, Thebtaranonth Y, Yuthavong Y. Target guided synthesis of 5-benzyl-2,4-diamonopyrimidines: Their antimalarial activities and binding affinities to wild type and mutant dihydrofolate reductases from *Plasmodium falciparum*. *J Med Chem* 2004;47:345-354.
- 138- Tarnchompoo B, Sirichaiwat C, Phupong W, Intaraudom C, Sirawaraporn W, Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J, Thebtaranonth Y, Yuthavong Y. Development of 2,4-diaminopyrimidines as antimalarials based on inhibition of the S108N and C59R/S108N mutants of dihydrofolate reductase from pyrimethamine-resistant *Plasmodium falciparum*. *J Med Chem* 2002;45:1244-1252.
- 139- C. Sirichaiwat, C. Intaraudom, S. Kamchonwongpaisan, J. Vanichtanankul, Y. Thebtaranonth, Y. Yuthavong, *J. Med. Chem.* 2004, 47, 345-354.
- 140- Wiesner J, Ortmann R, Jomaa H, Schlitzer M. New antimalarial drugs. *Angew Chem Int Ed* 2003; 42:5274-5293.
- 141- Rathore D, McCutchan TF, Sullivan M, Kumar S. Antimalarial drugs: Current status and new developments. *Expert Opin Investig Drugs* 2005;14:871-883.
- 142- G. Rastelli, S. Pacchioni, W. Sirawaraporn, R. Sirawaraporn, M. D. Parenti, A. M. Ferrari, *J. Med. Chem.* 2003, 46, 2834-2845.

- 143- S. Ommeh, E. Nduati, E. Mberu, G. Kokwaro, K. Marsh, A. Rosowsky, A. Nzila, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004, 48, 3711-3714.
- 144- J. Davoll, A. M. Johnson, H. J. Davies, O. D. Bird, J. Clarke, E. F. Elslager, *J. Med. Chem.* 1972, 15, 812-826.
- 145- L. H. Xie, Q. Li, A. J. Lin, K. Smith, J. Zhang, D. S. Skillman, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, 50, 1649-1655.
- 146- E. Nduati, S. Hunt, E. M. Kamau, A. Nzila, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005,49,3652-3657.
- 147- A. Nzila, E. Mberu, G. Kokwaro, P. Winstanley, K. Mash, S. A. Ward, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003, 47, 2108-2112.
- 148- A. Sowunmi, F. A. Fehintola, A. A. Adediji, G. O. Gbotosho, C. O. Falade, E. Tambo, B. A. Fateye, T. C. Happi, A. M. J. Oduola, *Trop. Med. Int. Health* 2004, 9, 606-614.
- 149- P. K. Rathod, M. Khosla, S. Gassis, R. D. Young, C. Lutz, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994, 38, 2871 -2876.
- 150- H. Kim, H. Miyake, M. Arai, Y. Wataya, *Parasitol. Int.* 1998, 47, 59-67.
- 151- M. Hekmat-Nejad, P. K. Rathod, *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996, 40, 1628-1632.
- 152- Tracy JW, Webster LT. Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections: Malaria. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A, editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill; 2002. p 1068.
- 153- Kirby GC, Paine A, Warhurst DC, Noamese BK, Phillipson JD. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of cryptolepine, a plant derived indoloquinoline. *Phytother Res* 1995;9:359-363.
- 154- Wright CW, Addae-Kyereme J, Breen AG, Brown JE, Cox MF, Croft SL, Gokcek Y, Kendrick H, Phillips RM, Pollet PL. Synthesis and evaluation of cryptolepine analogues for their potential as new antimalarial agents. *J Med Chem* 2001;44:3187-3194.
- 155- Lisgartent JN, Coll M, Portugal J, Wright CW, Ayamamil J. The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nat Struct Biol* 2002;9:57-60.
- 156- Dassonneville L, Bonjean K, De-Pauw-Gillet MC, Colson P, Houssier C, Quetin Leclercq J, Angenot L, Bailly C. Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by 3 DNA-intercalating plant alkaloids: Cryptolepine, matadine and serpentine. *Biochem* 1999;38:7719-7726.

- 157- Jonckers THM, van Miert S, Cimanga K, Bailly C, Colson P, De Pauw-Gillet MC, van den Heuvel H, Claey s M, Lemiere F, Esmans EL, Rozenski J, Quirijnen L, Maes L, Dommiss e R, Lemiere GLF, Vlietinck A, Pieters L. Synthesis, cytotoxicity and antiplasmodial and antitrypanosomal activity of new neocryptolepine derivatives. *J Med Chem* 2002;45:3497-3508.
- 158- Francois G, Timperman G, Eling W, Ake Assi L, Holenz J, Bringmann G. Naphthylisoquinoline alkaloids against malaria: Evaluation of the curative potential of dioncophylline C and dioncopeltine A against *Plasmodium berghei* *in vivo*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2533-2539.
- 159- Ang K, Holmes MJ, Higa T, Hamann MT, Kara U. *In vivo* antimalarial activity of the beta-carboline alkaloid Manzamine A. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1645-1649.
- 160- Winkler JD, Axten JM. The first total synthesis of Ircinol A, Ircinal A, and manzamine A and D. *J Am Chem Soc* 1998; 120:6425-6426.
- 161- Francis SE, Sullivan DJ, Goldberg DE. Hemoglobin metabolism in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Annu Rev Microbiol* 1997;51:97-123.
- 162- Wright AD, Konig GM, Angerhofer CK, Greenidge P, Linden A, Desqueyroux-Faundez R. Antimalarial activity: The search for marine-derived natural products with selective antimalarial activity. *J Nat Prod* 1996;59:710-716.
- 163- Wright AD, Wang H, Gurrath M, Konig GM, Kocak G, Neumann G, Loria P, Foley M, Tilley L. Inhibition of heme detoxification processes underlies the antimalarial activity of terpene isonitrile compounds from marine sponges. *J Med Chem* 2001;44:873-885.
- 164- Hostettmann KA, Hostettmann M. Xanthones. In: Harborne JB, editor. *Methods in plant biochemistry*, Vol. 1. London: Academic Press; 1989. pp 493-508.
- 165- Ghosal S, Sharma P, Jaiswal D. Chemical constituents of Gentianaceae. XXIII. Tetraoxygenated and penta oxygenated xanthones and xanthone O-glucosides of *Swertia angustifolia* Buch.-Ham. *J Pharm Sci* 1977;67:55-60.
- 166- Loria P, Miller S, Foley M, Tilley L. Inhibition of the peroxidative degradation of

- haem as the basis of action in chloroquine and other quinoline antimalarials. *Biochem J* 1999;339:363-370.
- 167- Winter RW, Cornell KA, Johnson LL, Isabelle LM, Hinrichs DJ, Riscoe MK. Hydroxy-anthraquinones as antimalarial agents. *Bioorg Med Chem Lett* 1995;5:1927-1932.
- 168- Winter RW, Cornell KA, Johnson LL, Ignatushchenko M, Hinrichs DJ, Riscoe MK. Potentiation of the antimalarial agent Rufigallol. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1408-1411.
- 169- Ignatushchenko M, Winter RW, Bachinger HP, Hinrichs DJ, Riscoe MK. Xanthoness as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. *FEBS Lett* 1997;409:67-73.
- 170- Winter RW, Ignatushchenko M, Ogundahunsi OAT, Cornell KA, Oduola AMJ, Hinrichs DJ, Riscoe MK. Potentiation of an antimalarial oxidant drug. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:1449-1454.
- 171- Kelly JX, Winter RW, Riscoe MK, Peyton DH. A spectroscopic investigation of the binding interactions between 4,5-dihydroxyxanthone and heme. *J Inorg Biochem* 2001;86:617-625.
- 172- Kelly JX, Winter RW, Peyton DH, Hinrichs DJ, Riscoe MK. Optimization of xanthoness for antimalarial activity: The 3,6-bis-o-diethylaminoalkoxyxanthone series. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:144-150.
- 173- Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A. Licochalcone A, a new antimalarial agent inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1470-1475.
- 174- Dominquez JN, Charris JE, Lobo G, de Dominquez NG, Moreno MM, Riggione F, Olson J, Rosenthal PJ. Synthesis of quinoliny chalcones and evaluation of their antimalarial activity. *Eur J Med Chem* 2001;36:555-560.
- 175- Christensen SB, Theander TG, Kharazmi A, Chen M. 1999. Treatment and prophylaxis of diseases caused by parasites or bacteria. US 5985935.
- 176- Li R, Chen X, Gong B, Selzer PM, Li Z, Davidson E, Kurzban G, Miller RE, Nuzum EO, McKerrow JH, Fletterick RJ, Gillmore SA, Craik CS, Kuntz ID, Cohen FE, Kenyon GL. Structure-based design of parasitic protease inhibitors. *Bioorg Med Chem* 1996;9:1421-1427.
- 177- Li R, Kenyon GL, Cohen FE, Chen X, Gong B, Dominquez JN, Davidson E,

- Kurzban G, Miller RE, Nuzum EO, Rosenthal PJ, McKerrow JH. *In vitro* antimalarial activity of chalcones and their derivatives. J Med Chem 1995;38:5031-5037.
- 178- Liu M, Wilairat P, Go ML. Antimalarial alkoxylated and hydroxylated chalcones: Structure-activity relationship analysis. J Med Chem 2001;44:4443-4452.
- 179- Wu X, Wilairat P, Go M. Antimalarial activity of ferrocenyl chalcones. Bioorg Med Chem Lett 2002;12:2299-2302.
- 180- Keiji Nishiwaki,<sup>a,\*</sup> Azusa Okamoto,<sup>a</sup> Keizo Matsuo,<sup>a</sup>, et al : Antimalarial activity of 1-aryl-3,3-dialkyltriazènes ( Palu 1); Received 17 January 2007; revised 9 February 2007; accepted 10 February 2007 Available online 15 February 2007
- 181- Ohkanda J, Lockman JW, Yokoyama K, Gelb MH, Croft SL, Kendrick H, Harrell MI, Feagin JE, Blaskovich MA, Sebti SM, Hamilton AD. Peptidomimetic inhibitors of protein farnesyltransferase show potent antimalarial activity. Bioorg Med Chem Lett 2001 ; 11:761-764.
- 182- Carrico D, Ohkanda J, Kendrick H, Yokoyama K, Blaskovich MA, Bucher CJ, Buckner FS, Van Voorhis WC, Chakrabarti D, Croft SL, Gelb MH, Sebti SM, Hamilton AD. In vitro and in vivo antimalarial activity of peptidomimetic protein farnesyltransferase inhibitors with improved membrane permeability. Bioorg Chem 2004; 12:6517-6526.
- 183- Rosenthal PJ, Lee GK, Smith RE. Inhibition of a *Plasmodium vinckei* cysteine proteinase cures murine malaria. J Clin Invest 1993;91:1052-1056.
- 184- Rosenthal PJ, Olson JE, Lee GK, Palmer JT, Klaus JL, Rasnick D. Antimalarial effects of vinyl sulfonyl cysteine proteinase inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:1600-1603.
- 185- Olson JE, Lee GK, Semenov A, Rosenthal PJ. Antimalarial effects in mice of orally administered peptidylcysteine protease inhibitors. Bioorg Med Chem 1999;7:633-638.
- 186- Carroll CD, Patel H, Johnson TO, Guo T, Orlowski M, He ZM, Cavallaro CL, Guo J, Oksman A, Gluzman IY, Connelly J, Chelsky D, Goldberg DE, Dolle RE. Identification of potent inhibitors of *Plasmodium falciparum* plasmepsin II from an encoded statine combinatorial library. Bioorg Med Chem Lett 1998;8:2315-2320.
- 187- Haque TS, Skillman G, Lee CE, Habashita H, Gluzman IY, Todd JAE, Goldberg DE, Kuntz ID, Ellman JA. Potent, low-molecular-weight non-peptide inhibitors of malarial aspartyl protease plasmepsin II. J Med

- Chem 1999;42:1428-1440.
- 188- Nezami A, Luque I, Kimura T, Kiso Y, Freire E. Identification and characterization of allophenylnorstatine-based inhibitors of plasmepsin II, an antimalarial target. *Biochem* 2002;41:2273-2280.
  - 189- Jiang SP, Prigge ST, Wei L, Gao YE, Hudson TH, Gerena L, Dame JB, Kyle DE. New class of small nonpeptidyl compounds blocks *Plasmodium falciparum* development *in vitro* by inhibiting plasmepsins. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2577-2584.
  - 190- Semenov A, Olson JE, Rosenthal PJ. Antimalarial synergy of cysteine and aspartic protease inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2254-2258.
  - 191- Saliba KJ, Kirk K. Uptake of an antiplasmodial protease inhibitor into *Plasmodium falciparum*-infected human erythrocytes *via* a parasite-induced pathway. *Mol Biochem Parasitol* 1998;94:297-301.
  - 192- Ersmark K, Feierberg I, Bjelic S, Hamelink E, Hackett F, Blackman MJ, Hulten J, Samuelsson B, Åqvist J, Hallberg A. Potent inhibitors of the *Plasmodium falciparum* enzymes plasmepsin I and II devoid of cathepsin D inhibitory activity. *J Med Chem* 2004;47:110-122.
  - 193- Dahlgren A, Kvarnstrom I, Vrang L, Hamelink E, Hallberg A, Rosenquist A, Samuelsson B. Solid-phase library synthesis of reversed-statine type inhibitors of the malarial aspartyl proteases plasmepsin I and II. *Bioorg Med Chem* 2003;11:827-841.
  - 194- 104.Oscarsson K, Oscarson S, Vrang L, Hamelink E, Hallberg A, Samuelsson B. New potent C2-symmetric malaria plasmepsin I and II inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2003;11:1235-1246.
  - 195- 105.Greenbaum DC, Mackey Z, Hansell E, Doyle P, Gut J, Caffrey CR, Lehrman J, Rosenthal PJ, McKerrow JH, Chibale K. Synthesis and structure-activity relationships of parasitocidal thiosemicarbazone cysteine protease inhibitors against *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, and *Trypanosoma cruzi*. *J Med Chem* 2004;47:3212-3219.
  - 196- Nezami, A.; Kimura, T.; Hidaka, K.; Kiso, A.; Liu, J.; Kiso, Y.; Goldberg, D. E.; Freire, E. *Biochemistry* 2003, 42, 8459; Highlighted in . *Science* 2003, 301,143.
  - 197- Nezami A, Luque I, Kimura T, Kiso Y, Freire E. Identification and characterization of allophenylnorstatine-based inhibitors of plasmepsin II, an antimalarial target. *Biochem* 2002;41:2273-2280.
  - 198- Le Roch K, Sestier C, Dorin D, Waters N, Kappes B, Chkrabarti D, Meijer L, Doerig C. Activation of a *Plasmodium falciparum* cdc2-related kinase by heterologous p25 and cyclin H. *J Biol Chem* 2000;275: 8952-8958.

- 199- 97. Waters NC, Woodard CL, Prigge ST. Cyclin H activation and drug susceptibility of the Pfmrk cyclin dependent protein kinase from *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 2000; 107:45-55.
- 200- Xiao Z, Waters NC, Woodard CL, Li Z, Li P-K. Design and synthesis of Pfmrk inhibitors as potential antimalarial agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2001 ;11:2875-2878.
- 201- Shuto S, Minakawa N, Niizuma S, Kim H-S, Wataya Y, Matsuda A. New neplanocin analogues Alternative synthesis and antimalarial effect of (6<sup>0</sup>R)-6<sup>0</sup>-C-methylneplanocin A, a potent AdoHcy hydrolase inhibitor. *J Med Chem* 2002;45:748-751.
- 202- Bhattacharjee AK, Geyer JA, Woodard CL, Kathcart AK, Nichols DA, Prigge ST, Li Z, Mott BT, Waters NC. A three-dimensional in silico pharmacophore model for inhibition of *Plasmodium falciparum* cyclin-dependent kinases and discovery of different classes of novel Pfmrk specific inhibitors. *J Med Chem* 2004;47:5418-5426.
- 203- Krungkrai J, Scozzafava A, Reungprapavut S, Krungkrai SR, Rattanajak R, Kamchonwongpaisan S, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase with aromatic sulfonamides: Towards antimalarials with a novel mechanism of action? *Bioorg Med Chem* 2005; 13:483-489.
- 204- Howarth J, Lloyd DG. Simple 1,2-aminoalcohols as strain specific antimalarial agents. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:625-627.
- 205- Zhu S, Hudson TH, Kyle DE, Lin AJ. Synthesis and *in vitro* studies of novel pyrimidinyl peptidomimetics as potential antimalarial therapeutic agents. *J Med Chem* 2002;45:3491-3496.
- 206- Mor A, Nicolas P. The NH2 terminal  $\alpha$ -helical domain 1 -18 of dermaseptin is responsible for antimicrobial activity. *J Biol Chem* 1994;269:1934-1939.
- 207- Lombardi P, Crisanti A. Antimalarial activity of synthetic analogues of distamycin. *Pharmacol Ther* 1997;76:125-133.
- 208- Prescott B. Potential antimalarial agents. Derivatives of 2-chloro-1,4-naphthoquinone. *J Med Chem* 1969;12:181-182.
- 209- Srivastava IK, Rottenberg H, Vaidya AB. Atovaquone, a broad spectrum antiparasitic drug, collapses mitochondrial membrane potential in a malarial parasite. *J Biol Chem* 1997;272:3961-3966.



- 210- Ittarat IAW, Meshnick SR. The effects of antimalarials on the *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase. *Exp Parasitol* 1994;79:50-56.
- 211- Kapadia GJ, Azuine MA, Balasubramaniam V, Sridhar R. Aminonaphthoquinones—A novel class of compounds with potent antimalarial activity against *Plasmodium falciparum*. *Pharmacological Res* 2001;43:363-367.
- 212- I. Bathurst, C. Hentschel, *Trends Parasitol.* **2006**, 22, 301 -307. [90] J. Wang, W. Cao, C. Shan, M. Zhang, G. Li, D. Ding, Y. Shi, B. Wu, *Acta Trop.* **2004**, 89,375-381. [91] T. M. E. Davis, T. Hung, I. Sim, H. A. Karunajeewa, K. F. Ilett, *Drugs* **2005**, 65, 75-87.] N. H. Gokhale, S. B. Padhye, S. L. Croft, H. D. Kendrick, W. Davies, C. E.
- 213- Anson, A. K. Powell, *J. Inorg. Biochem.* 2003, 95, 249-258.
- 214- T. Lin, L. Zhu, S. Xu, A. A. Divo, A. C. Sartorelli, *J. Med. Chem.* 1991, 34, 1634-1639.
- 215- Alzeer J, Chollet J, Heinze-Krauss I, Hubschwerlen C, Matile H, Ridley RG. Phenyl b-methoxyacrylates: A new antimalarial pharmacophore. *J Med Chem* 2000;43:560-568.
- 216- Famin O, Krugliak M, Ginsburg H. Kinetics of inhibition of glutathione-mediated degradation of ferriprotophyrin IX by antimalarial drugs. *Biochem Pharmacol* 1999;58:59-68.
- 217- L. D. Markley, J. C. van Heertum, H. E. Doorenbos, *J. Med. Chem.* 1972, 15, 1188-1189.
- 218- Calas M, Ancelin ML, Cordina G, Portefaix P, Piquet G, Vidal-Sailhan V, Vial H. Antimalarial activity of compounds interfering with *Plasmodium falciparum* phospholipid metabolism: Comparison between mono- and bis-quaternary ammonium salts. *J Med Chem* 2000;43:505-516.
- 219- G. A. Biagini, E. M. Pasini, R. Hughes, H. P. de Koning, H.J. Vial, P. M. O'Neill, S. A. Ward, P. G. Bray, *Blood* 2004, 104, 3372-3377.
- 220- H.J. Vial, S. Wein, C. Farenc, C. Kocken, O. Nicolas, M. L. Ancelin, F. Bressolle, A. Thomas, M. Calas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004, 101, 15458-15463
- 221- M. L. Ancelin, M. Calas, V. Vidal-Sailhan, S. HerbutU, P. Ringwald, H.J. Vial, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, 47, 2590-2597.
- 222- X. J. Salom-Roig, A. HamzU, M. Calas, H.J. Vial, *Comb. Chem. High Throughput Screening* 2005, 8, 49-62.
- 223- H. Vial, personal communication.
- 224- M. A. Ismail, A. Batista-Parra, Y. Miao, W. D. Wilson, T. Wenzler, R. Brun, D. W. Boykin, *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13, 6718-6726
- 225- C. A. Lanteri, B. L. Trumpower, R. R. Tidwell, S. R. Meshnick, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004, 48, 3968-3974.

- 226- R. K. Arafa, R. Brun, T. Wenzler, F. A. Tanious, W. D. Wilson, C. E. Stephens, D. W. Boykin, J. Med. Chem. 2005, 48, 5480-5488.
- 227- M. A. Ismail, A. Batista-Parra, Y. Miao, W. D. Wilson, T. Wenzler, R. Brun, D. W. Boykin, Bioorg. Med. Chem. 2005, 13, 6718-6726.
- 228- A. M.W. Stead, P. G. Bray, I.G. Edwards, H. P. de Koning, B.C. Elford, P. A. Stocks, S. A. Ward, Mol. Pharmacol. 2001, 59, 1298-1306.
- 229- G. A. Biagini, E. M. Pasini, R. Hughes, H. P. de Koning, H.J. Vial, P. M. O'Neill, S. A. Ward, P. G. Bray, Blood 2004, 104, 3372-3377.
- 230- M. A. Ismail, R. Brun, J. D. Easterbrook, F. A. Tanious, W. D. Wilson, D. W. Boykin, J. Med. Chem. 2003, 46, 4761 -4769.
- 231- A. Mayence, J. J. V. Eynde, F. M. Krogstad, D. J. Krogstad, M. T. Cushion, T. L. Huang, J. Med. Chem. 2004, 47, 2700-2705.
- 232- M. A. Ismail, R. K. Arafa, R. Brun, T. Wenzler, Y. Miao, W. D. Wilson, C. Generaux, A. Bridges, J. E. Hall, D. W. Boykin, J. Med. Chem. 2006, 49, 5324-5332.
- 233- Atamna H, Krugliak M, Shalmiev G, Deharo E, Pescarmona G, Ginsburg H.  
Mode of antimalarial effect  
of methylene blue and some of its analogues on *Plasmodium falciparum* in culture and  
their inhibition of  
*P. vinckei petteri* and *P. yoelli nigeriensis in vivo*. Biochem Pharmacol 1996;51:693-  
700.
- 234- Basco LK, Le Bras J. *In vitro* activities of chloroquine in combination  
with chlorpromazine or  
perchlorperazine against isolates of *Plasmodium falciparum*. Antimicrob Agents  
Chemother 1992;36:  
209-213.
- 235- Shuto S, Minakawa N, Niizuma S, Kim H-S, Wataya Y, Matsuda A. New  
neplanocin analogues. Alternative synthesis and antimalarial effect of (6 <sup>0</sup>R)-6 <sup>0</sup>-C-  
methylneplanocin A, a potent AdoHcyhydrolase inhibitor. J Med Chem  
2002;45:748751.
- 236- Krungkrai J, Scozzafava A, Reungprapavut S, Krungkrai SR, Rattanajak R,  
Kamchonwongpaisan S, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of  
*Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase with aromatic sulfonamides: Towards  
antimalarials with a novel mechanism of action? Bioorg Med Chem 2005; 13:483-489.
- 237- Sirichaiwat C, Intaraudom C, Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J,  
Thebtaranonth Y, Yuthavong Y.  
Target guided synthesis of 5-benzyl-2,4-diaminopyrimidines: Their antimalarial  
activities and binding affinities to wild type and mutant dihydrofolate reductases from  
*Plasmodium falciparum*. J Med Chem 2004;47:345-354.
- 238- Tarnchompoo B, Sirichaiwat C, Phupong W, Intaraudom C, Sirawaraporn W,  
Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J, Thebtaranonth Y, Yuthavong Y.  
Development of 2,4-diaminopyrimidines as antimalarials based on inhibition of the  
S108N and C59R/S108N mutants of dihydrofolate reductase from pyrimethamine-

- resistant *Plasmodium falciparum*. J Med Chem 2002;45:1244-1252.
- 239- Wiesner J, Ortmann R, Jomaa H, Schlitzer M. New antimalarial drugs. Angew Chem Int Ed 2003; 42:5274-5293.
- 240- (a) General Reviews; Antimalarial Chemotherapy: Mechanisms of Action, Resistance, and New Directions in Drug Discovery; Rosenthal, P. J., Ed.; Humana Press, 2001; (b) Wiesner, J.; Ortmann, R.; Jomaa, H.; Schlitzer, M. Angew. Chem., Int. Ed. 2003, 42, 5274.
- 241- Synthesis of triazenes; (a) Rondestvedt, C. S., Jr.; Davis, S.J. J. Org. Chem. 1957, 22, 200; (b) Akhtar, M. H.; McDaniel, R. S.; Feser, M.; Oehlschlager, A. C. Tetrahedron 1968, 24, 3899.
- 242- (a) Dominguez, J. N.; Leon, C.; Rodrigues, J.; de Dominguez, N. G.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. J. Med. Chem. 2005, 48, 3654; (b) Leon, C.; Rodrigues, J.; de Dominguez, N. G.; Charris, J.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Dominguez, J. N. Eur. J. Med. Chem. 2007, 42, 735; (c) Blackie, M. A. L.; Beagley, P.; Croft, S. L.; Kendrick, H.; Moss, J. R.; Chibale, K. Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 6510; (d) Leban, J.; Pegoraro, S.; Dormeyer, M.; Lanzer, M.; Aschenbrenner, A.; Kramer, B. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004, 14, 1979; (e) Padmanilayam, M.; Scorneaux, B.; Dong, Y.; Chollet, J.; Matile, H.; Charman, S. A.; Creek, D. J.; Charman, W. N.; Tomas, J. S.; Scheurer, C.; Wittlin, S.; Brun, R.; Vennerstrom, J. L. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006, 16, 5542.
- 243- Sestili, I.; Borioni, A.; Mustazza, C.; Rodomonte, A.; Turchetto, L.; Sbraccia, M.; Riitano, D.; Giudice, M. R. D. Eur. J. Med. Chem. 2004, 39, 1047.
- 244- Batra, S.; Tusi, Z.; Madapa, S. CURR. Med. Chem. AIA 2006, 135 (and references cited therein).
- 245- Carolo, M., Giordano, S., Cabrita-Santos, L., Corso, S., Vigario, A.M., et al., Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. Nat. Med. 2003, 9, 1363-1369.
- 246- Schwall, R.H., Tabor, K.H., Hepatocyte growth factor antagonist antibodies and uses thereof, Genentech, US patent 5686292, 1997.
- 247- Rabin, R., Lochrie, M., Gold, J.L., Nucleic acid ligands which bind to hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) or its receptor c-met, Gilead Sciences, US patent 6344321 B1, 2002. Wajih, N.,
- 248- Naoumov, N.V., Eddleston, A.L., Host immune response and variations in the virus genome: pathogenesis of liver damage caused by hepatitis B virus. Gut 1994, 35, 1013-1017.
- 249- Bardelli, A., Longati, P., Gramaglia, D., Basilico, C., Tamagnone, L., et al., Uncoupling signal transducers from oncogenic MET mutants abrogates cell transformation and inhibits invasive growth. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998, 95, 14379-14383. Akiyama, T., Ishida,
- 250- Kataoka, H., Miyata, S., Uchinokura, S., Itoh, H., Roles of hepatocyte growth factor (HGF) activator and HGF activator inhibitor in the pericellular activation of HGF/scatter factor. Cancer Metastasis Rev. 2003, 22, 223-236.

- 251- Chan, A.M., Rubin, J.S., Bottaro, D.P., Hirschfield, D.W., Chedid, M., et al., Identification of a competitive HGF antagonist encoded by an alternative transcript. *Science* 1991, 254, 1382-1385
- 252- Date, K., Matsumoto, K., Shimura, H., Tanaka, M., Nakamura, T., HGF/NK4 is a specific antagonist for pleiotrophic actions of hepatocyte growth factor. *FEBS Lett.* 1997, 420, 1-6.
- 253- Godowski, P.J., Lokker, N.A., Mark, M.R., Single chain hepatocyte growth factor variants, Genentech, US patent 5580963, 1996.
- 254- P., Equinet, L., Packer, J., Doerig, C., Protein kinases of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*: the kinome of a divergent eukaryote. *BMC Genomics* 2004, 5, 79. Dixon, R.A.,
- 255- Morotti, A., Mila, S., Accornero, P., Tagliabue, E., Ponzetto, C., K252a inhibits the oncogenic properties of Met, the HGF receptor. *Oncogene* 2002, 21, 4885-4893.
- 256- Carrolo, M., Giordano, S., Cabrita-Santos, L., Corso, S., Vigario, A.M., et al., Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. *Nat. Med.* 2003, 9, 1363-1369.
- 257- J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., et al., Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 5592-5595.
- 258- Sattler, M., Pride, Y.B., Ma, P., Gramlich, J.L., Chu, S.C., et al., A novel small molecule met inhibitor induces apoptosis in cells transformed by the oncogenic TPR-MET tyrosine kinase. *Cancer Res.* 2003, 63, 5462-5469.
- 259- Nakanishi, K., Fujimoto, J., Ueki, T., Kishimoto, K., Hashimoto-Tamaoki, T., et al., Hepatocyte growth factor promotes migration of human hepatocellular carcinoma via phosphatidylinositol 3-kinase. *Clin. Exp. Metastasis* 1999, 17,

# SERMENT DE GALIEN

*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 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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.*

## PERMIS D'IMPRIMER

---

VU

VU

Le Président du Jury

Le Doyen de .....

*Vu et permis d'imprimer*

Pour le Recteur, le Président de l'Assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar

et par délégation

Le doyen

M. ABDARAHMANE DIA