

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Thèse

Présentée par :

BARÇA Khedaoudj Nesrine

MADDI Asma

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session Juillet

Thème :

**LES MEDICAMENTS HYBRIDES : UNE NOUVELLE
STRATEGIE CONTRE LE PALUDISME**

Devant les membres de jury :

Présidente : Dr AZZOUZ.L Maitre assistante en Chimie analytique
Examineur 1 : Dr ARIES.S Maitre assistant en Chimie minérale
Examineur 2 : Dr MELIANI.S Maitre assistante en Pharmacognosie
Encadreur : Dr LACEB.L Maitre assistante en Chimie thérapeutique

Année universitaire :

2018/2019

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous tenons à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

A notre encadreur

Dr LACEB.L maitre assistante en Chimie thérapeutique

Nous vous remercions d'avoir été à l'initiative de ce travail. Vous nous avez guidés dans l'élaboration de ce mémoire par votre grande disponibilité, vos conseils et votre précieuse aide. Merci de nous avoir fait partager vos connaissances, nous avons été heureuses de travailler avec vous et nous tenons à vous en remercier sincèrement.

A notre Présidente du jury

Dr AZZOUZ.L maitre assistante en Chimie analytique

Nous vous remercions de nous faire l'honneur de présider le jury de ce travail, Soyez assurée de notre profonde reconnaissance.

A nos membres de jury

Dr ARIES.S maitre assistante en Chimie minérale

Dr MELIANI.S maitre assistante en Pharmacognosie

Nous vous remercions d'avoir accepté d'examiner ce travail et pour l'honneur que vous nous avez fait en participant au jury.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DÉDICACES

À MON TRES CHER PERE : *SID ALI*

Le premier et le dernier homme de ma vie, source d'amour, d'affection, de générosité et de sacrifices. Tu étais toujours là près de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Que ce travail soit le témoignage des sacrifices que vous n'avez cessé de déployer pour mon éducation et mon instruction. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'admiration que je porte au grand homme que vous êtes. Puisse Dieu le tout puissant vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

À MA TRES CHERE MAMAN : *NACHIDA*

Source de ma vie, d'amour et de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vous m'avez toujours aidé par vos conseils et sacrifices. Puisse Dieu le tout puissant t'accorder meilleure santé et longue vie.

À MA CHERE ET UNIQUE SŒUR : *YASMINE*

Pour sa patience, soutien et ses sentiments d'amour aux moments les plus difficiles. Ainsi que son mari *DJAMEL*, je vous souhaite plein de joie et de bonheur. Que le bon Dieu vous garde et illumine vos chemins.

À MES TRES CHERE PETITES PRINCESSES : *CHIRAZ ET ISRA*

Mes deux nièces adorées, ma source d'amour et de joie. Je prie le bon Dieu vous garde et vous bénisse.

À MON BINOME : *ASMA*

Amie et sœur, merci pour ta patience, ta tolérance, et pour les bons moments qu'on a partagé, afin de donner naissance à ce projet

HOMMAGE À MA CHERE GRAND-MERE ALLAH YARHAMHA

Que le bon Dieu l'accueille dans son vaste paradis

BARÇA KHEDAOUJ NESRINE

DÉDICACES

À MES CHERS PARENTS : *MADDI AHMED* et *FATMA*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Maman ton soutien sans limite ainsi que l'attention particulière que tu me portes me renforcent énormément, sans cela, je ne saurais jamais arrivée là où je suis, tu es une maman formidable est exceptionnelle.

Papa tu as toujours répondu à toutes les étapes de ma vie, ton amour, ton affection et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut, tu as toujours, consenti d'énormes sacrifices pour mon bien être et mon éducation.

Dieu merci de m'avoir donné des parents aussi magnifiques.

À MA SŒUR ET SON MARI : *SABIRA* et *SID AHMED*

Pour les bons moments traversés ensemble, merci d'être toujours là pour moi. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.

À MON CHER ONCLE *CHERIF*

Mon conseiller, et ami fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles....

Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse.

A MON BINOME, *KHEDAOUDJ*

Pour toutes ces années passées ensemble, tous les moments vécus ensemble, pour ton amitié et pour ton soutien. Tu auras toujours une place spéciale dans ma vie.

À LA MEMOIRE DE MON FRERE *SALAH EDDIN* et MON ANGE *ADAM*

J'aurais tant aimé que vous soyez présents.

Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde

MADDI ASMA

Liste des tableaux

Tableau 01 : Exemples sur les antibiotiques hybrides.	13
Tableau 02 : Exemples sur les médicaments hybrides antitrypanosomiens.	14
Tableau 03 : Exemple sur les hybrides contre la leishmaniose.	15
Tableau 04 : Exemple sur les antischistosomiques hybrides.	16
Tableau 05 : Classification du Plasmodium.	19
Tableau 06 : Caractéristiques générales des 5 espèces du plasmodium	21
Tableau 07 : Classification des antipaludiques selon le site d'action.	29
Tableau 08 : Structures chimiques des dérivés de l'artémisinine.	32
Tableau 09 : Liste des principaux MH antipaludiques.	52
Tableau 10 : Cibles biologiques des principaux MH antipaludiques	56
Tableau 11 : Quelques souches de <i>P.falciparum</i>	57
Tableau 12 : Quelques souches Plasmodium de rongeurs.	59
Tableau 13 : Activité antipaludique des principaux MH.	61
Tableau 14 : Détermination des CI_{50} de l'hybride DHA-Q.	71
Tableau 15 : Les CI_{50} des différents citrates de TRIOXAQUINES	73
Tableau 16 : Evaluation de l'activité du PA1103 sur différentes souches de <i>P.falciparum</i>	81
Tableau 17 : Etude de l'activité in vivo du PA1103 sur des souris suisses par voie orale.	82
Tableau 18 : Etude de l'activité in vivo contre les formes érythrocytaires de <i>P.falciparum</i>	84
Tableau 19 : Détermination des CI_{50} de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	93
Tableau 20 : Etude de la cytotoxicité de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	94
Tableau 21 : Radicaux des conjugués 06.	104
Tableau 22 : Etude d'efficacité des hybrides 4-aminoquinoléine-chalcone in vitro.	107
Tableau 23 : Etude de l'inhibition de la formation de β -hématine.	109
Tableau 24 : Etude de l'inhibition de la dégradation d'hémine par le peroxyde d'hydrogène.	110
Tableau 25 : Etude de la cytotoxicité in vitro des composés	111

Liste des figures

Figure 01: Représentation schématique du principe général d'un hybride.....	6
Figure 02: Médicaments hybrides selon l'origine des pharmacophores.	7
Figure 03 : Médicaments hybrides selon la nature/forme de présentation du pharmacophore.....	8
Figure 04 : Médicaments hybrides selon la nature du segment de liaison.	9
Figure 05 : Médicaments hybrides selon leur mode d'interaction avec leurs cibles.	9
Figure 06 : Structure chimique de l'hybride 1-benzyl-4-[(quinoléin-8'-yl) methoxy]-1,2,3-triazole.....	10
Figure 07: Pays d'endémie palustre en 2017.	18
Figure 08: Vecteur du paludisme (Anophèle femelle).	19
Figure 09: Erythrocyte parasité (frottis sanguin, MGG).	21
Figure 10: Cycle biologique de plasmodium chez les deux hôtes (intermédiaire et définitif).	22
Figure 11: Métabolisme vacuolaire.	23
Figure 12: Formation du pigment malarique.....	24
Figure 13: Chronologie de la découverte des antipaludiques majeurs.....	27
Figure 14: Structure chimique de la quinine.	30
Figure 15: Structure chimique de l'artémisinine.....	32
Figure 16: Représentation schématique du mécanisme d'action de l'artémisinine.....	33
Figure 17: Structure chimique générale des 4-aminoquinoléines.	34
Figure 18: Structure chimique de la chloroquine.	34
Figure 19: Mécanisme d'action de la chloroquine.....	35
Figure 20: Structure chimique de l'Amodiaquine.....	36
Figure 21: Structure chimique de la méfloquine.....	37
Figure 22: Structure chimique de l'halofantrine.	38
Figure 23: Structure chimique de (1): sulfadoxine, (2): sulfalène.....	38
Figure 24: Structure chimique du proguanil.....	39
Figure 25: Mécanisme d'action du proguanil.	40
Figure 26: Structure chimique de la pyriméthamine.....	40
Figure 27: Structure chimique de l'atovaquone.....	41
Figure 28: Structure chimique de la primaquine.....	42
Figure 29: Structure chimique de la Tafénoquine.....	43
Figure 30: Structure chimique de la pyronaridine.....	44
Figure 31: Représentation schématique de la résistance du plasmodium à la CQ.....	45
Figure 32: Représentation schématique du mécanisme d'action des MH antipaludiques à base de quinoléines.....	55
Figure 33: Réaction de formation du pyruvate à partir du lactate.....	58
Figure 34: Structure chimique de l'hybride DHA-Quinine.....	63
Figure 35: Isolation de la quinine.....	63
Figure 36: Réaction de protection de la fonction hydroxyle de la Quinine.....	64
Figure 37: Réaction d'hydroboration-oxydation de la Quinine-TBDMS.....	64
Figure 38: Réaction d'oxydation de Jones.....	65
Figure 39: Isolation de l'artémisinine.....	65

Figure 40: Réaction de réduction de l'artémisinine.	66
Figure 41: Couplage de la DHA avec le dérivé carboxylique de la Quinine-TBDMS.	66
Figure 42: Réaction de déprotection de la fonction hydroxyle de la Quinine.	67
Figure 43: Structure chimique de l' artémisinine.	67
Figure 44: DHA et son pharmacophore.	68
Figure 45: Structure chimique de la Quinine.	68
Figure 46: Hydrolyse de l'hybride DHA-Quinine.	69
Figure 47: Mécanisme d'action de la Quinine.	70
Figure 48: Structure chimique des citrates de TRIOXAQUINES (DU1102, DU1108).	72
Figure 49: Structure chimique des citrates de TRIOXAQUINES (DU1402, DU1302)	72
Figure 50: Structure chimique de citrate de TRIOXAQUINE DU2302.	73
Figure 51: Structure chimique de l'hybride PA1103-SAR116242.	74
Figure 52: Réaction de la synthèse du trioxane.	75
Figure 53: Réactions de synthèse du 4,7-dichloroquinoléine.	76
Figure 54: Réaction de substitution du 4,4-dichloroquinoléine.	77
Figure 55: Réaction d'amination réductrice du trioxane.	77
Figure 56: RSA du PA1103/SAR116242.	78
Figure 57: Mécanisme d'action du PA1103.	80
Figure 58: Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 24h.	83
Figure 59: Structure générale d'un hybride 4-aminoquinoléine-agent d'inversion.	85
Figure 60: Représentation schématique des pharmacophores d'agent d'inversion proposés par Bhattacharjee.	85
Figure 61: Structure chimique de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	86
Figure 62: Structure chimique du 3-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]propanol (a) et du désipramine (b).	87
Figure 63: Préparation de 5,6-dihydrodibenzazépine.	88
Figure 64: Réaction de synthèse du désipramine.	88
Figure 65: Structure chimique de 4,7-dichloroquinoléine.	88
Figure 66: Substitution nucléophile par 3-aminopropanol.	89
Figure 67: Etape de protection de la fonction hydroxyle.	89
Figure 68: Réaction d'hybridation pour l'obtention de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	90
Figure 69: Représentation schématique de la RSA de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	90
Figure 70: Similarité structurelle entre les deux pharmacophores.	91
Figure 71: Mécanisme d'action de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine.	92
Figure 72: Structure chimique du chalcone (a), licochalcone (b).	95
Figure 73: Structure chimique des conjugués 01.	96
Figure 74: Structure chimique des conjugués 02.	96
Figure 75: Structure chimique des conjugués 03 et 04.	97
Figure 76: Structure chimique des conjugués 05.	98
Figure 77: Structure chimique de l'hybride 4-aminoquinoléine-chalcone.	99
Figure 78: Structure chimique du 4,7-dichloroquinoléine.	99
Figure 79: Réaction de substitution nucléophile.	100

Figure 80: Réaction de condensation avec le 4-hydroxybenzaldéhyde.....	100
Figure 81: Réaction de substitution nucléophile par le 4-chlorophénacyl.	101
Figure 82: Réaction de condensation Claisen-Schmidt.....	102
Figure 83: Structure chimique du pharmacophore de chalcone.	104
Figure 84: Relation structure activité de l'hybride 4-aminoquinoléine-chalcone.....	105
Figure 85: Mécanisme d'action des hybrides 4-aminoquinoléine-chalcone.	106

Liste des abréviations

A

A.A : Acides Aminés
ADN : Acide désoxyribonucléique
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ARN : Acide Ribonucléique
ARN_r : Acide Ribonucléique ribosomique
APAD: 3-Acétyl Pyridine nicotinamide adenine dinucleotide
APTS: Acide Paratoluènesulfonique

B

BM: Bleu de Méthylène

C

CADD: Computer-Aided Drug Design
CCM: Chromatographie sur Couche Mince
CD₁₀₀: Cured Dose
CHO: Chinese Hamster Ovary
CI₅₀: Concentration Inhibitrice 50 %
CoA : Coenzyme A
CQ: Chloroquine
CQS: Chloroquino-Sensible
CQR: Chloroquino-Résistant
CRMN : Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone
CTA: Combination Therapy of Artemisinin
CYP: Cytochrome

D

DCI : Dénomination Commune Internationale
DHA: Dihydroartémisinine

DHF: Dihydrofolate
DHFR : Dihydrofolate Réductase
DHPS : Dihydroptéroate Synthase
DMAP: 4-Diméthylaminopyridiridine
DMF : N, N-Diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
dTMP: désoxy Thymidine Monophosphate
dUMP: désoxy Uridilate Monophosphate
DSC: Differential Scanning Calorimetry

E

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

F

Fe(III) PPIX : Ferriprotoporphyrine IX

G

G6PD : Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GR_p : Globule Rouge parasité
GSH : Glutathion réduit
GSSH : Glutathion oxydé

H

H₂O : Molecule d'eau
Hb: Hémoglobine
HRMN: Résonance Magnétique Nucléaire d'hydrogène
HTS: High-throughput screening

I

INR: International Normalized Ratio
IR: Infrarouge
IV : Intraveineuse

L

LC-MS: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

LDH: Lactate Déshydrogénase

LDHp: Lactate Déshydrogénase parasitaire

Log P : Logarithme du coefficient du partage

M

MDR: Multi Drug Resistance

MH: Médicaments Hybrides

ml : millilitre

MSP : Mefloquine + sulfadoxine + pyriméthamine

MTN : Maladies Tropicale Négligés

N

NAD: Nicotinamide Adénine Dinucleotide

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucleotide Phosphate

nM : nanomolaire

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

P.: Plasmodium

PABA : Acide Para Aminobenzoïque

PfCRT : Plasmodium falciparum Chloroquine Resistance Transporter

PPIX : Protoporphyrine IX

PZQ: Praziquantel

Q

QSAR : Relation Quantitative Structure Activité

R

RPMI: Roswell Park Memorial Institute Medium

RSA: Relation Structure Activité

S

S. : Schistosoma

SDS : Dodécylsulfate de Sodium

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SN : Substitution Nucléophile

SNC : Système Nerveux Central

SOD: Superoxyde Dismutase

T

TBDMS: Ter-butyldiméthylsilyl

TBDMSCl: chlorure de terbutyldiméthylsilyl

TGA: Thermogravimetric analysis

THA: Trypanosomose Humaine Africaine

THF : Tétrahydrofurane

X

XX^e : Vingtième

XVI^e : Seizième

Glossaire

- **Albumax II** : Sérum albumine bovine riche en lipides pour la culture cellulaire.
- **Analyse thermogravimétrique (TGA)** : est une technique d'analyse thermique qui consiste en la mesure de la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps, pour une température ou un profil de température donné.
- **APAD** : La 3-acétylpyridine NAD (APAD) est un analogue de NAD⁺ (acide libre) molécule de signalisation et cofacteur ou substrat de nombreuses enzymes. APAD a été utilisé pour étudier les mécanismes de phosphorylation oxydative. Elle peut être réduite par la transdéhydrogénase de NADH. Elle peut être réduite plus efficacement et est plus stable que la NAD⁺.
- **Calorimétrie à balayage différentielle (DSC)** : est une technique utilisée pour caractériser la stabilité d'une protéine ou d'une autre biomolécule directement sous sa forme native. Cette caractérisation exploite la mesure de la variation de chaleur associée à la dénaturation thermique de la molécule lorsque celle-ci est chauffée à vitesse constante.
- **Chimie quantique** : est une branche de la chimie théorique qui applique la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour étudier les processus et les propriétés chimiques.
- **CI₅₀** : concentration inhibant 50% de la croissance parasitaire.
- **Cinchonisme** : est un syndrome qui se traduit par des troubles visuels et auditifs. Les symptômes les plus fréquents sont une diplopie (vision dédoublée), une photophobie, des acouphènes (bourdonnements dans les oreilles), une hypoacousie (diminution importante de l'acuité auditive) mais aussi des vertiges, des maux de tête et des nausées. Il peut également se compliquer d'une insuffisance rénale grave.
- **Clairance** : est le rapport (à un instant donné) entre la quantité de produit éliminé par unité de temps et la concentration de la substance dans le fluide (plasma artériel en général) à cet instant.
- **Coefficient de partage (P)**: est un paramètre utilisé pour mesurer la tendance d'une molécule à s'accumuler dans les membranes biologiques, qui est corrélée à sa capacité de se dissoudre dans un solvant organique. Il s'agit d'une constante d'équilibre de la réaction de répartition d'une substance A entre deux solvants (eau, octanol).

$$P = \frac{[A(\text{octanol})]}{[A(\text{eau})]}$$

Comme les valeurs de P varient dans une large gamme [0, ∞] on préfère utiliser son logarithme décimal (log P noté généralement logP).

- **Hématocrite** : correspond au volume occupé par les globules rouges dans le sang par rapport au volume total de sang. Le taux d'hématocrite est exprimé en pourcentage.
- **INR (International Normalized Ratio)** : fait partie des marqueurs qui permettent de surveiller certains facteurs sanguins impliqués dans la coagulation.
- **Intervalle QT** : est une des données électriques de l'électrocardiogramme, il correspond à la durée électrique de la contraction cardiaque (systole).
- **Lignée cellulaire Vero** : fut isolée à partir de cellules épithéliales de rein extraites d'un singe vert africain.
- **Parasitémie** : présence de parasites (organismes qui vivent aux dépens d'un autre organisme vivant) dans le sang.
- **Pharmacophore** : est constitué d'une partie pharmacologiquement active d'une molécule servant de modèle. Les pharmacophores sont donc des ensembles d'atomes actifs utilisés dans la conception de médicaments.
- **Pompes à efflux** : sont des protéines transmembranaires qui assurent le transport actif (énergie-dépendant) des substances.
- **Relation quantitative structure activité (QSAR)** : est le processus par lequel la structure chimique est corrélée quantitativement avec un processus bien défini, tel que l'activité biologique ou la réactivité chimique.
- **Radicaux libres** : molécules très réactives qui présentent un (des) électron(s) non apparié(s) (état doublet): .OH .
- **Règle de lipinski** : également connue sous le nom de « la règle des 5 » « rule of five », indique la signification de la pharmacocinétique (ADME) et les propriétés physico-chimiques utiles pour l'avancement du processus de découverte de médicaments et elle est utilisée afin de déterminer la biodisponibilité orale de petites molécules médicamenteuses.

L'absorption d'un médicament sera probablement faible quand :

- Le poids moléculaire est plus grand que 500 (>500).
- Le nombre de liaisons hydrogène donneur est plus grand que 5 (>5).
- Le nombre de liaisons hydrogène accepteur est plus grand que 10 (>10).
- Le coefficient de partage [évalué par $\log(P)$] est plus grand que 5.

Le médicament possède une bonne absorption s'il valide au moins deux de ces conditions. Cette règle n'est pas applicable sur les produits naturels, et les médicaments qui sont des substrats des transporteurs biologiques tels que des protéines et des anticorps.

- **RPMI** : est un milieu utilisé en culture cellulaire. Il est traditionnellement utilisé pour la culture de cellules humaines ou de tissus isolés comme le cas des artères mammaires humaines.
- **SYBR Green-I** : est un composé organique aromatique de formule chimique $C_{32}H_{37}N_4S$ faisant partie des cyanines asymétriques (fluorophores). Il est de ce fait utilisé en biologie moléculaire comme agent fluorescent.
- **Stress oxydatif** : est un type d'agression des constituants de la cellule causé par un déséquilibre entre les radicaux libres pro-oxydants et les antioxydants.
- **Test Ames** : un test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé.
- **Teste de micronoyaux** : c'est un test de génotoxicité qui permet d'évaluer les mutations chromosomiques ou génomiques générées par des agents génotoxiques.
- **Torsades de pointes** : sont une forme particulière de tachycardie ventriculaire polymorphe survenant chez le patient présentant un allongement pathologique de l'intervalle QT.
- **Ubiquinone** : c'est une enzyme de la chaîne respiratoire, capable de transférer des électrons. Elle joue un rôle antioxydant.
- **Zones de chloroquino-résistance dans le monde** : Selon leur degré de résistance, les pays impaludés sont classés en trois zones définies par l'OMS :
 - PAYS DE LA ZONE 1 : sans chloroquino-résistance
 - PAYS DE LA ZONE 2 : chloroquino-résistance modérée
 - PAYS DE LA ZONE 3 : chloroquino-résistance élevé et multirésistance

Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	V
Glossaire	VII
Table des matières	X
INTRODUCTION GENERALE	2
CHAPITRE I : Généralités sur les médicaments hybrides	
I. Définition des biotechnologies pharmaceutiques	5
II. Les médicaments hybrides	6
II.1 Définition.....	6
II.2 Principe.....	6
II.3 Objectifs.....	6
II.4 Classification des médicaments hybrides	7
II.5 Applications.....	10
II.5.1 Les fongicides hybrides.....	10
II.5.2 Antibiotiques hybrides.....	10
II.5.3 Les antiparasitaires hybrides	13
CHAPITRE II: Généralités sur le paludisme et les antipaludéens	
I. Le paludisme	18
I.1 Définition.....	18
I.2 Les acteurs du paludisme.....	18
I.2.1 Le vecteur :.....	18
I.2.2 L'agent pathogène	19
I.2.3 Le réservoir.....	20
I.3 Le cycle biologique.....	20
I.3.1 Chez l'homme (hôte intermédiaire).....	20
I.3.2 Chez l'arthropode « l'anophèle »	21
I.4 Autres modalités de transmission	22
I.5 Métabolismes du plasmodium	22
I.5.1 Métabolisme vacuolaire.....	23

I.5.2	Métabolisme cytoplasmique.....	25
I.5.3	Métabolisme membranaire	26
I.6	Traitement du paludisme	26
II.	Les antipaludiques.....	27
II.1	Définition.....	27
II.2	Historique	27
II.3	Classification des antipaludiques.....	28
II.3.1	Les schizonticides.....	30
II.3.2	Les gamétocytocides	42
II.3.3	Autres médicaments antipaludiques de synthèse	43
II.4	Résistance aux antipaludiques	44
II.4.1	Définition.....	44
II.4.2	Mécanismes de résistance.....	45
II.4.3	Les associations.....	46
 CHAPITRE III : Les médicaments antipaludiques hybrides		
I.	Principe	49
II.	Liste des MH antipaludiques.....	49
III.	Propriétés des MH antipaludiques	53
III.1	La solubilité	53
III.2	La stabilité	54
III.3	La pharmacocinétique.....	54
III.4	Le synergisme.....	54
IV.	Mécanisme d'action.....	55
V.	Etude de l'activité antipaludiques	56
V.1	Etude in vitro.....	57
V.1.1	Méthode radioactive	57
V.1.2	Dosage enzymatique colorimétrique	58
V.1.3	Evaluation de la stabilité métabolique.....	58
V.2	Etude in vivo	58
V.2.1	Test suppressif de 4 jours décrit par Peters (1970).....	59
VI.	Toxicité	61
 CHAPITRE IV: Etude de certains MH antipaludiques à base de quinoléines		
I.	Hybride Dihydroartémisinine-Quinine.....	63

I.1	Structure.....	63
I.2	Mode de synthèse chimique et hybridation	63
I.2.1	Préparation du dérivé carboxylique de la quinine	63
I.2.2	Préparation de la DHA	65
I.2.3	L'hybridation.....	66
I.2.4	La déprotection du groupe hydroxyle de la quinine	67
I.3	Relation structure-activité.....	67
I.3.1	Le pharmacophore 1 : DHA	67
I.3.2	Le pharmacophore 2 : Quinine	68
I.3.3	Le lieu.....	69
I.4	Mécanisme d'action.....	69
I.4.1	La quinine	69
I.4.2	La DHA	70
I.5	Etude d'activité.....	70
II.	Hybride 4-aminoquinoléine-trioxane (TRIOXAQUINE)	72
II.1	Recherches et développements	72
II.2	Structure.....	74
II.3	Mode de synthèse chimique et d'hybridation	74
II.3.1	Préparation du trioxane.....	74
II.3.2	Préparation de 4-(4'-aminocyclohexyl)amino-7-chloroquinoléine.....	75
II.3.3	L'amination réductrice du trioxane avec l'aminoquinoléine préparée (hybridation)	77
II.4	Relation structure Activité.....	78
II.4.1	Le pharmacophore 1 : 4-amino-7-chloroquinoléine.....	78
II.4.2	Le pharmacophore 2 : 1,2,4-Trioxane	78
II.4.3	Le lieu.....	79
II.5	Mécanisme d'action.....	79
II.5.1	4-amino-7-chloroquinoléine	79
II.5.2	1,2,4-trioxane.....	79
II.6	Etude de l'activité	80
II.6.1	In vitro	80
II.6.2	In vivo.....	81
II.7	La toxicité.....	84
III.	Hybride 4-aminoquinoléine-imipramine	85
III.1	Structure	86
III.2	Mode de synthèse chimique et hybridation.....	87

III.2.1	Préparation du désipramine	87
III.2.2	Préparation de 3-[(7-chloroquinolin-4-yl) amino]propanol	88
III.2.3	Hybridation.....	89
III.3	Relation structure-activité.....	90
III.4	Mécanisme d'action	91
III.4.1	4-amino-7-chloroquinoléine	91
III.4.2	Désipramine.....	91
III.5	Etude de l'activité	92
III.5.1	In vitro	92
III.5.2	In vivo.....	93
III.6	Toxicité	94
IV.	Hybride 4-aminoquinoléine-chalcone.....	95
IV.1	Recherches et développements	95
IV.2	Structure.....	98
IV.3	Mode de synthèse et hybridation	99
IV.3.1	Préparation de la 4,7-dichloroquinoléine.	99
IV.3.2	Substitution nucléophile	99
IV.3.3	Condensation avec le 4-hydroxybenzaldehyde	100
IV.3.4	Substitution nucléophile	101
IV.3.5	Réaction de condensation Claisen-Schmidt	101
IV.4	Relation structure-activité.....	104
IV.4.1	Le pharmacophore de la CQ.....	104
IV.4.2	Le pharmacophore du chalcone.....	104
IV.4.3	Le lieu.....	105
IV.5	Mécanisme d'action	105
IV.5.1	4-amino-7-chloroquinoléine	105
IV.5.2	Le pharmacophore du chalcone.....	106
IV.6	Etude de l'activité	106
IV.6.1	Etude de l'efficacité des hybrides 4-aminoquinoléine-chalcone (in vitro)	106
IV.6.2	Etude de l'inhibition de la formation de β -hématine (in vivo).....	108
IV.6.3	Mesure de la dégradation d'hémine induite par le peroxyde d'hydrogène	109
IV.7	Toxicité	110
	CONCLUSION ET PERSPETIVES.....	113
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	115

INTRODUCTION GENERALE

Le vingtième siècle restera sans aucun doute dans les annales de l'histoire comme le siècle le plus spectaculaire à ce jour du monde moderne. Il a annoncé des progrès remarquables dans plusieurs domaines de la vie humaine.

L'un des domaines les plus marquants a été l'amélioration de l'état de santé général par l'augmentation des connaissances scientifiques sur la pathogénèse de diverses maladies, la découverte de médicaments plus efficaces et l'avènement de la vaccination qui ont permis l'éradication mondiale et / ou la suppression de certaines des pires maladies humaines telles que la variole, la peste, la poliomyélite, la rougeole et lepre.

Ces progrès ont permis une forte baisse de la mortalité globale liée aux maladies infectieuses, une amélioration de la qualité ainsi qu'une augmentation constante de l'espérance de vie et une croissance économique accélérée dans les pays à revenus moyens et faibles.

Aucune discipline scientifique n'a joué un rôle plus important dans cette transformation louable que le domaine de la découverte de médicaments, largement impulsé par les grandes sociétés pharmaceutiques et dans une moindre mesure par les entreprises de biotechnologie et les instituts de recherche universitaires.

L'industrie pharmaceutique a enregistré des progrès si impressionnants au cours de la seconde moitié du XX^e siècle qu'elle est actuellement considérée comme l'une des entreprises humaines les plus prospères. Soutenu par de nouvelles technologies automatisées puissantes et performantes telles que le criblage à haut débit (HTS), la conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) et la chimie combinatoire ainsi que par une connaissance accrue de la biologie moléculaire et cellulaire et même le retour vers la recherche de nouvelles molécules issues des produits naturels (la chimie bio-inspirée). Parallèlement, l'industrie a adopté et appliqué de nouveaux concepts tels que la génomique, la protéomique et la bio-informatique dans la chaîne de la recherche et développement de médicaments.

Il est évident que le domaine de la découverte de médicaments a connu une croissance exponentielle et des développements phénoménaux. Mais le désir de réduire les coûts de ces derniers, des fournitures médicales par les gouvernements, les acteurs commerciaux et l'activisme de la société civile a lourdement pesé sur les marges bénéficiaires de l'industrie.

L'inefficacité du processus du développement des drogues devient encore plus évidente lorsqu'on considère le grand nombre de composés qui subissent une attrition au cours de la recherche préclinique et le fait que seuls trois médicaments sur dix qui parviennent aux essais cliniques. La question qui se pose est donc de savoir comment l'industrie pharmaceutique peut renverser la situation et se retrouver son lustre dans la découverte de médicaments innovants.

L'objectif de ce mémoire est de mettre en évidence l'une des stratégies actuelles et futures contre le paludisme qui lorsqu'elle est correctement exploitée pourrait renforcer l'efficacité des médicaments. Dans son ensemble notre travail se subdivise en quatre chapitres :

CHAPITRE I : Généralités sur les médicaments hybrides

Dans lequel on va étudier le principe et l'objectif des MH de façon générale.

CHAPITRE II : Généralités sur le paludisme et les antipaludéens

Ce chapitre est consacré à l'étude du paludisme ainsi que les différents antipaludiques existants.

CHAPITRE III : Les médicaments antipaludiques hybrides

Présente la liste des différents MH antipaludiques et leurs propriétés de façon générale.

CHAPITRE IV : Etude de certains MH antipaludiques à base de quinoléines

Ce dernier rapporte quelques exemples sur les MH antipaludiques à base de quinoléines (DHA-Q ; Trioxaquine ; 4-aminoquinoléine-imipramine ; 4-aminoquinoléine-chalcone).

CHAPITRE I :

Généralités sur les médicaments hybrides

L'utilisation massive et répétée des anti-infectieux, tant chez l'homme que chez l'animal a profondément modifié l'écologie des agents pathogènes, ce qui a favorisé le développement de souches résistantes aux médicaments. Dans certaines régions du monde la situation devient critique, nous disposons de moins en moins d'options de traitements face à certaines espèces pathogènes « pas d'action aujourd'hui, pas de traitements demain ».

Pour cela, l'émergence de ces résistances a été contrée par la mise au point de nouvelles stratégies telle que les médicaments hybrides.

I. Définition des biotechnologies pharmaceutiques

La biotechnologie pharmaceutique consiste en la combinaison de deux branches : la science pharmaceutique et la biotechnologie.

La science pharmaceutique : est la branche de la science qui traite la formulation et la délivrance des médicaments.

La biotechnologie : est définie comme l'application d'un système biologique, d'organismes vivants, ou leurs dérivés dans la fabrication ou la modification d'un produit ou un procédé pour un usage spécifique.

La biotechnologie pharmaceutique : est définie comme la science qui couvre toutes les technologies nécessaires aux développements, fabrication et enregistrement des médicaments biologiques. (3)

Elle intervient dans :

- La conception des médicaments via l'identification de la cible thérapeutique.
- Le développement de médicaments à l'aide de réactifs issus du génie génétique ou protéique.
- La production de médicaments issus d'organismes vivants ou de leurs composants cellulaires.
- L'application des nanotechnologies aux médicaments.
- La découverte de nouveaux bios marqueurs pour le diagnostic, pour le pronostic, et la prédiction de réponse au traitement thérapeutique.
- La recherche et développement et la production d'anticorps (monoclonaux, polyclonaux, recombinants). (4)

II. Les médicaments hybrides

II.1 Définition

Les médicaments hybrides, une stratégie où des pharmacophores sont liés pour former un seul composé hybride capable de moduler plusieurs cibles. Ils peuvent être considérés comme une extension de la thérapie de combinaison de drogues à dose fixe. Les composés hybrides ont été conçus pour être utilisés dans divers domaines thérapeutiques, tels que l'inflammation, le cancer, le paludisme, la dépression. (5)

Les autres termes utilisés dans la littérature actuelle pour les médicaments hybrides sont : « composés à cibles multiples », « ligands multifonctionnels », « composés à double action », « chimères » et autre. Dans le contexte pharmacologique, le terme est « composé poly-pharmacologique ». (6)

II.2 Principe

La stratégie des médicaments hybrides ou la bithérapie covalente est une approche basée sur la chimie rationnelle qui consiste à lier deux (ou plus) entités chimiques actives, chacune avec sa propre activité, pour donner une seule molécule hybride à double mode d'action (Figure 01). (7)

La fixation de ces pharmacophores doit être accordée à :

- leur relation structure-activité,
- la nature du segment de liaison (lieur) utilisé,
- la distance entre chacun d'eux,
- et la géométrie moléculaire, si elle est connue. (8)



Figure 01: Représentation schématique du principe général d'un hybride. (9)

II.3 Objectifs

Les principaux objectifs de la conception des médicaments hybrides sont les suivants :

- Amélioration des propriétés et des caractéristiques des pharmacophores (tels que la solubilité, stabilité...) sans perte d'activité biologique.
- Réduire la probabilité de générer une résistance dans le cas de maladies infectieuses, parasitaires et du cancer.

- Une meilleure efficacité grâce à une action simultanée sur différentes cibles biologiques (maladies multifactorielles telles que la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie, l'inflammation et certains troubles du SNC).
- Une action médicamenteuse synergique. *(10)*
- Accélérer les efforts de découverte de médicaments à moindre coût. *(1)*
- Réduire le risque d'interaction médicamenteuse (pas de compétition au niveau de la fixation avec les protéines plasmatiques contrairement aux médicaments simples).
- Minimiser la probabilité d'apparition des effets indésirables.
- Réduire le risque de toxicité. *(11)*

II.4 Classification des médicaments hybrides

Les médicaments hybrides peuvent être classés en fonction de :

1) L'Origine des pharmacophores

- ✚ **Complètement naturel** : les deux pharmacophores sont naturels (Figure 02-A).
- ✚ **Semi-synthétique** : l'un des pharmacophores est naturel alors que l'autre est de nature synthétique (Figure 02-B).
- ✚ **Complètement synthétique** : les deux pharmacophores sont de nature synthétique (Figure 02-C). *(7)*

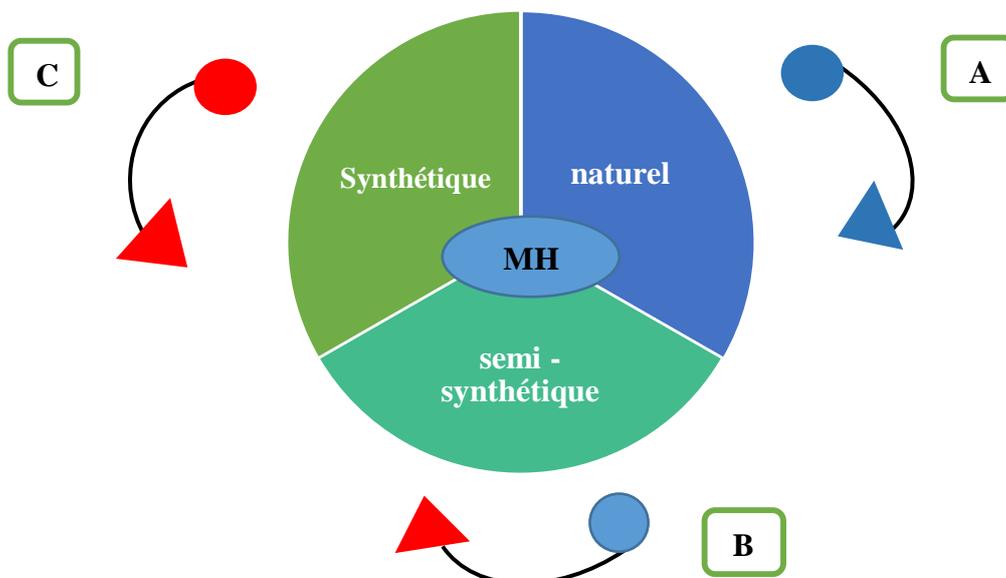


Figure 02: Médicaments hybrides selon l'origine des pharmacophores. *(7)*

2) La nature/forme de présentation des pharmacophores

- Les deux pharmacophores sont présentés sous forme active (Figure 03-D).

- L'un des pharmacophores est actif alors que l'autre est sous forme inactive (pro médicament) (Figure 03-E).
- Les deux pharmacophores sont présentés sous forme inactive (pro médicaments), leur activation repose sur des enzymes ubiquitaires ou spécifiques (Figure 03-F). (12)

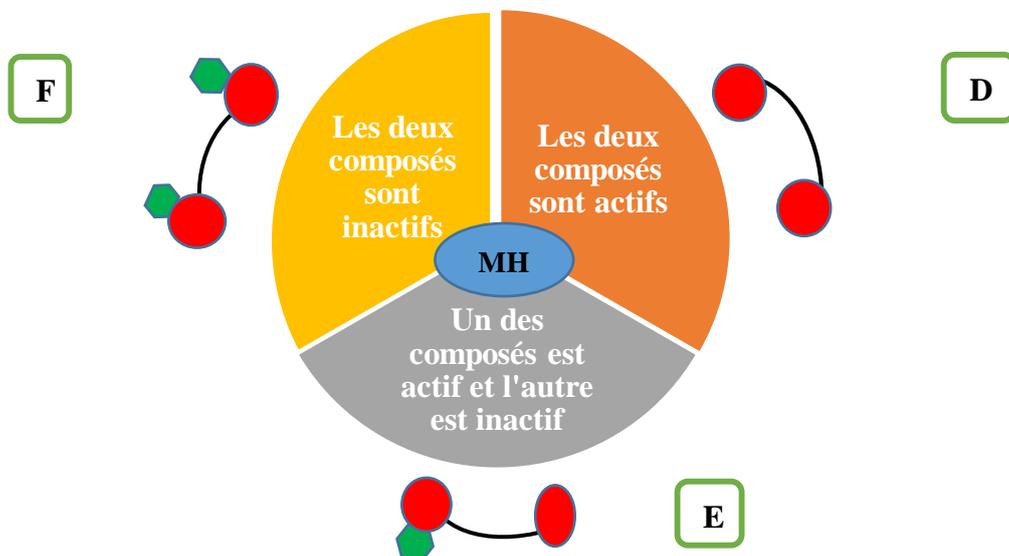


Figure 03 : Médicaments hybrides selon la nature/forme de présentation du pharmacophore. (12)

3) La nature de la liaison employée

- ✚ **Les conjugués :** sont des molécules dans lesquelles les deux pharmacophores sont liés par l'intermédiaire d'un lien métaboliquement stable qui ne fait pas partie de l'une ou l'autre des deux entités (Figure 04-G).
- ✚ **Les conjugués clivables :** les deux pharmacophores sont liés par un segment de liaison conçu pour être métaboliser dans le système biologique afin de libérer les deux entités actives qui vont interagir indépendamment sur des cibles différentes (Figure 04-H).
- ✚ **Les conjugués collés :** molécules qui ont la taille de leur diminuée de telle sorte que les pharmacophores sont en contact (Figure 04-I)
- ✚ **Les conjugués fusionnés :** les deux pharmacophores sont fusionnés en tirant parti des points communs de leurs composés de départ, qui donnent naissance à des molécules plus petites et plus simples (Figure 04-J). (13)

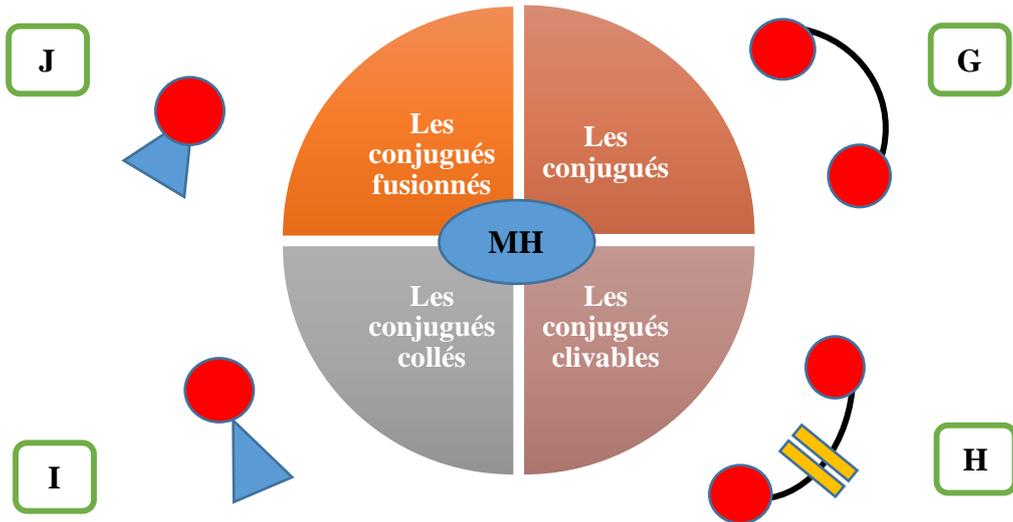


Figure 04 : Médicaments hybrides selon la nature du segment de liaison. (12)

4) Mode d'interaction des pharmacophores avec leur cible

- ✚ Les deux pharmacophores sont en mesure d'interagir avec la même cible. (Figure 05-L).
- ✚ Les deux pharmacophores agissent indépendamment sur deux cibles différentes et non liées (Figure 05-M).
- ✚ Les deux pharmacophores agissent en même temps sur deux cibles liées (Figure 05-N) (9)

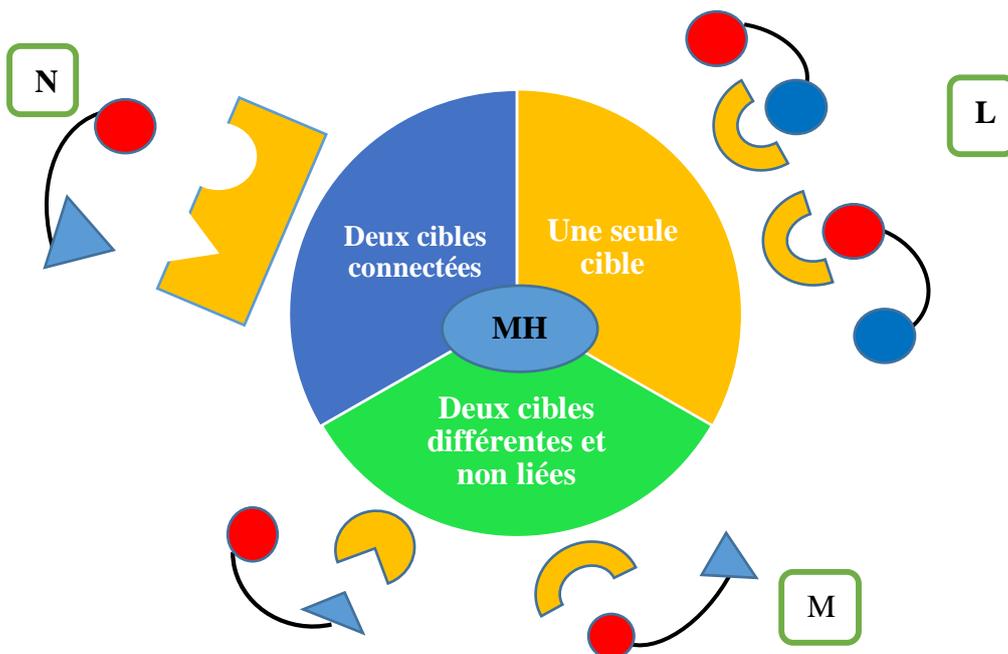


Figure 05 : Médicaments hybrides selon leur mode d'interaction avec leurs cibles. (12)

II.5 Applications

La résistance des souches d'agents pathogènes aux médicaments est une menace sérieuse sur la santé publique. Pour faire face au problème croissant de la pharmacorésistance, différentes stratégies ont été adoptées notamment celle des molécules hybrides. (14)

II.5.1 Les fongicides hybrides

La fréquence des infections fongiques humaines a considérablement augmenté dans le monde entier, en particulier les mycoses systémiques très difficiles à diagnostiquer et à traiter. Les patients immunodéprimés sont les plus touchés en particulier par les mycoses opportunistes invasives telles que la candidose.

Il est bien connu que dans la collection limitée des antifongiques, les molécules azolés constituent la classe la plus fréquemment utilisée pour traiter les infections à *Candida* et que le fluconazole est le plus couramment prescrit et utilisé pour la plupart des infections à *Candida albicans* mais ce dernier a une action fongistatique plutôt que fongicide, ce qui augmente la possibilité de développer des souches résistantes.

C'est pour cela qu'il est nécessaire de rechercher une solution qui peut limiter cette émergence telle que les médicaments hybrides qui ont été appliqués par Abid et ses collaborateurs. Ils ont pu synthétiser une molécule hybride 8-hydroxyquinoléine 1, 2,3-triazole qui a une activité fongicide sur les souches fluconazole résistantes (Figure 06). (15)

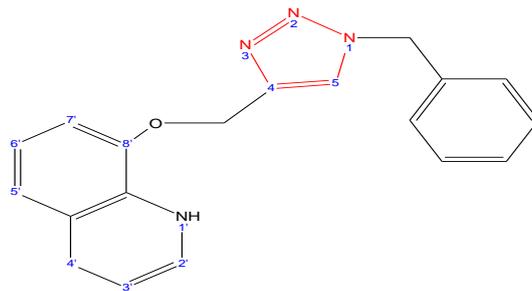


Figure 06 : Structure chimique de l'hybride 1-benzyl-4-[(quinoléin-8'-yl) méthoxy]-1, 2,3-triazole. (15)

II.5.2 Antibiotiques hybrides

Les antibiotiques sont des médicaments qui servent à lutter contre les infections dues à des bactéries (action bactériostatique ou bactéricide) : les pneumonies, bronchites, otites, méningites, infections urinaires, septicémies, maladies sexuellement transmissibles...

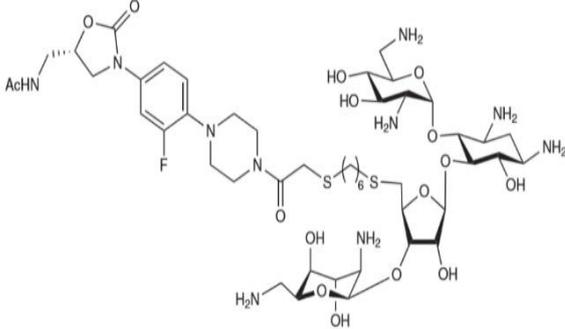
C'est l'une des découvertes les plus importantes de la médecine qui a sauvé et qui sauve des millions de vies chaque année, mais leur efficacité est menacée car les bactéries peuvent s'adapter et résister au traitement. (16)

CHAPITRE I Généralités sur les médicaments hybrides

La résistance aux antibiotiques (naturelle ou acquise) a été un facteur déterminant dans la recherche et développement de nouvelles stratégies afin de minimiser cette émergence. La thérapie de combinaison a montré un certain succès clinique mais malheureusement le petit nombre de familles d'antibiotiques puissants limite leur application surtout dans le cas des souches multi résistantes. Comme solution, la stratégie des médicaments hybrides a été appliquée sur plusieurs classes d'antibiotiques principalement les fluoroquinolones (la plupart du temps Ciprofloxacine), les aminosides et les glycopeptides (Tableau 01).

Le principe est surtout basé sur la capacité de pénétration de l'un des pharmacophores pour stimuler l'activité biologique du deuxième. (17)

Hybride	Structure	Avantages et caractéristiques
Antibiotique hybride à base de fluoroquinolones		
Anilinouracile- Ciprofloxacine		<p>Les anilinouraciles sont des antibiotiques non traditionnels qui se lient sélectivement à l'enzyme d'ADN polymérase III des bactéries à gram positif ce qu'inhibe le processus de réplication de leurs ADN.</p> <p>Cependant, les anilinouraciles seuls ne sont pas toujours efficaces en raison d'un manque de pénétration, d'élimination du composé par des pompes à efflux, ou une altération de la sensibilité de l'enzyme cible.</p> <p>L'hybridation avec la fluoroquinolone via son groupe amine secondaire sur le cycle piperazine, pourrait</p>

		<p>améliorer leur pénétration, et élargir son spectre antibactérien en ciblant deux enzymes distinctes (ADN polymérase III, Topoisomérase II) dans le processus de synthèse d'ADN.</p>
Antibiotique hybride à base d'aminosides		
<p>Néomycine-Oxazolidinone</p>		<p>Les oxazolidinones se lient à l'ARNr 23S des sous-unités ribosomales 50S et inhibent l'étape d'initiation de la synthèse protéique. Semblable aux aminosides, ces agents antibactériens ont un large spectre d'activité contre les souches bactériennes à Gram positif et Gram négatif. Les essais sur des modèles bactériennes humaines ont montré une amélioration d'affinité de la liaison à l'ARN (20 fois plus par rapport à la néomycine seule) et une réduction de la toxicité.</p>
Antibiotique à base de glycopeptides		
<p>Vancomycine-4-Aminoquinoléine (Vancomyquine)</p>		<p>Le pharmacophore d'un médicament hybride 4-aminoquinoléine permet de :</p>

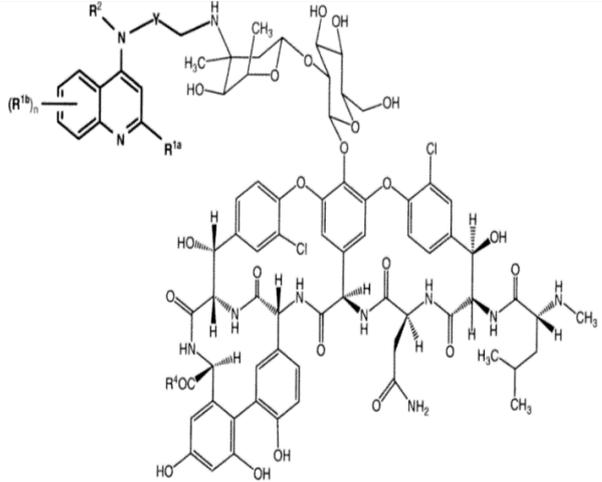
		<p>-favoriser l'interaction avec les membranes des bactéries et souvent leur franchissement.</p> <p>-protéger la partie antibiotique en milieu acide grâce à la protonation aisée de la partie aminoquinoléine.</p> <p>La Vancomyquine est caractérisée par une très forte action bactéricide à faible concentration sur des souches d'entérocoques résistants à la Vancomycine (la valeur du rapport aire sous la courbe / concentration minimale inhibitrice chez le chien est de 60 fois plus de celle de la Vancomycine seule).</p>
--	--	---

Tableau 01 : Exemples sur les antibiotiques hybrides. (17,2)

II.5.3 Les antiparasitaires hybrides

II.5.3.1 Les médicaments hybrides antitrypanosomiens

Les trypanosomiasis sont causées par des protozoaires flagellés du genre « trypanosoma ». On distingue la trypanosomiasis africaine (maladie de sommeil) et américaine (maladie de Chagas) :

1. **La maladie du sommeil** (trypanosomiasis humaine africaine THA) est présente en Afrique subsaharienne. Elle est causée par une des deux sous-espèces de Trypanosoma brucei adaptées à l'homme : Trypanosoma brucei gambiense (T.b.gambiense) et Trypanosoma brucei rhodesiense (T.b.rhodesiense) ; transmise par la piqûre d'une mouche hématophage appelée mouche tsé-tsé ou glossine.

Le traitement de la THA repose sur des médicaments tels que la combinaison suramine, mélarsoprol, pentamidine, ou éflornithine-nifurtimox pour les différentes phases. Cependant leur efficacité a diminuée avec l'augmentation de la résistance et des effets indésirables. En absence de traitement, elle est toujours fatale. (18)

2. **La maladie de Chagas** est causée par *Trypanosoma cruzi*, transmise par les deux principaux vecteurs (*Triatoma infestans* ou *Rhodnius prolixus*) qui se trouvent en Amérique du Sud et centrale.

Le traitement de la maladie de Chagas repose sur le nifurtimox et le benznidazole. Toutes les deux sont efficaces lorsqu'ils sont administrés peu après l'infection, mais avec des effets secondaires, échecs de traitement et résistance chez la plupart des patients. (19)

Pour contrer ces problèmes, les médicaments antitrypanosomiens hybrides ont été largement appliqués. Dans le tableau ci-dessous (Tableau 02) quelques molécules hybrides qui ont donnée des résultats prometteurs.

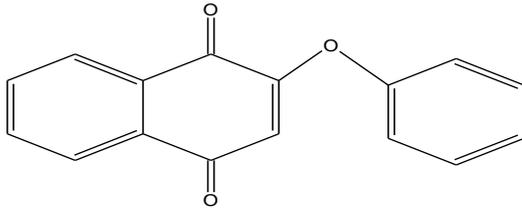
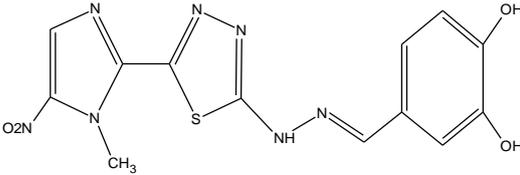
Hybride	Structure	Avantage et activité
Antitrypanosomiens à motif quinonique		
1,4-naphtoquinone-Triclosan (Dérivé lapachol)		Le dérivé de lapachol a une CI_{50} in vitro de valeur de 80 nm contre <i>T. brucei</i> rhodesiense et un indice de sécurité 74, qui sont très proche du profil du produit cible recommandée pour les antitrypanosomiens.
Antitrypanosomiens basé sur le mégazol et Arylhydrazone		
(Brazilizone A)		Brazilizone A a montré un effet antichagasique (<i>Trypanosoma cruzi</i>) élevés avec CI_{50} deux fois plus puissant que le mégazol seul.

Tableau 02 : Exemples sur les médicaments hybrides antitrypanosomiens. (19)

II.5.3.2 Les composés hybrides contre la leishmaniose

La leishmaniose est due à un parasite du genre « leishmania » dont il existe plusieurs familles qui vont déterminer le type d'atteinte ; transmise par « le phlébotome ». Extrêmement complexe, elle se présente sous 6 formes, la forme viscérale étant la plus sévère, mortelle en absence de traitement. 350 millions de personnes sont menacées, 12 millions sont infectées, et entre 1,5 million à 2 millions de nouveaux cas chaque année. (20)

À l'heure actuelle, l'amphotéricine B est considéré comme le médicament de choix pour le traitement de leishmaniose viscérale, mais son coût élevé empêche son utilisation dans les pays fortement endémique à faible revenu qui dépendent par conséquent, sur la pentamidine, miltefosine, et antimonies pentavalent tels que le stibogluconate de sodium et de l'antimoniote de méglumine, ainsi que le kétoconazole. Cependant, la plupart d'entre elles sont limitées par l'efficacité variable, la résistance et la toxicité. (19)

Plusieurs groupes de recherche ont rapporté l'application d'hybridation moléculaire dans la découverte de médicaments moins chère et plus efficace (Tableau 03).

Hybride	Structure	Avantage et activité
Hybride à base de pentamidine		
Pentamidine - Benzimidazole		<p>L'hybride a été testé contre cinq protozoaires : <i>Leishmania mexicana</i>, <i>P. berghei</i>, <i>Trichomonas vaginalis</i>, <i>Giardia lamblia</i>, et <i>Entamoeba histolytica</i>. La bio activité observée contre ces cinq protozoaires a indiqué que l'introduction de benzimidazole dans la structure de pentamidine, et l'inclusion de groupements donneurs d'électrons augmente l'activité anti protozoaire.</p>

Tableau 03 : Exemple sur les hybrides contre la leishmaniose. (19)

II.5.3.3 Les médicaments hybrides antischistosomiques

La schistosomiase, aussi connue sous le nom de bilharziose, est une maladie parasitaire chronique causée par un trématode du genre *Schistosoma*. Trois espèces principales : *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*, infectent les populations humaines. Ces parasites ont un cycle de vie complexe qui évolue à la fois chez un hôte vertébré et chez un mollusque d'eau douce produisant des cercaires qui infectent les individus par voie transcutanée.

CHAPITRE I Généralités sur les médicaments hybrides

La schistosomiase est une maladie des pays pauvres, qui fait partie des « Maladies tropicales négligées » (MTN) et constitue un problème majeur de santé publique dans les pays du tiers-monde. On estime que plus de 700 millions est le nombre de personnes menacés à travers le monde, 200 millions celui des individus infectés et plus de 250 000 des décès annuels, principalement en Afrique sub-saharienne. (21)

Le praziquantel (PZQ) est actuellement le seul antischistosomique disponible et distribué à des millions de personnes chaque année. Un certain nombre d'éléments positifs, y compris la sécurité, l'efficacité, le coût et la facilité de la distribution font du PZQ un excellent médicament. Cependant, son défaut majeur est le manque d'efficacité contre les stades immatures, ainsi que le développement de la résistance aux médicaments causé par son utilisation massive et répétée.

La conception de composés hybrides antischistosomiques est appuyé sur le PZQ et ses dérivés, ainsi que furoxane et l'artémisinine (Tableau 04). (19)

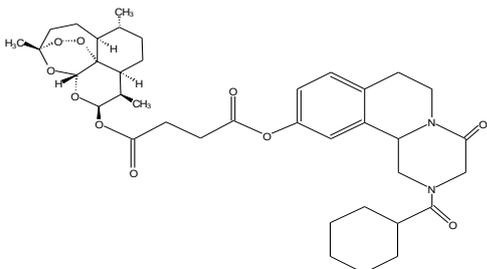
Hybride	Structure	Avantages et activités
Antischistosomiques hybrides à base d'artémisinine et praziquantel		
10-hydroxyl-praziquantel-artésunate		L'hybride a montré une activité antischistosomique in vitro et in vivo contre les formes adultes et immatures de <i>S.japonicum</i> .

Tableau 04 : Exemple sur les antischistosomiques hybrides. (19)

II.5.3.4 Les antipaludiques hybrides

Le paludisme n'est plus classé comme maladie tropicale négligé, il reste la plus éminente et la plus meurtrière infection parasitaire humaine, et est toujours considéré comme une maladie liée à la pauvreté. (Chapitre II)

Par conséquent, il a attiré le plus grand nombre d'efforts de recherche et de découverte de médicaments par hybridation moléculaire. (Chapitres III et IV)

CHAPITRE II :
Généralités sur le paludisme et les
antipaludéens

I. Le paludisme

I.1 Définition

Le paludisme (de palus : marais) ou malaria (mauvais air), est une parasitose caractérisée par des accès fébriles intenses et rythmés, due à l'infection des érythrocytes par un protozoaire hématophage du genre « Plasmodium », transmis à l'homme lors de la piqûre d'un moustique femelle infesté appartenant au genre « Anophèle ». Il est très répandu en zone tropicale et subtropicale où il sévit de façon endémique (Figure 07).

La situation épidémiologique en Algérie est marquée par la notification de cas de paludisme essentiellement importés, allant de 400 à 800 cas par an en moyenne, avec zéro cas de transmission locale depuis 2014.

Cette érythropathie reste aujourd'hui un fléau mondial. Elle est la troisième cause de mortalité infectieuse après le sida et la tuberculose.

Le paludisme touche surtout les enfants de moins de 5ans, ainsi que les femmes enceintes et les immunodéprimés. (22)

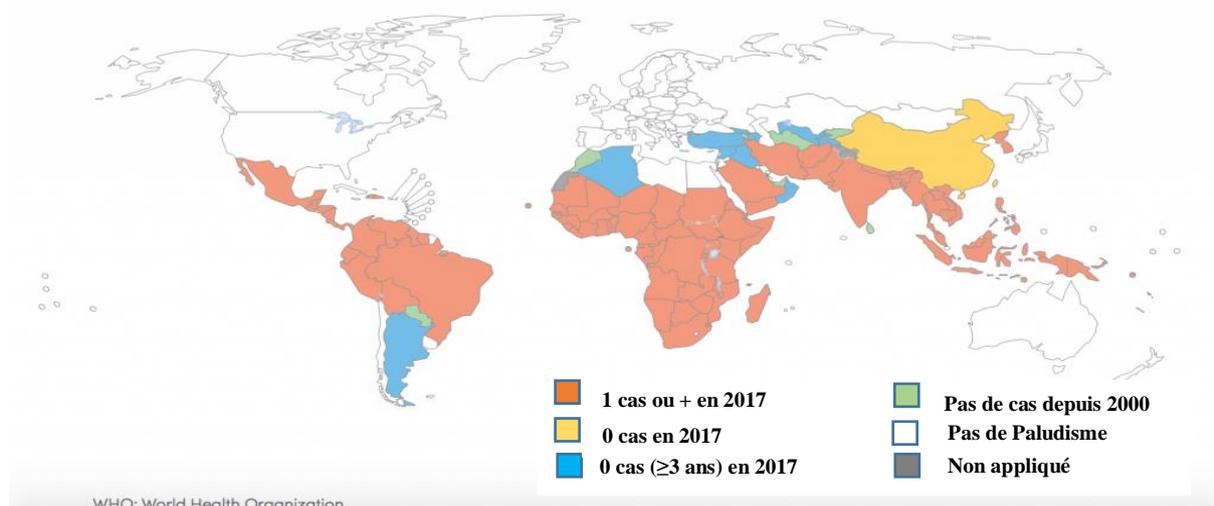


Figure 07: Pays d'endémie palustre en 2017. (23)

I.2 Les acteurs du paludisme

I.2.1 Le vecteur :

Le paludisme est transmis à l'homme par la piqûre d'un moustique du genre « Anophèle » infecté au moment de son repas sanguin.

Seule la femelle hématophage (Figure 08) transmet la maladie. Elle ne pique qu'à partir du coucher du soleil. Cela explique que l'utilisation des moustiquaires est le moyen de prévention individuelle le plus efficace.

CHAPITRE II Généralités sur le paludisme et les antipaludéens

Le développement et la longévité des anophèles dépendent de la température (avec un optimum entre 20 et 30°C pour une durée de vie de l'ordre de 30 jours), ainsi que l'altitude (pas de transmission au-delà de 1500-2000 m). (24)



Figure 08: Vecteur du paludisme (Anophèle femelle). (25)

I.2.2 L'agent pathogène

L'agent pathogène du paludisme est un hématozoaire appartenant au genre « Plasmodium ». Il existe de très nombreuses espèces (plus de 140), touchant diverses espèces animales mais seulement cinq de ces derniers sont retrouvées en pathologie humaine (Tableau 05). Il s'agit de **P.falciparum** (l'espèce la plus répandue et la plus dangereuse, responsable du neuropaludisme, forme mortelle de la maladie), **P.vivax**, **P.ovale** et **P.malariae** (qui peuvent entraîner des rechutes plusieurs années après la primo-infection), **P.knowlesi** (parasite habituel des singes (macaques) d'Asie qui vient de passer récemment chez l'homme). (24)

Ces espèces diffèrent par des critères biologiques, cliniques, par leur répartition géographique et leur capacité à développer des résistances aux antipaludiques. (24)

<u>Règne</u>	Protiste
<u>Sous-règne</u>	Protozoaire
<u>Phylum</u>	Sporozoaires ou Apicomplexa
<u>Classe</u>	Sporozoea
<u>Sous-classe</u>	Coccida
<u>Ordre</u>	Eucoccidia
<u>Sous-ordre</u>	Haemosporina
<u>Famille</u>	Plasmodidae
<u>Genre</u>	Plasmodium
<u>Espèces infectant l'homme</u>	Falciparum Vivax Ovale Malariae Knowlesi

Tableau 05: Classification du Plasmodium. (26)

I.2.3 Le réservoir

L'homme est un hôte intermédiaire du plasmodium, hébergeant sa reproduction asexuée. (24)

I.3 Le cycle biologique

Le cycle biologique du plasmodium est complexe, il se déroule chez deux hôtes (homme et l'Anophèle) :

I.3.1 Chez l'homme (hôte intermédiaire)

Il se déroule en deux phases : la phase pré-érythrocytaire et la phase érythrocytaire :

I.3.1.1 La phase pré-érythrocytaire (hépatique)

Les **sporozoïtes** inoculés (maximum une centaine) par l'anophèle femelle lors de son repas sanguin restent pendant une trentaine de minutes (30 min) maximum dans la peau, la lymphe et le sang. Beaucoup sont détruits par les macrophages mais certains parviennent à gagner les hépatocytes où ils se transforment en **corps bleus** qui après 7 à 15 jours de maturation asymptomatique éclatent et libèrent des milliers de **mérozoïtes** dans le sang (10 000 à 30 000 mérozoïtes en fonction des espèces) (Figure 10). (24)

Dans les infections à *P. vivax* et *P. ovale*, certains sporozoïtes intra-hépatiques restent quiescents (**hypnozoïtes**) et sont responsables d'une schizogonie hépatique retardée qui entraîne la libération dans le sang de mérozoïtes plusieurs mois après la pique du moustique, expliquant ainsi les reviviscences tardives observées avec ces deux espèces. Les hypnozoïtes n'existent pas dans l'infection à *P. falciparum* (pas de rechute), et ils n'ont pas été mis en évidence non plus dans l'infection à *P. malariae* malgré l'existence de rechutes tardives, n'est-ce-t-il pour *P. knowlesi*. (24)

I.3.1.2 Phase sanguine ou érythrocytaire

Très rapidement, les mérozoïtes pénètrent dans les globules rouges pour une nouvelle transformation et multiplication (les **trophozoïtes** se transforment en **schizontes**) (Figure 10) qui prend 24h (*P. knowlesi*), 48h (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*) ou 72h (*P. malariae*) et conduit à la destruction du globule rouge hôte libérant de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes (Tableau 06). (24)

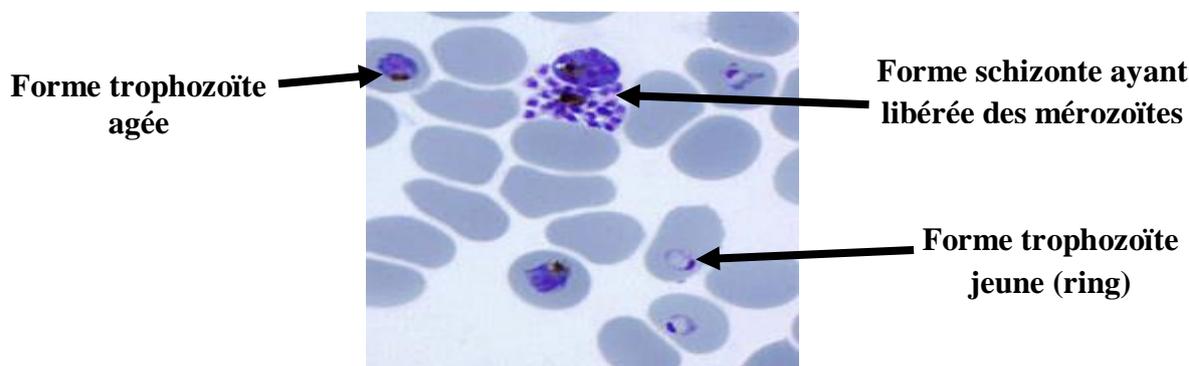


Figure 09: Erythrocyte parasité (frottis sanguin, MGG). (27)

Ces mérozoïtes pénètrent dans de nouveaux globules rouges et débutent un nouveau cycle de réplication. Cette partie correspond à l'évolution cyclique variable de la fièvre : toutes les 24 heures (*P. knowlesi*), tierce (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*) ou quarte (*P. malariae*). En pratique, on observe que la fièvre tierce due au *P. falciparum* est rarement synchrone.

Après un certain nombre de cycles érythrocytaires, certains mérozoïtes subissent une maturation d'une dizaine de jours, accompagnée d'une différenciation sexuée : ils se transforment en gamétocytes qui vont rester dans la circulation sanguine pendant 10 à 15 jours. (24)

	P. falciparum	P. vivax	P. ovale	P. malariae	P. knowlesi
<u>Longévité</u>	Généralement < 2 mois, exceptionnellement 1 an	2 à 3 ans	2 à 3 ans, parfois 5 ans	Peut atteindre 20 ans	/
<u>Stade érythrocytaire infecté</u>	Toutes les hématies	Jeunes hématies	Jeunes hématies	Vieilles hématies	Toutes les hématies
<u>Durée du cycle érythrocytaire</u>	48h	48h	48h	72h	24h
<u>Hypnozoïtes</u>	Non	Oui	Oui	Non	Non

Tableau 06: Caractéristiques générales des 5 espèces du plasmodium. (26)

I.3.2 Chez l'arthropode « l'anophèle »

Les gamétocytes ingérés par le moustique lors d'un repas sanguin sur un sujet infecté se transforment en **gamètes** « mâles et femelles » qui se fusionnent en un œuf libre mobile appelé « ookinete ».

CHAPITRE II Généralités sur le paludisme et les antipaludéens

Cet ookinete quitte la lumière du tube digestif, se fixe ensuite à la paroi externe de l'estomac et se transforme en « **oocyste** ». Les cellules parasites se multiplient à l'intérieur de cet oocyste, produisant des centaines de **sporozoïtes** qui migrent ensuite vers les glandes salivaires du moustique (Figure 10).

Ces sporozoïtes sont les formes infectantes prêtes à être inoculées avec la salive du moustique, lors d'un nouveau repas sanguin. (24)

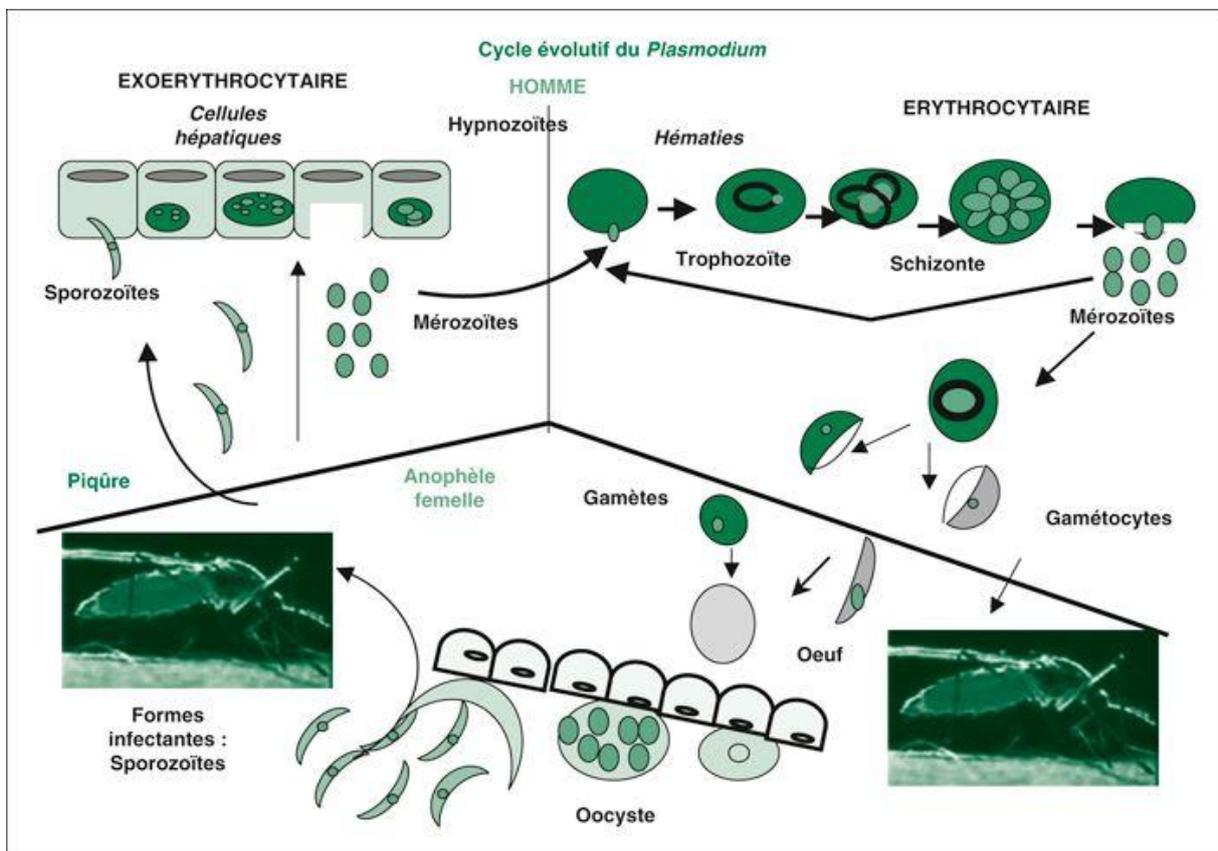


Figure 10: Cycle biologique de plasmodium chez les deux hôtes (intermédiaire et définitif).

(28)

I.4 Autres modalités de transmission

La phase sanguine du cycle rend possible d'autres modes de contamination : transmission congénitale, transfusionnelle, par greffe d'organe ou transmission accidentelle chez des personnels de santé manipulant du sang contaminé. En pratique ces transmissions sont tout à fait exceptionnelles. (24)

I.5 Métabolismes du plasmodium

Le plasmodium, comme tous les organismes vivants doit acquérir les éléments nutritifs de l'environnement et les convertir en d'autres molécules ou en énergie (Catabolisme). Ces

derniers sont ensuite utilisés pour maintenir l'hémostase du parasite, ainsi que sa croissance et sa reproduction (Anabolisme). Les deux processus sont catalysés par des enzymes. (29)

Le parasite puise les éléments qui lui sont nécessaires dans le plasma ou le cytoplasme de l'hématie, ou alors il les synthétise à partir d'éléments simples (synthèse de novo, à partir du glucose ou de la glutamine par exemple).

I.5.1 Métabolisme vacuolaire

Lors de l'invasion des érythrocytes, le parasite digère de 25 à 80% d'hémoglobine. Cette dernière est transportée du cytosol du globule rouge vers la vacuole digestive du jeune trophozoïte par pinocytose. (30)

Sous l'action des protéases (plasmepsins et falcipains) localisés au niveau de la vacuole digestive, l'Hb est dégradée en globine (source d'acide aminé), et en hème libre (PPIX) toxique pour le plasmodium (Figure 11). (29, 30)

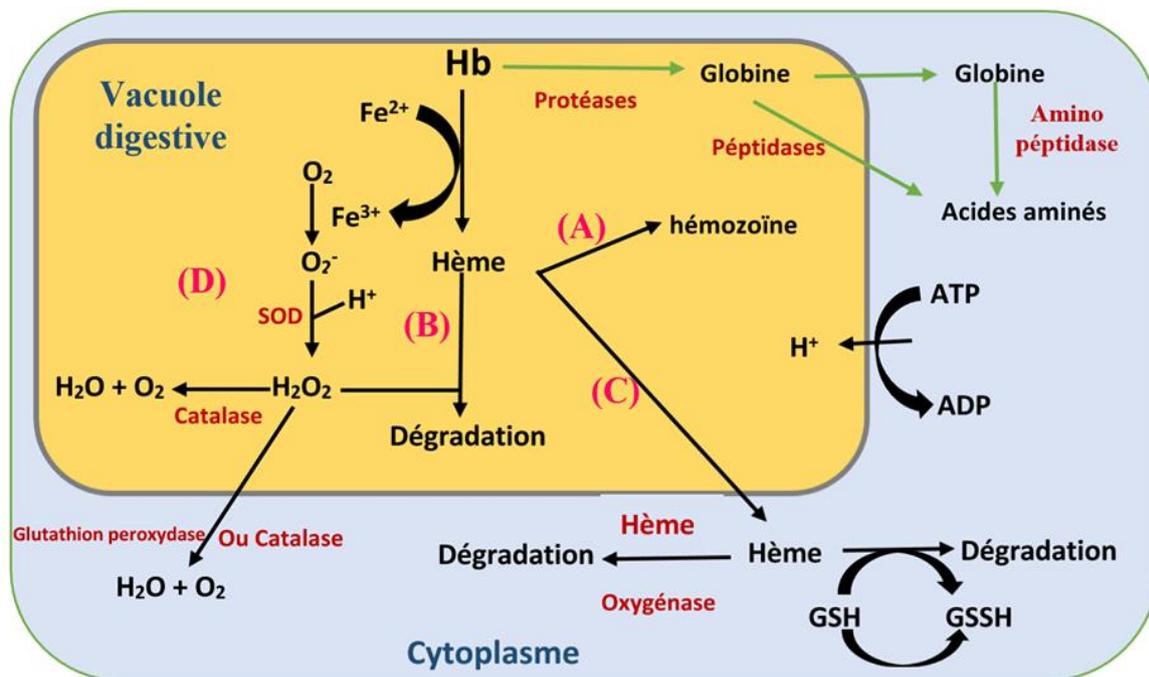


Figure 11: Métabolisme vacuolaire. (29)

La détoxification de l'hème

L'hème libéré est toxique en raison de sa capacité à initier des dommages oxydatifs chez le plasmodium, inhiber les processus enzymatiques ainsi qu'à perturber les membranes. (29,31)

Pour échapper à ces dommages, une oxydation par le dioxygène de l'hème libre (Fe II) en ferriprotoporphyrine IX (Fe (III) PPIX) appelée également hématoïne qui sera ensuite incorporer dans un microcristal : hématoïne ou pigment malarique (Figure 11-A), a eu lieu. (31)

Selon Pagola et al, les molécules de Fe(III)PPIX sont liées deux à deux par des liaisons de coordination entre le groupement propionate de l'une et le Fe(III) de l'autre pour former un dimère (β -hématine). Une polymérisation des unités dimériques par des liaisons hydrogènes entre les acides propioniques a eu lieu pour donner l'hémozoïne (Figure 12). (31)

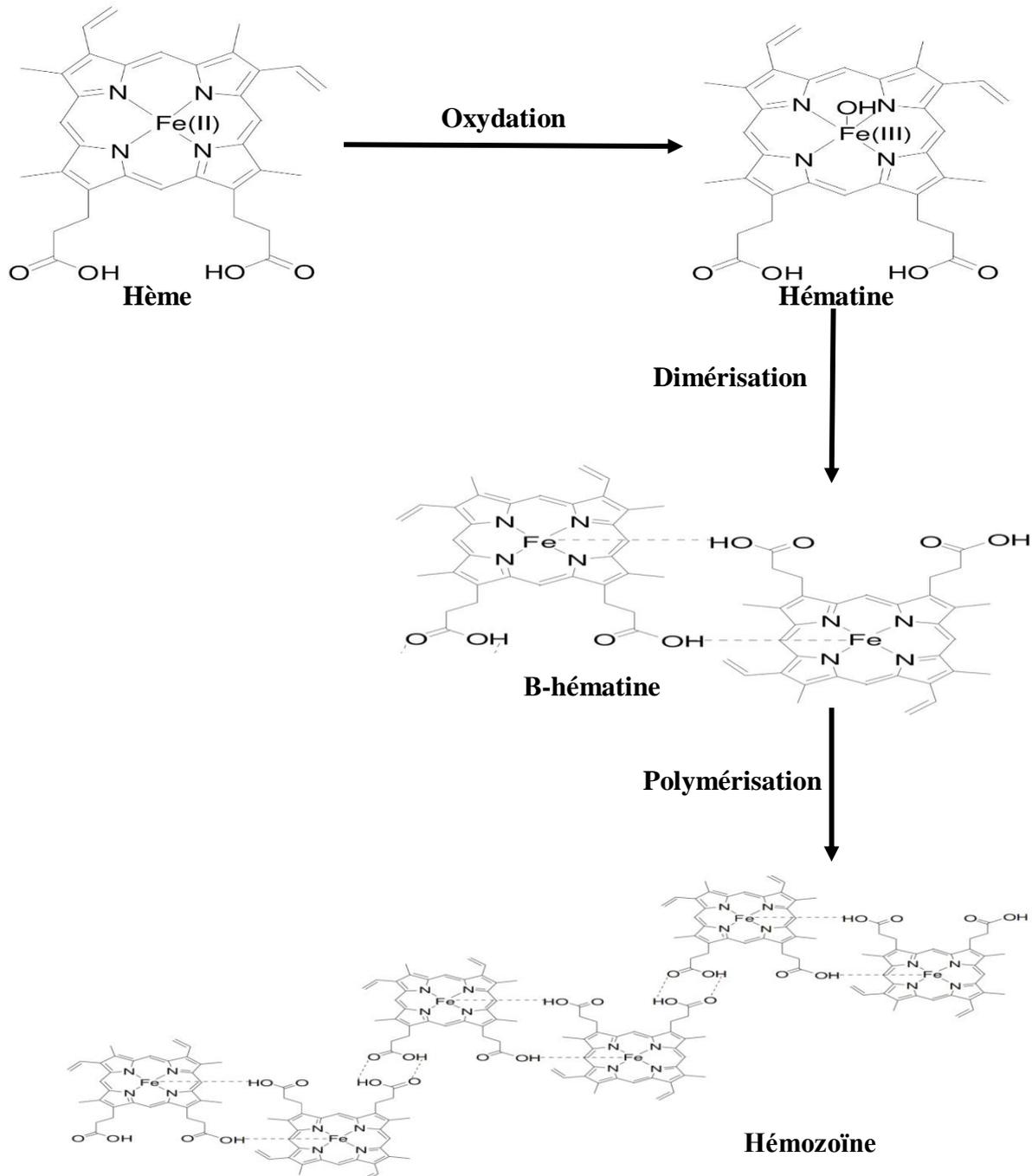


Figure 12: Formation du pigment malarique. (31)

Les lipides peuvent également participer à ce processus dans la mesure où des corps lipidiques ont été observés dans la vacuole digestive et que le pigment malarique est associé à des lipides. (27)

Autres mécanismes de détoxification de l'hème :

Le parasite posséderait d'autres processus de détoxification de l'hème :

- Le groupe de Loria a suggéré qu'une destruction peroxidative de la Fe(III) PPIX pourrait se produire grâce H_2O_2 formé dans la vacuole digestive (Figure 11-B). (31)
- Une partie subit une translocation à travers la membrane de la vacuole digestive dans le cytoplasme de l'hôte où elle est rapidement réduite par le milieu réducteur incluant le GSH. Une activité d'hème oxygénase a été identifiée chez certains plasmodiums non humains (Figure 11-C). (29,31)
- Les électrons libérés lors de l'oxydation de l'hème en hématine favorisent la formation ERO tels que les radicaux anions superoxydes (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui peuvent causer des dommages cellulaires (stress oxydatif).

Le superoxyde dismutase (SOD) et la catalase sont des enzymes cellulaires qui agissent respectivement pour prévenir le stress oxydatif en détoxifiant les ERO. Ces deux activités se retrouvent dans la vacuole digestive. Le peroxyde d'hydrogène peut également être exporté dans le cytoplasme du parasite où il est détoxifié par la catalase ou la glutathion peroxydase (Figure 11-D). (29)

I.5.2 Métabolisme cytoplasmique

Le cytoplasme comporte le cytosol et deux organites essentiels : les mitochondries et l'apicoplaste. Ils sont nécessaires à la synthèse des acides nucléiques.

I.5.2.1 Métabolisme des acides nucléiques (apicoplaste)

Le Plasmodium, comme l'hématie, est incapable de synthétiser le noyau purique. Il récupère les purines de l'hôte pour la synthèse de ses acides nucléiques. Les bases purines nécessaires au parasite (l'adénosine, l'hypoxanthine, la xanthine et la guanine) sont importées du milieu extracellulaire à l'aide de transporteurs spécifiques. L'hypoxanthine est la principale source de purines et son incorporation (lorsqu'elle est radio-marquée) sert de marqueur de croissance dans la méthode décrite par Desjardins et al. (30)

I.5.2.2 Métabolisme des folates (cytosol)

Le parasite est capable de synthétiser de novo les bases pyrimidiques. Cette synthèse est liée au métabolisme des folates. Notons qu'une enzyme de ce métabolisme, la DHFR

dépendante du NADPH, est la cible de l'association pyriméthamine-sulfadoxine, utilisée dans le paludisme non compliqué. (30)

I.5.2.3 Métabolisme énergétique (mitochondrie)

Le parasite réalise le métabolisme mitochondrial pour avoir de l'énergie grâce aux deux enzymes : le cytochrome C réductase et la déhydroorotate déshydrogénase. Cette dernière, est l'enzyme clé dans la biosynthèse des nucléotides. (26)

Sa source d'énergie est alors essentiellement le glucose plasmatique, une hématie parasitée consomme bien plus de glucose qu'un globule rouge sain. (30)

I.5.3 Métabolisme membranaire

La membrane plasmique du plasmodium est constituée essentiellement de phospholipides (phosphatidylcholines et phosphatidyléthanolamines) et dépourvue de cholestérol (contrairement à celle de la plupart des organismes eucaryotes).

Le plasmodium ne peut synthétiser ses propres acides gras et utilise donc ceux du plasma. On note une importante activité acétyl-CoA synthétase, qui produit de l'acétyl-CoA, donneur d'acides gras. (30)

I.6 Traitement du paludisme

La lutte contre le paludisme repose sur trois principes :

- ✚ La lutte contre les piqûres de l'Anophèle par l'utilisation des insecticides en zones d'endémie et la distribution de moustiquaires associée à l'information et la sensibilisation des populations les plus touchées.
- ✚ La recherche et le développement de vaccins.
- ✚ La recherche et le développement de nouvelles molécules antipaludiques ainsi que l'utilisation de poly-chimiothérapies. (30)

Un traitement antipaludique doit, en premier lieu, reposer sur des molécules peu onéreuses car elles sont destinées avant tout au traitement de populations pauvres pour qui l'accès au soin n'est pas évident. (30)

Ensuite, le choix du traitement dépend surtout de l'évaluation de la gravité clinique de la maladie d'où la nécessité d'un diagnostic rapide et pertinent.

Le traitement curatif de l'accès palustre doit tenir compte de plusieurs principes :

- Il doit être le plus précoce possible afin de prévenir l'évolution vers un paludisme grave lors d'infection à *P.falciparum*.
- Il doit mettre en balance la toxicité des molécules disponibles et leur efficacité vis-à-vis du parasite. Il faut savoir qu'en général, les traitements anti-malariques

sont plus toxiques que les antibiotiques, l'index thérapeutique est étroit mais les effets secondaires sévères restent rares.

Enfin, rappelons que le traitement du paludisme doit nécessairement respecter certaines règles dans le but d'éviter l'émergence des résistances de certaines souches aux molécules existantes. (30)

II. Les antipaludiques

II.1 Définition

C'est l'ensemble de produits chimiques (naturels ou synthétiques) administrés à l'homme pour lutter contre le plasmodium, soit pour le tuer (plasmocides) soit pour inhiber son développement (plasmostatique). (32)

II.2 Historique

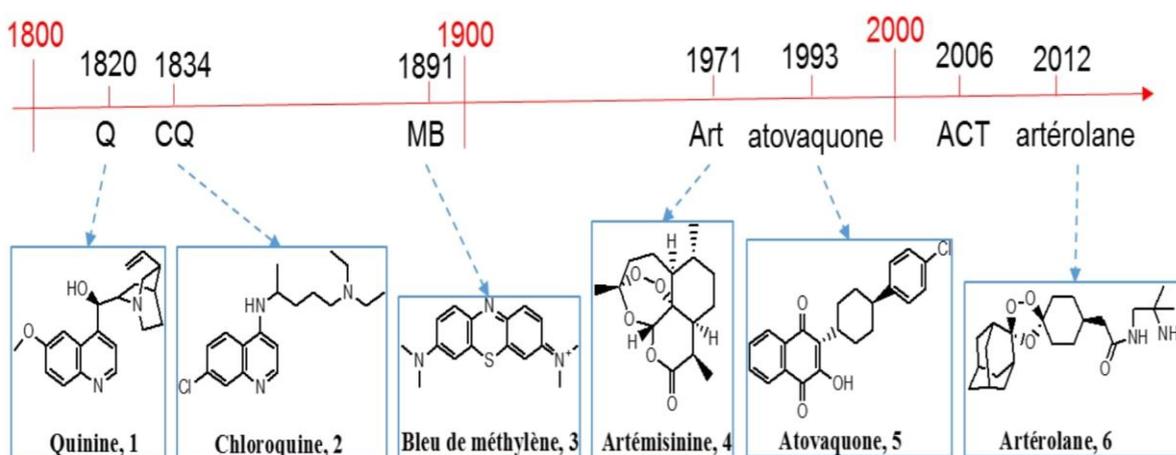


Figure 13: Chronologie de la découverte des antipaludiques majeurs. (33)

L'histoire de la pharmacie antipaludique démarre en 1820 (Figure 13) avec la découverte de la **quinine** (Figure 13-1) par deux pharmaciens militaires « Pierre-Joseph Pelletier et Joseph Bienaime Caventou », produit naturel qui constitua jusqu'en 1930 le seul traitement du paludisme (34). Cette dernière a été le point de départ de la synthèse chimique du chef de file des 4-aminoquinoléines « la **chloroquine** » (Figure 13-2) en 1834.

La découverte du **bleu de méthylène** (Figure 13-3), un composé redox marque une nouvelle étape. En 1891, Ehrlich et Paul Guttman l'administrent avec succès à deux patients infectés par le plasmodium et pour la première fois une drogue de synthèse et non d'origine naturelle était active contre le paludisme.

Plus tard le BM avec la quinine, servirent de base structurale pour le développement des 8-aminoquinolines (**pamaquine**) et 9-aminoacridines mépacrine (**quinacrine**) en 1925 et 1930, respectivement. (35,36)

En 1939, la chloroquine s'imposa mondialement comme un antipaludique de premier choix.

Ce n'est qu'en 1944, « CURD et al » préparèrent le **proguanil**, composé biguanidique.

L'obtention en 1946 de la **primaquine** a permis plusieurs années plus tard son utilisation dans le traitement des formes récidivantes du paludisme.

Le papyrus Ebers d'Egypte datant de 1600 av. J.-C. a recommandé l'utilisation de l'Artemisia annua contre les symptômes du paludisme, mais ce n'est qu'en 1971 que l'**artémisinine** (Figure 13-4) est isolée par des scientifiques chinois.

L'apparition des résistances du *P.falciparum* à la chloroquine a favorisé le développement, d'ainoalcools inspiré de la structure de la quinine (**Halofantrine** en 1960, **méfloquine** en 1973, ainsi que l'utilisation de composés dont ce n'était pas l'indication, mais dont les propriétés antipaludiques étaient connues comme les antifoliques, les antifoliniques (depuis 1950) et les antibiotiques. (30, 34, 35, 36,38)

II.3 Classification des antipaludiques

La lutte pharmacologique contre le paludisme fait appel à de nombreuses molécules, aussi bien à visée prophylactique qu'à visée thérapeutique. Les médicaments utilisés peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, ou en fonction de leur site d'action (37) :

Classification chimique

Cette classification tient compte de la structure chimique de la molécule :

- Alcaloïdes du quinquina : Quinine
- 4-aminoquinoléines : Chloroquine, Amodiaquine
- 8-aminoquinoléines : Primaquine
- 9-aminoacridines : Mépacrine
- Ainoalcools : Méfloquine, Halofantrine et Luméfantrine
- L'artémisinine et ses dérivés : Artéméther, Artésunate, Artéether et Dihydroartémisinine
- Antifoliniques : Proguanil, Pyriméthamine et Triméthoprime
- Antifoliques : Sulfaoxine, Sulfatène et Dapsone
- Hydroxynaphtoquinone : Atovaquone
- Antibiotiques

- Les associations (37)

Classification selon le site d'action

On peut classer les antipaludiques selon leur site d'action en 3 classes (Tableau 07) :

1. **Schizonticides** : actifs sur le cycle asexué ; classés dans deux groupes selon leur mode d'action :
Schizonticides tissulaires : qui ont une action lente et agissent sur les formes exo-érythrocytaires (les schizontes exo-érythrocytaires) dans les hépatocytes chez l'homme, comme : la pyriméthamine et la primaquine.
Schizonticides sanguins : qui agissent sur les schizontes érythrocytaires comme la chloroquine, quinine, l'artésunate, la méfloquine, la sulfadoxine-pyriméthamine, l'halofantrine et les antibiotiques.
2. **Gamétocytocides** : qui agissent en inhibant la transformation des gamétocytes « mâles et femelles » du sang humain en gamètes chez le moustique ; ils entravent ainsi le cycle sporogonique et interrompent la transmission de l'espèce plasmodiale. Exemple : la primaquine.
3. **Sporontocides** : inhibent le développement des oocystes et des sporozoïtes chez les anophèles comme la primaquine et le proguanil. (37,38)

<u>Schizonticides</u>	<u>Gamétocides</u>
<p><u>A action rapide</u> :</p> <p><u>Naturels</u> :</p> <p>Quinine. Artémisinine et ses dérivés.</p> <p><u>De synthèse</u> :</p> <p>Chloroquine ; Amodiaquine. Méfloquine. Halofantrine.</p> <p><u>A action lente</u> :</p> <p>Proguanil ; Pyriméthamine. Cycline ; Clindamycine.</p> <p><u>A action modérée</u> :</p> <p>Sulfamides ; Sulfone</p> <p><u>Actifs mais à dose toxique</u> :</p> <p>Primaquine.</p>	<p><u>P. vivax et P.malariae</u> :</p> <p>Quinine. Chloroquine ; Amodiaquine. Méfloquine. Primaquine.</p> <p><u>P. falciparum</u> :</p> <p>Primaquine.</p>

Tableau 07: Classification des antipaludiques selon le site d'action. (28)

II.3.1 Les schizonticides

II.3.1.1 Les schizonticides naturels

Deux antipaludiques extraits des plantes médicinales sont toujours parmi les plus utilisés et les plus efficaces. Il s'agit de la **quinine**, l'**artémisinine** et ses **dérivés**.

II.3.1.1.1 La quinine

Structure et nomenclature

➤ structure

La quinine a un noyau iso-quinoléine avec un radical méthanol (carbinol) en position 4, que l'on retrouve chez les autres alcool-quinoléines. C'est un stéréo-isomère de la quinidine qui est un antiarythmique (Figure 14).

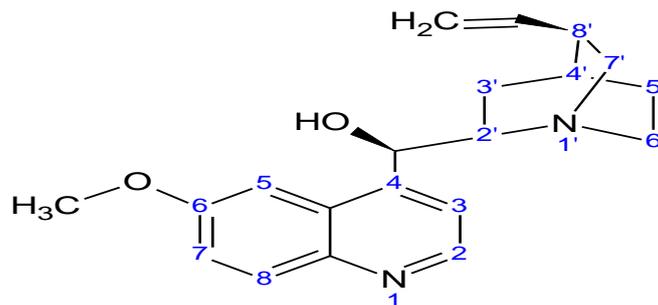


Figure 14 : Structure chimique de la quinine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

(R)-(6-méthoxyquinoléin-4-yl)-[(2'S, 4'S, 8'R)-8'-vinylquinuclidin-2'-yl] méthanol.

Mécanisme d'action

La quinine est un schizontocide sanguin à action rapide ayant peu d'action sur les sporozoïtes et les stades exo-érythrocytaires des plasmodies. Elle est aussi gamétocytocide pour *P.vivax* et *P.malariae* mais pas pour *P.falciparum*. Elle n'a aucune activité sur les formes intra-hépatiques.

C'est une base faible qui se concentre dans la vacuole digestive du *P.falciparum*. La quinine agit en inhibant l'action de l'hème-polymérase et donc en permettant l'accumulation de l'hémine (produit cytotoxique de la dégradation de l'Hb) qui est normalement transformée en pigment malarique inoffensif et utilisable par le parasite grâce à cette enzyme.

Une fixation sur des sites protéiques du parasite pourrait être favorisée par la lipophile du médicament. (38)

Indications

- Traitement de l'accès grave de paludisme à P.falciparum.
- Traitement des accès simples de paludisme à P.falciparum en zones 2 et 3.
(30,40)

Effets indésirables

Ils sont dose-dépendants :

- Fréquent, peu grave : cinchonisme.
- Hypoglycémie par augmentation de la sécrétion d'insuline.

Les signes de toxicité surviennent pour des concentrations plasmatiques élevées lors d'accès palustres graves. Ce sont principalement :

- Toxicité cardiovasculaire : trouble de la conduction, trouble du rythme, allongement de l'espace QT.
- Toxicité oculaire : perte passagère de vision par atteinte des cellules rétiniennes.
- Toxicité auditive : altération de l'audition pour des fréquences élevées, acouphènes.
- Toxicité neurologique : vertiges.
- Toxicité cutanées : photosensibilisation.
- Toxicité hématologique. (40)

II.3.1.1.2 Artémisinine et ses dérivés

Trois dérivés principaux sont produits à partir de l'artémisinine après réduction en DHA : l'**artéméther**, l'**artésunate** et l'**artéether** (Tableau 08). L'artéméther est de nos jours le plus utilisé, l'artéether et l'artésunate commencent à l'être également. Leur efficacité dans la réduction du taux de parasitémie est supérieure à celle des autres antimalariques actuels. Mais leur demi vie courte est responsable de nombreux cas de recrudescence s'ils sont utilisés seuls.
(30)

Artémisinine

Structure et nomenclature

➤ Structure

La structure de l'artémisinine montre une fonction endopéroxyde incluse dans un cycle 1,2,4-trioxane (Figure 15).

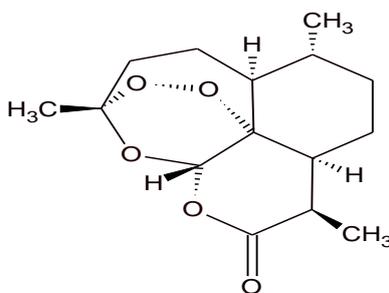


Figure 15: Structure chimique de l'artémisinine. (39)

➤ **Nomenclature selon IUPAC**

(3R,5aS,6R,8aS,9R,12S,12aR)-octahydro-3,6,9-triméthyl-3,12-époxy-12H-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxépin-10(3H)-one

Les dérivés de l'artémisinine

<u>Dérivés</u>	<u>Structure</u>
Artésunate	
Artéméter	
Artéether	

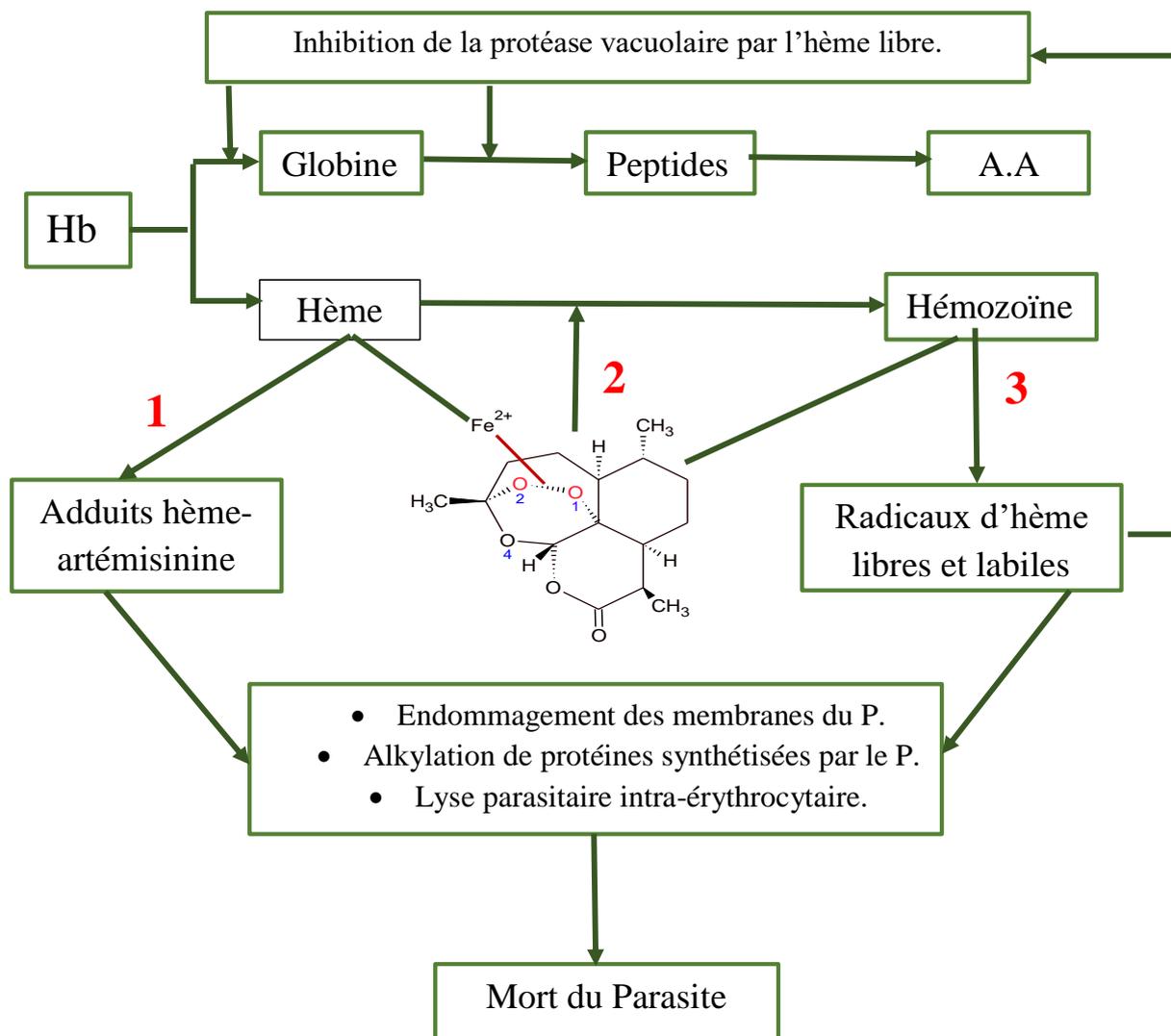
Tableau 08: Structures chimiques des dérivés de l'artémisinine. (39)

Mécanisme d'action

L'artémisinine comme ses dérivés interfèrent avec l'utilisation de l'hémoglobine après réduction de la liaison peroxyde. La réduction est catalysée par la présence de l'ion fer (II) de l'hème.

Cela conduit à la formation d'un radical alcoxy dont la fragmentation conduit à un second radical de type alkyle. Ce dernier va alkyler l'hème libéré lors de la dégradation de l'Hb par le Plasmodium pour former des produits de couplage appelés adduits hème - artémisinine.

Les radicaux alkyles peuvent également agir sur le processus de formation de l'hémozoïne à partir de l'hème soit en l'inhibant, soit en réduisant l'hémozoïne déjà formée. La scission de l'hémozoïne génère des composés électrophiles instables qui vont former une liaison covalente avec les protéines synthétisées par le parasite et interférer avec son métabolisme. Les membranes du parasite sont alors endommagées. Par conséquent, les vacuoles digestives libèrent dans le cytoplasme une enzyme hydrolytique qui provoque la mort du parasite (Figure 16). (41,42)



1 : formation du complexe entre l'hème et l'artémisinine.

2 : inhibition de la formation de l'hémozoïne.

3 : scission de l'hémozoïne.

Figure 16: Représentation schématique du mécanisme d'action de l'artémisinine. (42)

II.3.1.2 Les schizonticides de synthèse

II.3.1.2.1 Les 4-aminoquinoléines

Ce sont les premiers antipaludiques de synthèse, isolés entre 1938 et 1941. Ils ont en communs un noyau quinoléiques, une chaîne latérale aminé en position 4, et un radical chloré en position 7 (Figure 17). (30)

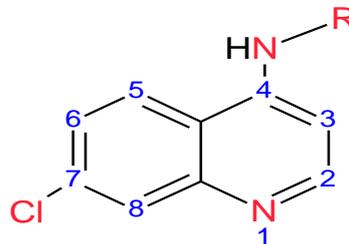


Figure 17: Structure chimique générale des 4-aminoquinoléines. (30)

En l'absence de suspicion de résistance de *P.falciparum*, les 4-aminoquinoléines (Chloroquine et Amodiaquine) sont indiquées en première intention dans le traitement de l'accès palustre simple. (30)

II.3.1.2.1.1 La chloroquine

Structure et nomenclature

➤ Structure

C'est une 4-aminoquinoléine qui possède une chaîne latérale au niveau de la fonction amine (Figure 18).

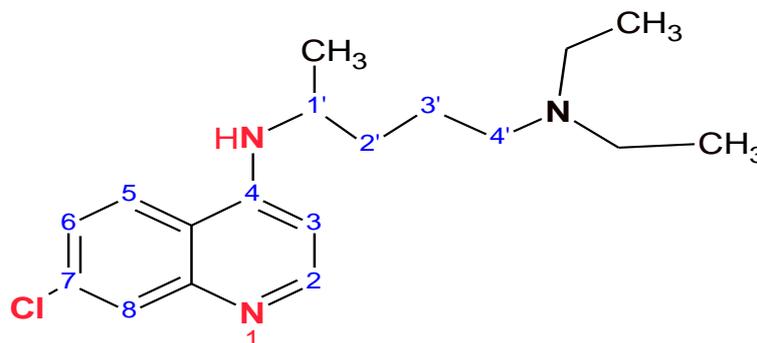


Figure 18: Structure chimique de la chloroquine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

4-(4'-diéthylamino-1'-méthyl)butylamino-7-chloroquinoléine.

Mécanisme d'action

La chloroquine est un schizonticide sanguin à action rapide mais peu actif sur les sporozoïtes et les stades exo-érythrocytaires.

CHAPITRE II Généralités sur le paludisme et les antipaludéens

C'est une base faible qui diffuse passivement à travers la membrane érythrocytaire et parasitaire pour gagner la vacuole digestive où elle agit par inhibition de la formation de l'hémozoïne (Figure 19). (28,30)

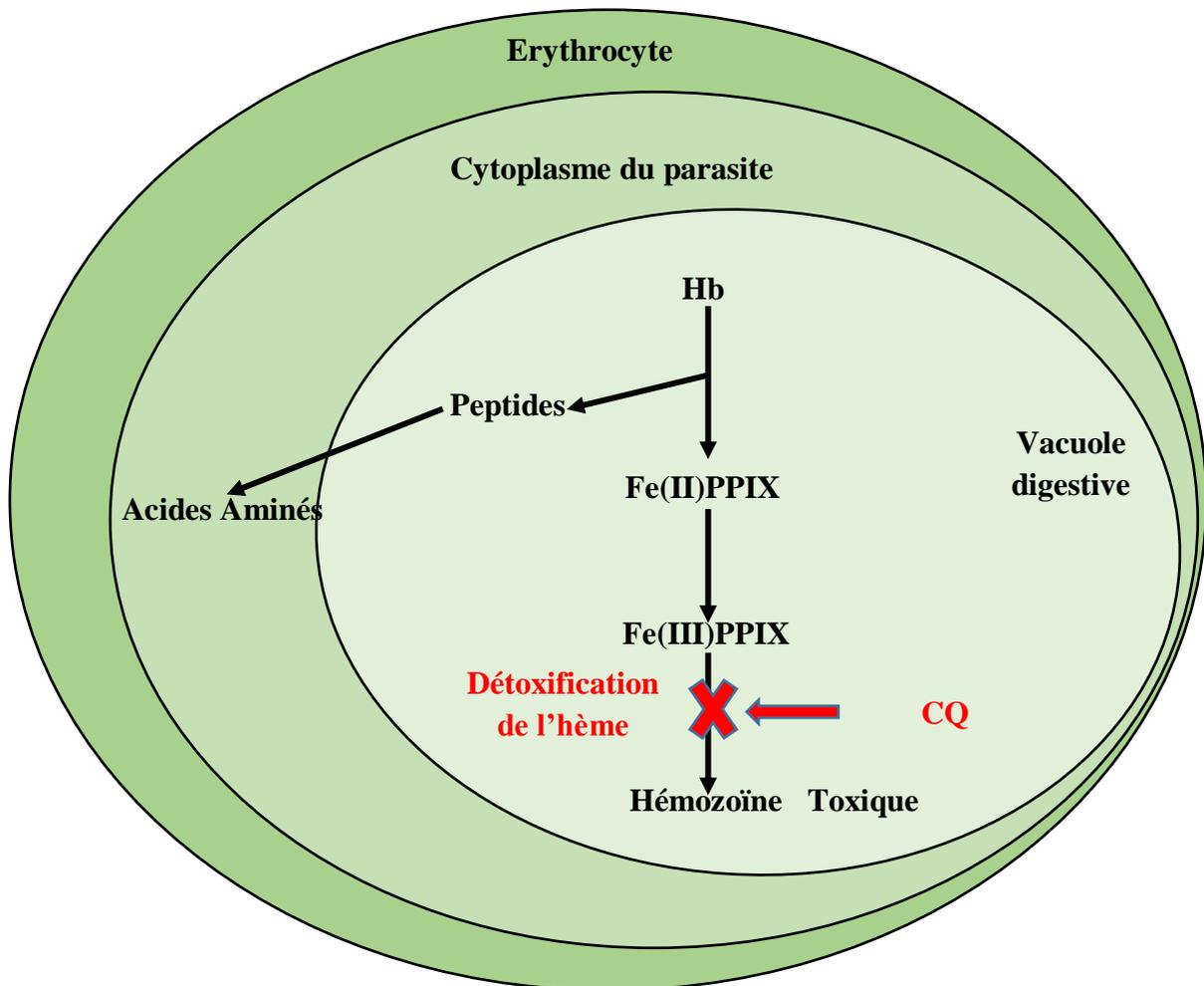


Figure 19: Mécanisme d'action de la chloroquine. (30)

Indication

- Traitement des accès palustres à *P. vivax*, *ovale* et *malariae*, ainsi que les accès simples à *P.falciparum* en zone 1.
- Prophylaxie en zone 1 chloroquino-sensible : le jour du départ, pendant le séjour et 4 semaines après le retour. (40)

Toxicité

En cas de surdosage on note :

- Des troubles ophtalmologiques (troubles de l'accommodation, rétinopathies, opacités cornéennes, dégénérescence maculaire),
- Troubles auditifs (acouphène, surdité),

- Troubles cardiovasculaires (allongement de l'espace QT, trouble de la conduction, choc cardiogénique),
 - Atteinte cutanée (prurit, photosensibilité, éruptions),
 - Troubles hématologiques (effet myélo-suppresseur dose-dépendant), ou neurologiques (exceptionnellement troubles du comportement ou convulsion).
- (40)

II.3.1.2.1.2 Amodiaquine

Structure et nomenclature

➤ Structure

Sa structure diffère de celle de la chloroquine par la présence d'un cycle benzène au niveau de la chaîne latérale (Figure 22).

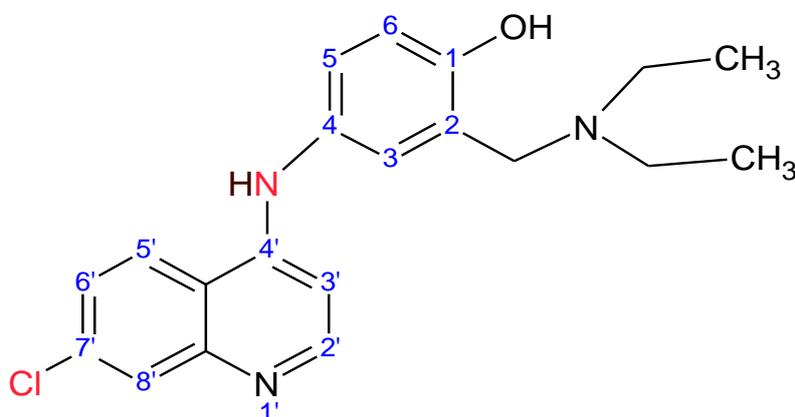


Figure 20: Structure chimique de l'Amodiaquine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

4-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]-2-[(diéthylamino)méthyl]phénol.

Mécanisme d'action

Son mécanisme est semblable à celui de la chloroquine. C'est un schizonticides actifs sur les souches chloroquino-résistantes. Pour augmenter son activité, des associations avec l'atovaquone et le proguanil sont mises en place.

Elle reste une thérapeutique de seconde intention, du fait des résistances croisées possibles avec la chloroquine et la toxicité éventuelle, surtout sur le système hépatique. (30)

II.3.1.2.2 Les amino-alcools

Elles font partie des arylaminoalcools qui regroupent des composés identifiés à partir des années 1970, de structures chimiques diverses mais partageant un radical « carbinol » ou « méthanol ».

II.3.1.2.2.1 Méfloquine

Structure et nomenclature

➤ Structure

C'est un dérivé de 4-méthanolquinoléine dont la structure présente des parentés avec celle de la quinine (Figure 21). (30)

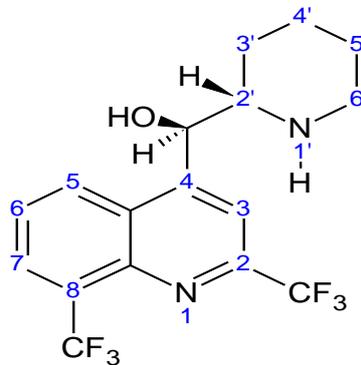


Figure 21: Structure chimique de la méfloquine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

(RS)-[2,8-bis(trifluorométhyl)quinoléin-4-yl][(2RS)-pipéridin-2'-yl]méthanol.

Mécanisme d'action

La méfloquine est un puissant schizonticide sanguin, en particulier contre les trophozoïtes âgés et les schizontes sanguins des plasmodiums mais elle n'a aucune activité sur les stades intra-hépatiques. Son mécanisme d'action est proche de celui de la quinine (30,38)

Indications

- Selon les recommandations de l'OMS, elle est indiquée uniquement dans le traitement et la prophylaxie du paludisme à *P.falciparum* résistant aux autres antipaludiques.
- La méfloquine peut être utilisée lors d'accès mixte dû à *P.falciparum* et à *P.vivax* ou *P.ovale* et lors de paludisme à *P.vivax* chloroquino-résistant. (40)

Effets indésirables

Ses effets indésirables sont caractérisés essentiellement par des troubles gastro-intestinaux, dermatologiques et cardiologiques qui peuvent survenir longtemps après la prise du médicament du fait de sa longue demi-vie.

La méfloquine doit être prise avec précaution car elle provoque aussi des troubles neurologiques et neuropsychiatriques. Malgré cela, elle reste indispensable dans certains cas de résistance à la chloroquine. (40)

II.3.1.2.2 Halofantrine

Structure et nomenclature

➤ Structure

Il s'agit d'un phénanthrène méthanol de structure apparentée à la quinine. Avec un trifluorométhyl en position 6' et deux atome de chlore en position (1',2') sur le phénanthrène et une chaine latérale sur le carbone 3 de la chaîne principale (Figure 22). (38)

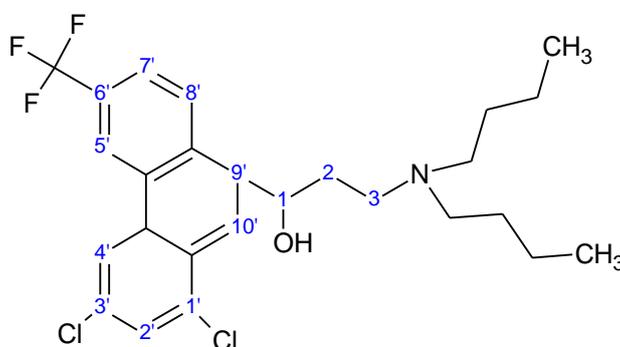


Figure 22: Structure chimique de l'halofantrine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

3-(dibutylamino)-1-[1',3'-dichloro-6'-(trifluorométhyl)phénanthrèn-9'-yl]propan-1-ol.

Mécanisme d'action

L'halofantrine est efficace sur les souches de *P.falciparum* résistantes aux 4-aminoquinoléines et les souches multi-résistantes. Elle est active sur les schizontes sanguins. Son mécanisme d'action est mal connu, il peut être similaire à celui de la chloroquine, quinine et méfloquine en formant des complexes toxiques avec Fe(III) PPIX. (30,38)

II.3.1.2.3 Les antifoliques et les antifoliniques

II.3.1.2.3.1 Les antifoliques : les sulfamides et les sulfones

Les sulfamides utilisés sont surtout la **sulfadoxine** et le **sulfalène**.

Structure et nomenclature

➤ Structure (Figure 23)

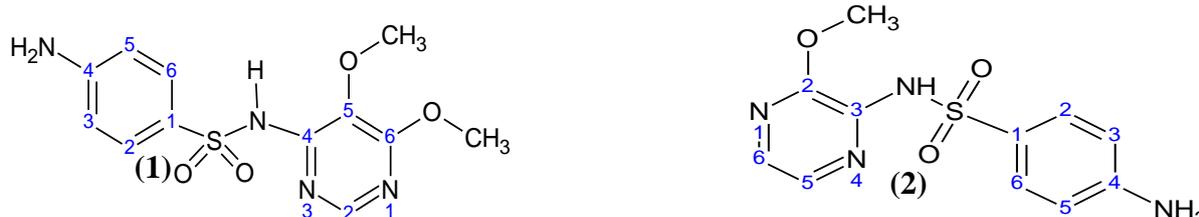


Figure 23: Structure chimique de (1): sulfadoxine, (2): sulfalène. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

(1) : 4-amino-N-(5,6-diméthoxyypyrimidin-4-yl)benzensulfonamide.

(2) : 4-amino-N-(2-méthoxyypyrimidin-3-yl)benzasulfonamide

Mécanisme d'action

Ce sont des schizontocides sanguins analogues du PABA qui bloquent la production de l'acide dihydrofolique en inhibant la dihydroptéroate synthase (DHPS) (une enzyme essentielle pour la synthèse des acides nucléiques). **(30)**

II.3.1.2.3.2 Les antifoliniques :

Ils inhibent la DHFR, qui intervient dans la réduction du dihydrofolate en tétrahydrofolate. Ce dernier est un cofacteur nécessaire dans la biosynthèse de la thymidylate, des nucléotides puriques et de certains acides aminés. **(30)**

II.3.1.2.3.2.1 Le proguanil

Structure et nomenclature

➤ Structure

C'est un dérivé biguanidique (Figure 24).

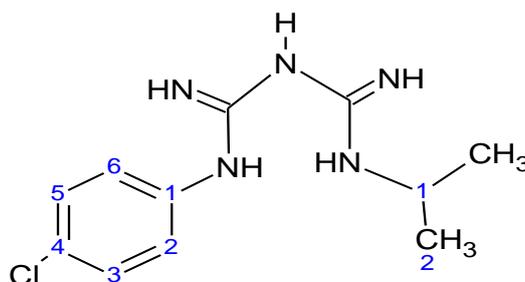


Figure 24: Structure chimique du proguanil. **(39)**

➤ Nomenclature selon IUPAC

N-(4-chlorophén-1-yl)-N'-(1-méthyléthyl)biguanide.

Mécanisme d'action

Le proguanil (Chloroguanide) est un schizontocide sanguin et tissulaire qui inhibe la DHFR. Notons que ce dernier est inactif par lui-même, agit par l'intermédiaire de son métabolite actif (la cycloguanil). Cette métabolisation subit un polymorphisme génétique au sein des populations.

Il inhibe également la sporogonie. **(30,38)**

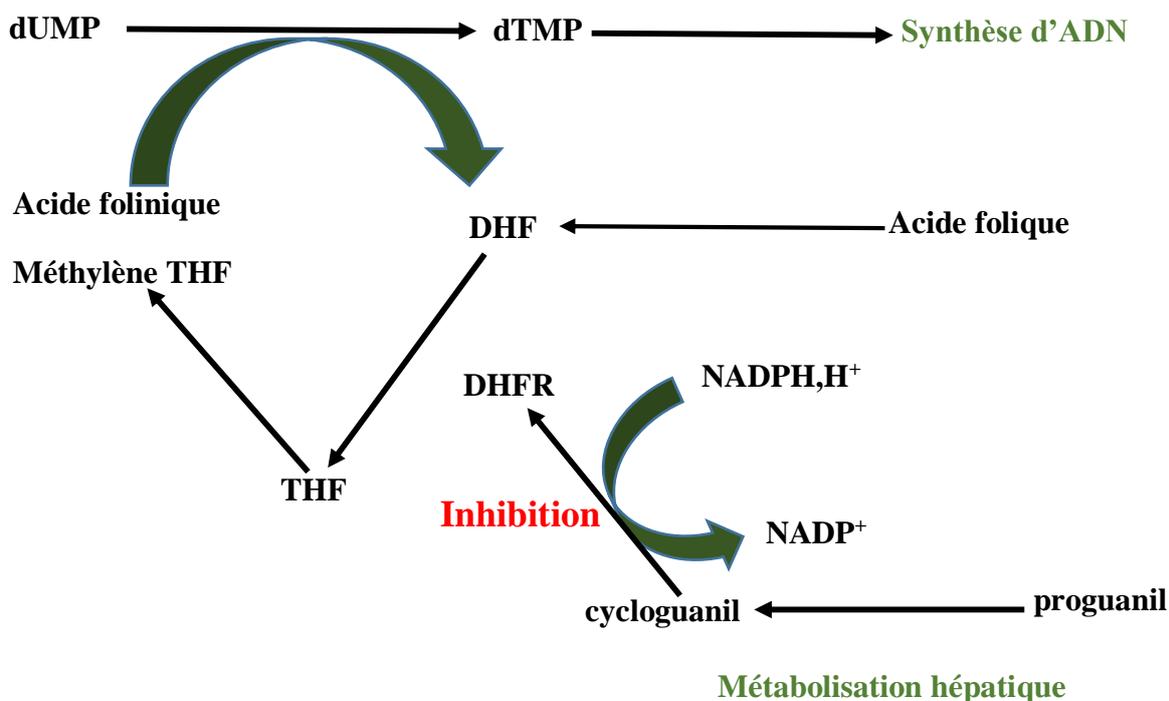


Figure 25: Mécanisme d'action du proguanil. (30)

Indications

Le proguanil est indiqué dans le traitement prophylactique de paludisme notamment en zone de chimiorésistance. (35)

II.3.1.2.3.2.2 Pyriméthamine

Structure et nomenclature

➤ **Structure**

C'est une 2,4-diaminopyrimidine substituée en 5 et 6 (Figure 26).

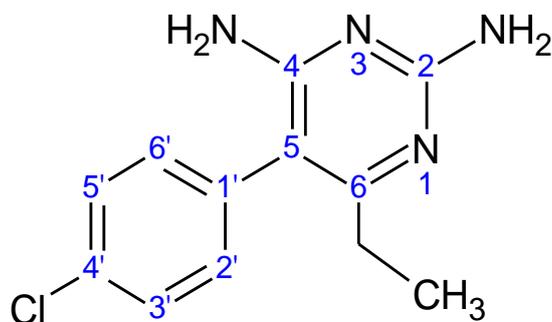


Figure 26: Structure chimique de la pyriméthamine. (39)

➤ **Nomenclature selon IUPAC**

2,4-diamino-6-éthyl-5-(4'-chlorophényl)pyrimidine.

Mécanisme d'action

La pyriméthamine est un schizontocide sanguin le plus efficace des inhibiteurs de la DHFR. Comme le proguanil, son utilisation provoque l'apparition rapide de la chloro-résistance. (30)

II.3.1.2.4 Les naphthoquinones

II.3.1.2.4.1 Atovaquone

Structure et nomenclature

➤ Structure

Une hydroxynaphthoquinone substituée en position 2 par un aryl (Figure 27).

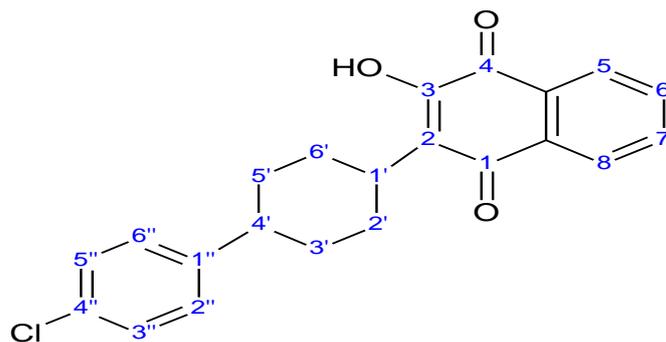


Figure 27: Structure chimique de l'atovaquone. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

2-[4'-(4''-chlorophényl)cyclohexyl]-3-hydroxynaphtalène-1,4-diones

Mécanisme d'action

C'est un analogue de l'ubiquinone. L'atovaquone agit par inhibition du transport des électrons au niveau du cytochrome bc1 de la mitochondrie du plasmodium en entrant en compétition avec son substrat naturel (l'ubiquinone). Ceci entraîne une dépolarisation membranaire et inhibe la réplication. Elle est à la fois active sur les formes érythrocytaires et hépatiques. (30)

II.3.1.2.5 Les antibiotiques

Il existe plusieurs antibiotiques qui montrent une activité antipaludique. Leur usage a pour intérêt d'éviter les rechutes en achevant l'élimination des parasites.

II.3.1.2.5.1 Les cyclines

Ce sont des schizontocides sanguins actifs sur les souches de *P.falciparum* résistants aux quinoléines : doxycycline. (30)

II.3.1.2.5.2 Les macrolides

Ils sont utilisés en association avec d'autres antibiotiques (érythromycine, spiramycine), ou isolément (clindamycine) en cas de chimio-résistance. (30)

II.3.2 Les gamétocytocides

Ce sont principalement des 8-aminoquinoléines : pamaquine (première 8-aminoquinoléine synthétisée en Allemagne dans les années 1920), primaquine, rhodaquine, quinocide. Seule la primaquine reste encore disponible. (30)

II.3.2.1 Primaquine

Structure et nomenclature

➤ Structure

Elle possède un noyau quinoléine, un radical aminé en position 8, et un radical méthoxy en position 6 (Figure 28).

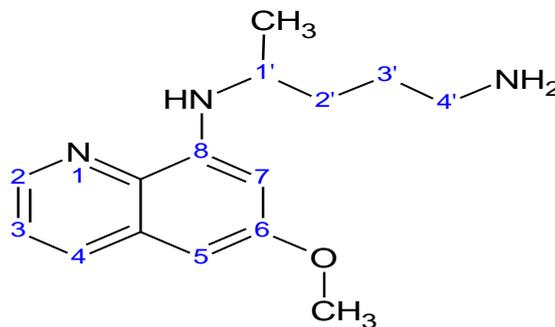


Figure 28: Structure chimique de la primaquine. (39)

➤ Nomenclature selon IUPAC

8-[(4'-amino-1'-méthyl)butylamino]-6-méthoxyaminoquinoléine

Mécanisme d'action

La primaquine est un agent anti-protozoaire très actif sur les formes tissulaires quiescentes de *P.vivax* et *P.ovale*, ainsi que les schizontes hépatiques primaires de *P.falciparum*.

Elle utilise les mêmes systèmes de réduction à NADPH de l'érythrocyte et l'hépatocyte pour sa biotransformation que les schizontes. La cellule devient donc incapable de fournir au schizonte des éléments qui sont indispensables pour son métabolisme. La primaquine bloque également le développement des gamètes dans le tube digestif de l'Anophèle. (30)

Indications

- Elle est recommandée pour prévenir les rechutes de paludisme à *P.vivax* et *P.ovale*.

- Elle est utilisable en association avec la clindamycine dans le traitement des pneumopathies à Pneumocytis carinii.
- Elle est encore bien efficace en curatif et en prophylaxie dans les zones touchées, mais elle reste peu utilisée du fait de sa toxicité. (30)

II.3.3 Autres médicaments antipaludiques de synthèse

II.3.3.1 Tafénoquine

Structure et nomenclature

- Structure (Figure 29)

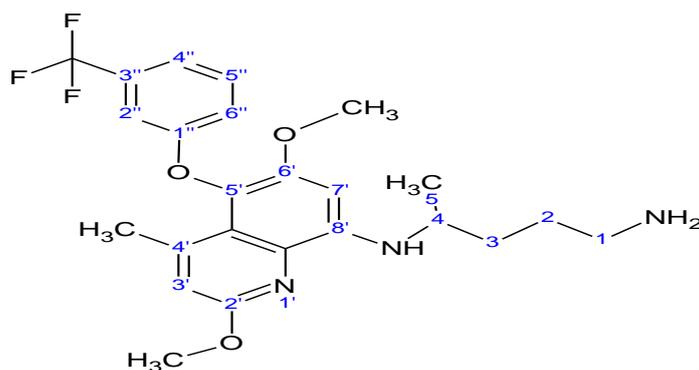


Figure 29: Structure chimique de la Tafénoquine. (30)

- Nomenclature selon IUPAC

N-[2,6-diméthoxy-4-méthyl-5-[3-(trifluorométhyl)phénoxy]quinolin-8-yl]pentane-1,4-diamine

Mécanisme d'action

Elle est active sur le stade érythrocytaire asexué de *P.falciparum* contrairement à la primaquine. Elle agit également sur les formes hépatiques et possède une activité anti-sporozoïte.

Son mode d'action est proche de celui des 4-aminoquinoléines, passe par l'inhibition de la polymérisation de l'hème et donc l'accumulation de l'hémine toxique.

L'action sur les stades hépatiques et au niveau des gamétocytes s'expliquerait par la production de métabolites toxiques au niveau mitochondrial. (30)

Indications

Elle est utilisée en prophylaxie en zones de chloroquino-résistance et son activité au stade hépatique la rend intéressante sur le *P.vivax*. (30)

II.3.3.2 Pyronaridine

Structure et nomenclature

➤ Structure

Elle montre une structure proche de celle des 4-aminoquinoléines (Figure : 30).

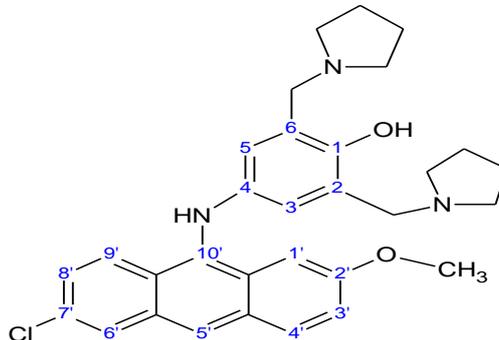


Figure 30: Structure chimique de la pyronaridine. (30)

➤ Nomenclature selon IUPAC

4-[(7'-chloro-2'-méthoxybenzo[b][1,5]naphthyridin-10-yl)amino]-2,6-bis(pyrrolidin-1-ylmethyl)phénol

Mécanisme d'action

Elle possède un mécanisme d'action proche de celui des 4-aminoquinoléines. C'est donc un schizonticide sanguin interférant dans la détoxification de l'hème libre. (30)

Indications

Bien tolérée, elle est indiquée dans le traitement de l'accès palustre résistant à la chloroquine, avec une grande efficacité. Mais sa large utilisation dans certaines régions a déjà été à l'origine d'apparition de souches résistantes. (30)

II.4 Résistance aux antipaludiques

II.4.1 Définition

La chimiorésistance concerne exclusivement le *P. falciparum* et les schizontocides sanguins. L'OMS, définit la pharmaco-résistance ou la résistance comme étant l'aptitude d'une souche parasitaire à survivre ou à se reproduire malgré l'administration et l'absorption d'un médicament aux doses égales ou supérieures à celles recommandées mais comprises dans les limites de tolérance du sujet.

Une résistance a déjà mis en évidence pour toutes les classes des médicaments antipaludiques. Elle augmente le niveau de transmission du paludisme et, par conséquent, le nombre d'accès augmente. (43)

II.4.2 Mécanismes de résistance

Les mécanismes de la résistance sont dépendants des mécanismes d'action des antipaludiques.

➤ Mécanisme de résistance aux quinoléines

Le mécanisme de résistance aux quinoléines telles que la chloroquine n'est pas bien compris. Certaines études montrent que ce dernier est associé à des altérations des processus de transports associés à la membrane ainsi que l'augmentation de l'efflux de la molécule par le parasite (Figure 31). Ces deux mécanismes font chuter la concentration de la chloroquine au niveau du site d'action.

- L'augmentation du pH réduit l'accumulation de la chloroquine. C'est la conséquence de la mutation K76T sur la protéine PfCRT de la membrane de la vacuole digestive.
- Le mécanisme MDR aux agents anti-infectieux et anti-cancéreux est aussi mis en jeu. Il est associé à des « mdr-gènes », codant pour un groupe de glycoprotéines membranaires qui gouvernent l'efflux cellulaire du principe actif. PfMDR est l'un d'entre eux chez *P.falciparum*. (44)

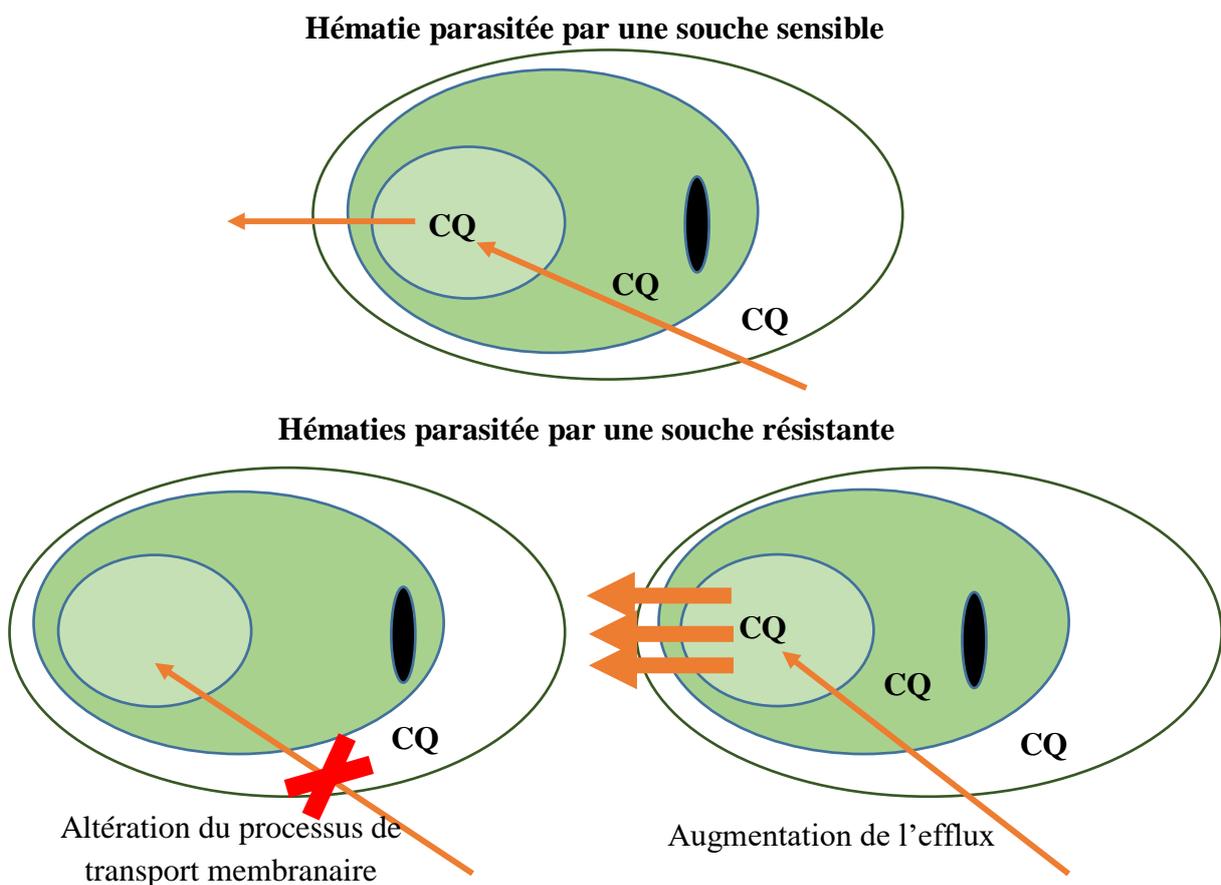


Figure 31: Représentation schématique de la résistance du plasmodium à la CQ. (28)

➤ Mécanisme de résistance à l'artémisinine

La résistance de Plasmodium à l'artémisinine est attribuée aux formes en anneaux (trophozoïtes jeunes) qui entrent dans un état de quiescence après exposition à l'artémisinine, puis reprennent leur croissance après le retrait de cette dernière.

Ce processus est influencé par le gène PfK13. Sa faible biodisponibilité améliore également le développement de la pharmacorésistance. (44)

➤ Mécanisme de résistance aux amino-alcools

La résistance aux 4-aminoquinoléines méthanol, comme la Méfloquine est attribuée à une surexpression de Pgh-1 qui améliore l'efflux de cette dernière dans la vacuole digestive du Plasmodium.

Cependant une résistance à la Méfloquine est également possible en l'absence d'amplification de PfMDR1. (44)

➤ Mécanisme de résistance aux hydroxynaphtoquinones et aux diaminopyrimidines

La résistance des Plasmodiums aux hydroxynaphtoquinones, telles que l'Atovaquone serait rapide et due à une mutation ponctuelle du gène du cytochrome b.

La résistance aux antipaludéens à base de diaminopyrimidine, tels que la Pyriméthamine est due aux mutations du gène de la DHFR. Ces mutations réduisent l'affinité de la liaison entre la Pyriméthamine et la DHFR. (44)

➤ Mécanisme de résistance aux sulfamides

Des études ont rapporté que des mutations de cinq codons DHPS (S436A/F ; A437G, K540E, A581G et A613S/T) contribuent à la résistance de Plasmodium aux sulfadoxines, par diminution de l'affinité de l'enzyme DHPS mutante à la sulfadoxine. (44)

II.4.3 Les associations

L'apparition de la résistance suscite la recherche permanente de nouvelles molécules, isolées ou associées si possible entre différents produits actifs sur des cibles métaboliques différentes. Le concept de combinaison thérapeutique est basé sur l'action potentielle synergique ou additive de deux médicaments ou plus, dans le but d'améliorer l'efficacité et de retarder l'apparition de la résistance aux composants individuels de l'association. (26)

Il y a deux types d'associations de médicaments antipaludiques :

II.4.3.1 Associations sans artémisinine (non CTA)

Ce sont des associations dans lesquelles il n'y a pas de dérivés d'artémisinine. Elles sont constituées de schizonticides sanguins agissant sur différentes cibles biochimiques du parasite. Elles sont présentées sous forme des antipaludiques individuels pour administration conjointe

ou sous forme d'associations fixes. Les associations ont présenté des taux de guérison plus élevés que les médicaments individuels (26), citons :

- **Chloroquine + dapsone**
- **Méfloquine + sulfadoxine + pyriméthamine (MSP)**
- **Pyriméthamine-sulfadoxine**
- **Atovaquone-proguanil (Malarone®)**

II.4.3.2 Associations à base d'artémisinine (Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA))

Plusieurs dérivés d'artémisinine ont été utilisés dans différentes formulations contre le 20 paludisme depuis le début des années 1980. Les CTA sont assez neufs et possèdent de nombreux avantages par rapport aux originaux. L'artémisinine (qinghaosu), l'artésunate, l'artéméter et la dihydroartémisinine ont tous été utilisés en combinaison avec d'autres antipaludiques pour le traitement du paludisme. (26) Citons :

- **Artésunate + Méfloquine**
- **Artésunate + pyronaridine**
- **Artéméter + luméfantrine**

CHAPITRE III :

Les médicaments antipaludiques hybrides

CHAPITRE III Les médicaments antipaludiques hybrides

Des facteurs tels que l'insuffisance des méthodes de lutte contre le vecteur «Anophèle femelle», le développement des souches résistantes aux antipaludéens existants, le manque d'un vaccin antipaludéen efficace, l'insuffisance de l'offre de médicaments par rapport à la demande, et la mauvaise observance contribuent à la gravité du paludisme.

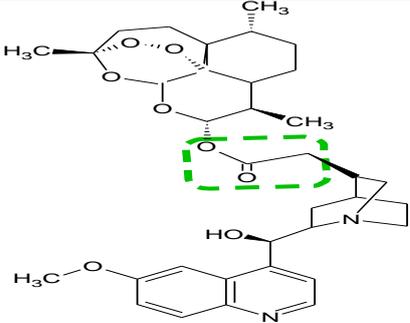
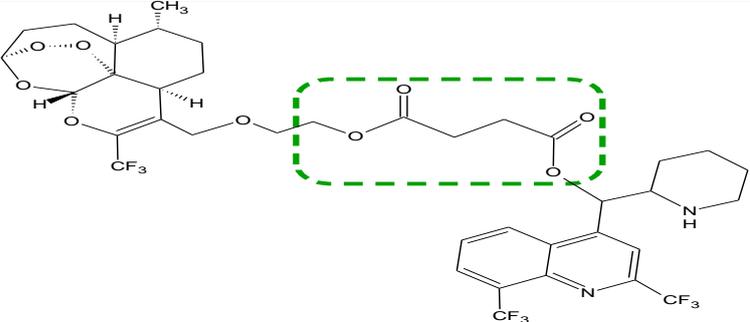
Tout cela a attiré l'attention des chercheurs vers l'exploration de nouvelles thérapies, dont le résultat a été la conception et la synthèse des antipaludéens hybrides. (12)

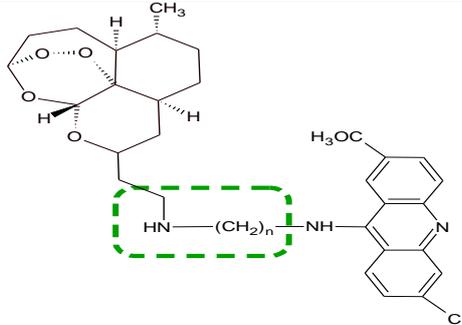
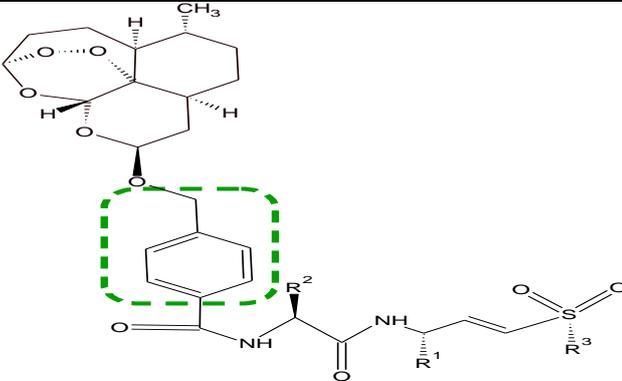
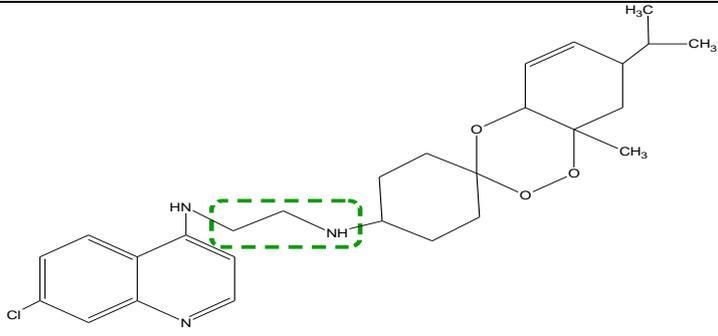
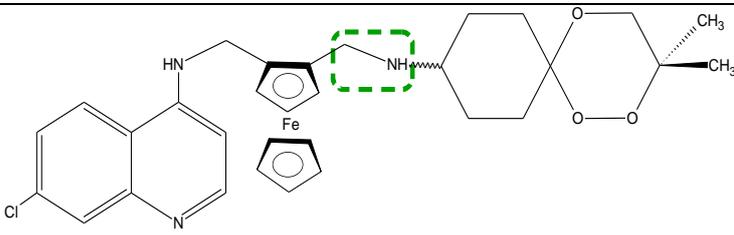
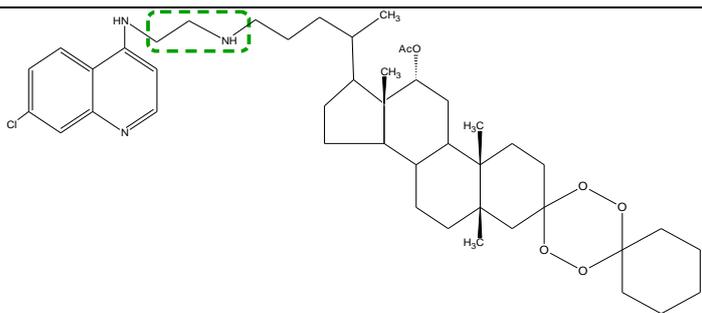
I. Principe

Les MH antipaludiques sont des drogues possédant deux pharmacophores (ou plus) issus à partir des molécules mères indispensables à l'activité antipaludique (telle que la CQ). Ces derniers sont liés de façon covalente par l'intermédiaire d'un segment de liaison (le lieu).

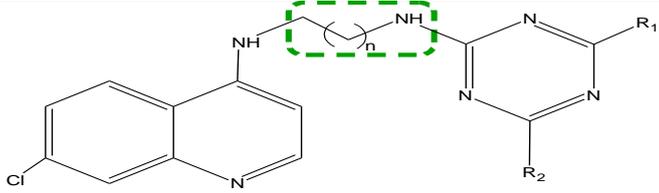
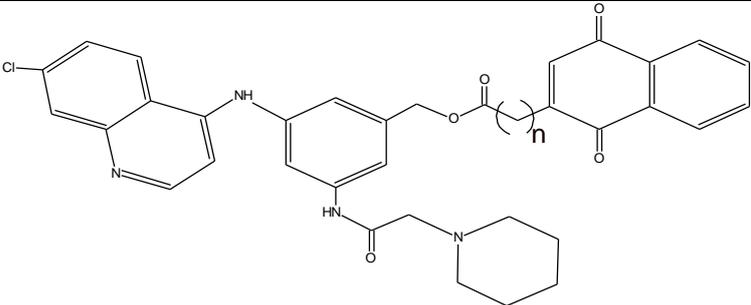
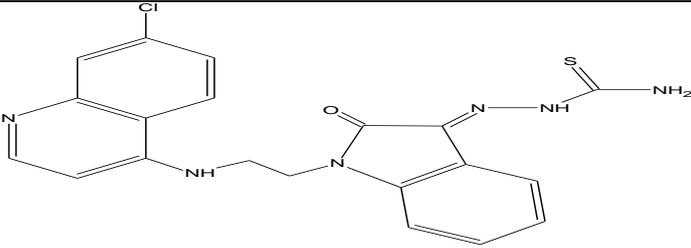
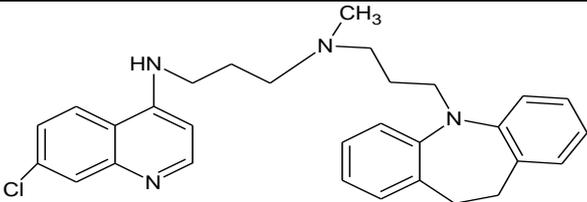
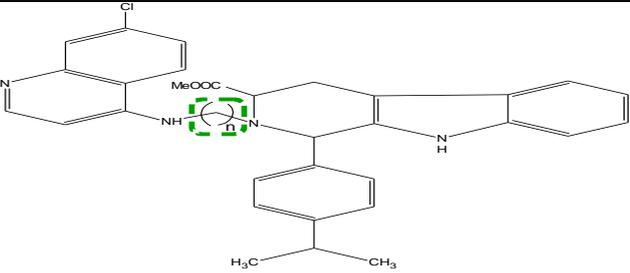
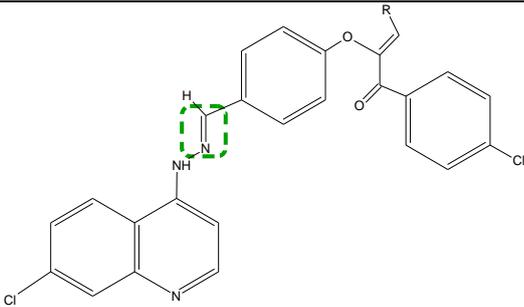
Cette stratégie est intéressante, en particulier lorsque les pharmacophores possèdent un mécanisme d'action antipaludique indépendant. (9)

II. Liste des MH antipaludiques

<u>Hybride</u>	<u>Lieur</u>	<u>Structure du prototype</u>
ART-Q	Ester	
ART-Méfloquine	Diester	

<p>ART-acridine</p>	<p>Alkyl-amine</p>	
<p>ART-dipeptidyl-vinylsulfone</p>	<p>Benzyl</p>	
<p>Trioxaquine</p>	<p>Ethyl-amine</p>	
<p>Aminoquinoléine-ferrocène-trioxane</p>	<p>Méthyl-amine</p>	
<p>Aminoquinoléine-tétraoxane</p>	<p>Ethyl-amine</p>	

CHAPITRE III Les médicaments antipaludiques hybrides

<p>Aminoquinoléine -triazine</p>	<p>Alkyl – amine</p>	
<p>Aminoquinoléine -naphtoquinone</p>	<p>/ (conjugué fusionné)</p>	
<p>Aminoquinoléine - isatine-thio- semicarbasone</p>	<p>/ (conjugué fusionné)</p>	
<p>Aminoquinoléine -imipramine</p>	<p>/ (conjugué fusionné)</p>	
<p>Aminoquinoléine -β-carboline</p>	<p>Chaîne alkyl</p>	
<p>Aminoquinoléine -chalcone</p>	<p>Imine</p>	

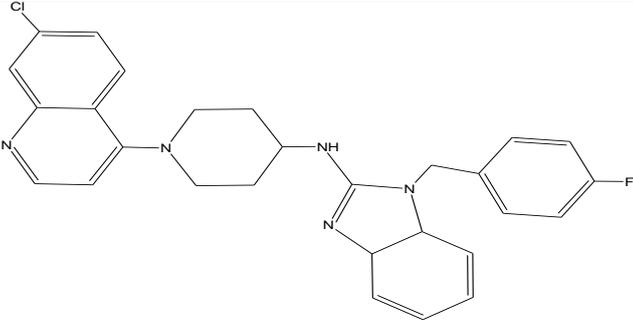
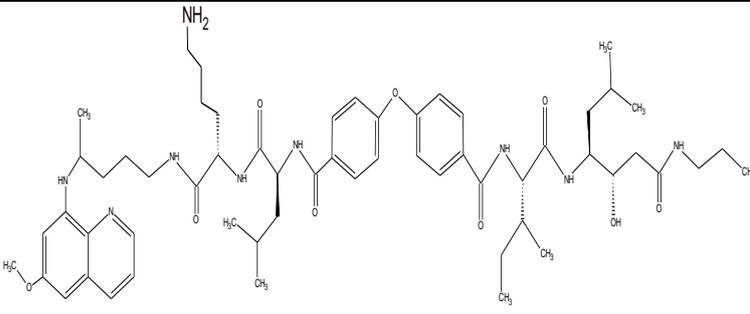
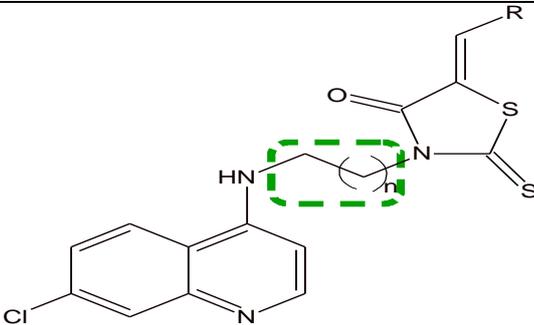
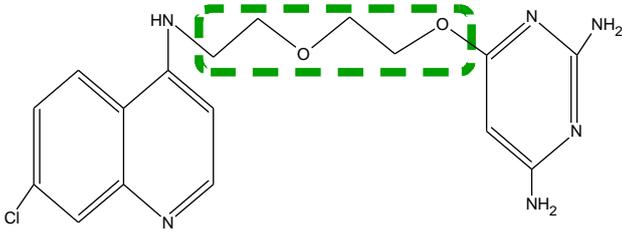
<p>Aminoquinoléine -astémizole</p>	<p>/ (conjugué fusionné)</p>	
<p>Aminoquinoléine -statine</p>	<p>/ (conjugué fusionné)</p>	
<p>Aminoquinoléine -rhodanine</p>	<p>Chaîne alkyle</p>	
<p>Aminpquinoléine -pyrimidine</p>	<p>Di-éthoxy</p>	

Tableau 09: Liste des principaux MH antipaludiques. (8,44,45,46)

Les MH antipaludiques (Tableau 09) peuvent être regroupés en 4 classes selon la nature chimique des pharmacophores : (46)

- **La première classe :** regroupe des quinoléines liées à un autre médicament antipaludéen très connu à savoir l'artémisinine ou l'un de ses dérivés (DHA,.....). (46)



Exemple : Hybride Artémisinine -Méfloquine (Tableau 09)

- **La deuxième classe** : comprend le couplage covalent de la quinoléine avec un endoperoxyde synthétique. (46)



Exemple : Hybride aminoquinoléin-férocène-trioxane. (Tableau 09)

- **La troisième classe** : les quinoléines peuvent être liées à des agents d'inversion de résistance (les chimio sensibilisants). (46)



Exemple : Hybride 4-aminoquinoléine-astémizole. (Tableau 09)

- **La quatrième classe** : constituée de quinoléines reliées à de nouveaux motifs biologiquement actifs (antiparasitaires, antibiotiques, ...) (46)



Exemple : Hybride 4-aminoquinoléine-rhodanine. (Tableau 09)

Les aminoquinoléines (Tableau 09) les plus utilisés sont les 4-aminoquinoléine (CQ,...), et les 8-aminoquinoléines (Primaquine,...). En particulier le pharmacophore de la CQ qui est utilisé avec succès du fait de son excellente efficacité clinique, la facilité d'administration, la faible toxicité et sa synthèse qui n'est pas chère. (19,47)

III. Propriétés des MH antipaludiques

III.1 La solubilité

Dans un médicament hybride, si l'un des deux composants est plus soluble que l'autre, sa capacité d'absorption peut être utilisée pour améliorer la biodisponibilité de l'autre. De plus la nature du lieu employé peut également contribuer à la solubilité de l'hybride.

Exemple : le lieu utilisé dans l'hybride CQ-pyriméthamine à deux groupements éthoxy participent par une liaison hydrogène avec les molécules d'eau H₂O et contribuent donc à sa bonne solubilité dans les milieux acides et neutres. (12)

III.2 La stabilité

L'affirmation de la stabilité des pharmacophores au cours des premiers stades de développement est très importante afin que l'hybride puisse tolérer les conditions extrêmes présentes dans les régions endémiques du paludisme.

Exemple : Joubert et al ont utilisé les techniques de calorimétrie à balayage différentiel (DSC) et d'analyse thermogravimétrique (TGA) pour vérifier si l'ajout de la partie 9-aminoacridines permettrait d'assurer la stabilité du pharmacophore d'Artémisinine qui est instable. Les hybrides qui ont émergé dans leur étude étaient extrêmement stables, avec des pertes de poids minimums. Il ressort clairement de cette étude que l'encombrement et la rigidité de l'anneau d'acridine ont infligé une stabilité à la structure de l'hybride complète. (12)

III.3 La pharmacocinétique

Un MH a un seul profil pharmacocinétique, facile à prévoir et à contrôler donc supérieur à celui des médicaments combinés. Ses entités sont absorbées, distribuées, métabolisées et excrétées en un seul taux.

Cette stratégie vise à compenser le temps de demi-vie d'un pharmacophore ayant une action rapide ($t_{1/2}$ court), par un deuxième pharmacophore possédant une longue durée d'action. De cette façon, l'activité antipaludique de l'hybride peut être maintenue même après la chute de la concentration du pharmacophore à action rapide en dessous de la marge thérapeutique.

Exemple : Hybride Artémisinine -Méfloquine.

De plus, même le segment de liaison entre dans le contrôle de la pharmacocinétique de l'hybride.

Ces paramètres peuvent être mesurés à partir de la règle de Lipinski qui est utilisée afin de déterminer la biodisponibilité. (11,13)

III.4 Le synergisme

Quand les pharmacophores sont liées et que l'espace entre eux est approprié, l'hybride peut avoir un effet synergique et une activité antipaludique supérieure par rapport à celle de chacun des composés seuls.

Exemple : Walsh et al ont donné une preuve de concept pour l'hybridation de l'artémisinine et de la Q dans une seule molécule, qui a montré un effet antipaludéen accru par rapport à celui

de chacun des composés de base, ainsi que par rapport à celui d'un mélange 1:1 d'artémisinine et de quinine.

Un autre exemple illustrant l'effet synergique de la liaison covalente a été fourni par Benoit-Vical et ses collègues. Ils ont combiné le trioxane et la chloroquine en un seul fragment, formant une trioxaquine, qui a montré une meilleure activité antipaludique que les deux précurseurs distincts. (12)

IV. Mécanisme d'action

Les MH antipaludiques à base de quinoléines agissent principalement par inhibition de la formation de l'hémozoïne à travers le pharmacophore d'aminoquinoléine.

La différence d'action entre ces hybrides est liée au 2^{ème} pharmacophore qui soit il renforce l'activité du 1^{er} dans l'inhibition de la formation de l'hémozoïne, soit il agit par un autre mécanisme (figure 32) tel que :

- Inhibition de la digestion d'Hb.
- Inhibition de la DHFR.
- Production de radicaux toxiques qui vont attribuer à la mort du P.
- L'inversion de la résistance de la CQ.
- Ou par d'autres mécanismes. (48) (voir chapitre IV).

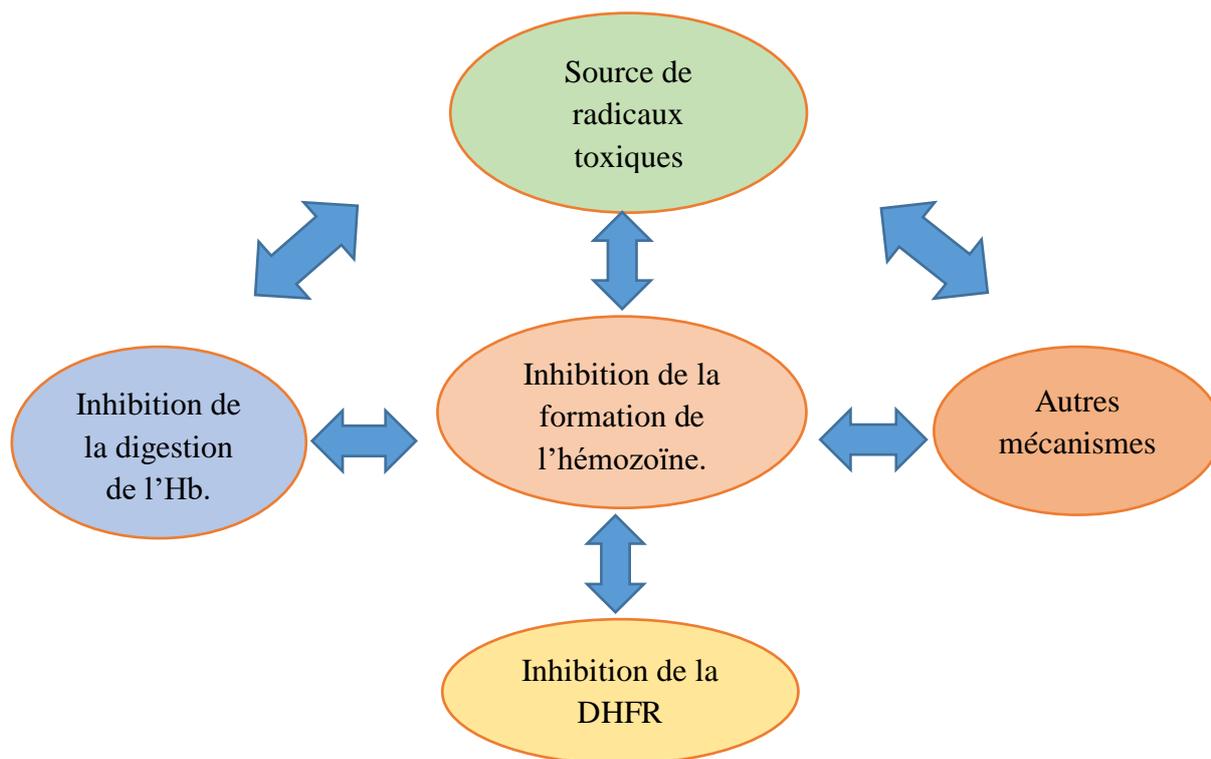


Figure 32: Représentation schématique du mécanisme d'action des MH antipaludiques à base de quinoléines. (48)

<u>Hybride</u>	<u>Cibles</u>
Artémisinine - Quinine	Polymérisation de l'hème
Artémisinine -Méfloquine	Polymérisation de l'hème
Artémisinine -acridine	Polymérisation de l'hème
Artémisinine -dipéptidyl-vinylsulfone	Polymérisation de l'hème, cystéine protéase
Trioxaquine	Polymérisation de l'hème
Aminoquinoléine-férocène-trioxane	Polymérisation de l'hème
Aminoquinoléine-tétraoxane	Polymérisation de l'hème
Aminoquinoléine-triazine	Polymérisation de l'hème, DHFR
Aminoquinoléine-naphtoquinone	Polymérisation de l'hème, glutathion réductase
Aminoquinoléine-isatine-thiosemicarbasone	Polymérisation de l'hème, cystéine protéase
Aminoquinoléine-imipramine	Polymérisation de l'hème, PfCRT
Aminoquinoléine-β-carboline	Polymérisation de l'hème, synthèse d'ADN
Aminoquinoléine-chalcone	Polymérisation de l'hème, protéases, canaux membranaires
Aminoquinoléine-astémizole	Polymérisation de l'hème, PfCRT
Primaquine-statine	Plasmepsine II
Aminoquinoléine-rhodanine	Polymérisation de l'hème
Aminoquinoléine-pyrimidine	Polymérisation de l'hème, PfDHFR

Tableau 10: Cibles biologiques des principaux MH antipaludiques. (8,45)

V. Etude de l'activité antipaludiques

Jusqu'à présent aucun de ces antipaludiques hybrides n'ont atteint l'application clinique. (13) Mais leur l'efficacité a été évaluée par des tests in vitro et in vivo sur des souches chloroquino-sensible (CQS) et chloroquino-resistante(CQR).

V.1 Etude in vitro

Quelques souches (Tableau 11) de référence de Plasmodium falciparum (CQS, CQR, CQR++):

CQS	CQR	CQR ++
La souche F32 originaire de Tanzanie	La souche FcM29 originaire du Cameroun	la souche W2 originaire de l'Indo-China
La souche HB3 originaire du Honduras	La souche FcB1 originaire de Colombie	la souche FcM29 originaire du Cameroun
la souche D6 originaire du SierraLeone	la souche PaloAlo originaire de l'Ouganda	
la souche 3D7	la souche FcR3	
	La souche K1	
	La souche Dd2	

Tableau 11: Quelques souches de P.falciparum. (8, 36,49, 50)

Plusieurs méthodes ont été utilisées dans le but d'évaluer l'activité antipaludique des hybrides citons :

V.1.1 Méthode radioactive

La méthode de référence est le test isotopique qui utilise l'hypoxanthine radio marquée (Desjardins, 1979). L'hypoxanthine étant un précurseur de la synthèse des acides nucléiques, l'intensité de la radioactivité émise par l'échantillon sera proportionnelle à la croissance parasitaire ayant eu lieu en présence de la drogue. En général, le comptage de ce test s'effectue après 48 heures de culture.

Une culture asynchrone du P. falciparum (CQS ou CQR) est mise en présence de concentrations successives décroissantes de la drogue testée, en plaque de 96 puits. Le volume total de chaque puits est de 200 µl : 100 µl de drogue diluée dans un milieu de culture à une concentration deux fois supérieures à la concentration finale désirée (gamme de concentration 200 µM à 0,1 µM) + 100 µl de suspension d'hématies parasitées dans du milieu de culture (1 % de parasitémie, 2 % d'hématocrite). Les plaques sont incubées à 37 °C sous jarre dont l'atmosphère a été appauvrie en O2 pendant 24 heures.

25 µl d'hypoxanthine radio marquée (20 µCi/ml) sont ensuite distribués dans chaque puits et incubés dans les mêmes conditions pendant 24 heures. Les plaques sont ensuite congelées et décongelées pour lyser les cellules. L'ADN des différents puits est alors récupéré et déposé sur filtres en fibres de verre au moyen d'un collecteur automatique. La radioactivité est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. On détermine alors la CI_{50} pour chaque drogue testée à partir d'une courbe dont la fonction est :

$$f(\text{taux de radioactivité}) = -\log(\text{concentration de la drogue}). \quad (51)$$

V.1.2 Dosage enzymatique colorimétrique

Le test repose sur l'observation que l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) de *P. falciparum* a la capacité d'utiliser rapidement la 3-acétyl pyridine NAD (APAD) en tant que coenzyme dans la réaction conduisant à la formation de pyruvate à partir de lactate (Figure 33). La LDH dans les globules rouges humains effectue cette réaction à un rythme très lent en présence d'APAD. (49)

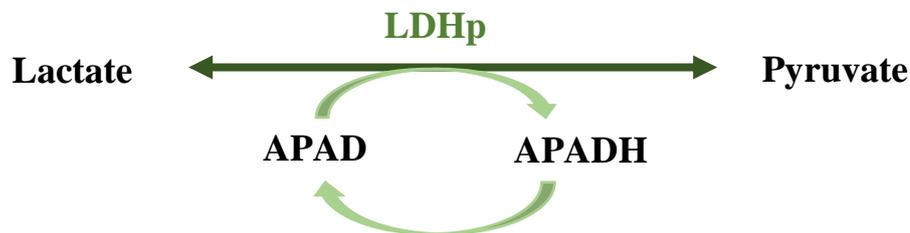


Figure 33: Réaction de formation du pyruvate à partir du lactate. (49)

Ils ont mesuré la concentration d'APADH formé (Figure 33) à l'aide d'un spectrophotomètre qui est proportionnelle à celle de LDHp pour détecter la présence de *P. falciparum* provenant de cultures in vitro à des taux de parasitémie de 0,02% après 48h et 72h. (49)

V.1.3 Evaluation de la stabilité métabolique

L'évaluation de la stabilité métabolique est effectuée en utilisant des fractions microsomales hépatiques préparées à partir des souris, des rats et des humains. L'incubation est faite à 37°C pendant 20 min en présence de CYP, NADPH et la drogue.

Après 20 mn d'incubation, la concentration restante de la drogue est mesurée par LC-MS. (50)

V.2 Etude in vivo

Quelques souches de références Plasmodium de rongeur :

CQS	CQR
P.berghei Vinckeï	P. yoelii nigeriensis
P. vinckeï petteri	P.vinckeï vinckeï

Tableau 12: Quelques souches Plasmodium de rongeurs. (8,36)

V.2.1 Test suppressif de 4 jours décrit par Peters (1970)

Le test le plus communément utilisé pour évaluer l'effet antipaludique d'une molécule in vivo est appelé « test suppressif de 4 jours » ou test de Peters. Celui-ci permet d'évaluer l'efficacité de quatre doses quotidiennes de la molécule à tester en comparant la parasitémie au quatrième jour post-infection et la mortalité entre des souris infectées traitées ou non traitées.

Sur des lots de cinq souris, ont été inoculés par voie intra péritonéale ou IV d'une suspension parasitaire avec 100 µl de sang contenant 10⁷ GRp par ml pour produire au moins 30% de parasitémie.

(J0) : Les souris sont traitées après 2h d'infection par voie per os ou intra-péritonéale avec une dose de drogue à tester. Un groupe témoin reçoit le solvant de la molécule seul qui permet d'observer les éventuels problèmes qui pourraient interférer dans le test.

(J1, J2, J3) : les souris reçoivent la même molécule par la même voie à la même heure.

(J4) : les frottis sanguins minces sont réalisés sur l'ensemble des souris puis colorés.

La parasitémie est évaluée sur chaque frottis par microscopie, par rapport au lot témoin et le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\frac{\text{parasitémie du groupe témoin} - \text{parasitémie de groupe traité} \times 100}{\text{parasitémie du groupe témoin}} = \% \text{ d'inhibition}$$

La survie des souris est également évaluée jusqu'au 30ème jours par rapport au lot témoin. (36,52)

L'évaluation de l'activité contre les formes érythrocytaires P. falciparum se fait sur des souris humanisées infectées par le parasite humain P. falciparum. (50)

Le tableau suivant présente l'activité antipaludique des principaux MH qui a été mesurée à l'aide d'une culture de P.falciparum (chaque composé avec ses propres souches et méthodes) ; la plupart des tests sont effectués sur des souris en utilisant un dosage une fois par jour (1x/jour) pendant 3-4 jours.

« Efficace » : désigne la guérison de tous ou presque tous les animaux infectés ou l'élimination complète ou presque complète des parasites ;

CHAPITRE III Les médicaments antipaludiques hybrides

« Partiellement efficace » : désigne la guérison de certains mais pas tous les animaux ou la réduction mais pas l'élimination des parasites.

« Nd » : Non déterminée

<u>Hybride</u>	<u>Activité sur la culture (CI50)</u>	<u>Activité sur des modèles animaux</u>
Artémisinine -Q	De 9.0 à 10 nM	Nd
Artémisinine -Méfloquine	De 2.4 à 17 nM	Efficace à 35 µmol/kg/jour
Artémisinine -Acridine	De 2.6 à 430 nM	Nd
Artémisinine -dipéptidyl-vinylsulfone	De 2.08 à 4.81 nM	Nd
Trioxaquine	De 2.0 à 540 nM	0.7– 25 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-férocène-trioxane	De 6 à 7 nM	Effet curatif à une dose ≥25mg /Kg
Aminoquinoléine-tétraoxane	De 2 à 33 nM	Meilleure efficacité à 320 mg/kg/day, En partie efficace à 80 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-triazine	De 4.4 à 260 ng/ml	Partiellement efficace 50 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-naphtoquinone	De 5.0 à 520 nM	Partiellement efficace à 40 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-thiosemicarbasone	De 0.1 à 96 nM	Nd
Aminoquinoléine-imipramine	De 2.9 à 5.5 nM	Efficace à 64 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-clotrimazol	De 3.0 à 1.4 nM	Certains composés sont efficaces à 50 mg/kg/jour
Aminoquinoléine-chalcone	De 3.6 à 380 ng/ml	Nd
Aminoquinoléine-astémizole	De 23 à 610 nM	Efficace à 20–50 mg/kg/jour
Primaquine-statine	De 0.2 à 9nM	Nd

Aminoquinoléine-rhodanine	De 13.2 à 45.5 nM	Nd
Aminoquinoléine-pyrimidine	De 22 à 4310 nM	Nd

Tableau 13: Activité antipaludique des principaux MH. (8, 12, 45)

VI. Toxicité

Il a été démontré que certains de ces médicaments hybrides sont de puissants agents antipaludéens qui sont soit pas toxiques ; soit présentent une toxicité moindre car si la molécule mère est toxique, son pharmacophore n'est pas forcément toxique. (12,13)

CHAPITRE IV :

Etude de certains MH antipaludiques à base de quinoléines

I. Hybride Dihydroartémisinine-Quinine

C'est un hybride conjugué clivable complètement naturel décrit par Walsh et al contenant deux pharmacophores (la DHA et la Quinine) couplés de façon covalente. (39)

C'est deux derniers sont synergiques, et agissent par deux mécanismes d'action indépendants sur une même cible qui est la polymérisation de l'hème. (8)

I.1 Structure

C'est un hybride obtenu par un couplage covalent entre la DHA et le dérivé carboxylique de la quinine par l'intermédiaire d'une liaison ester (Figure 34). (46)

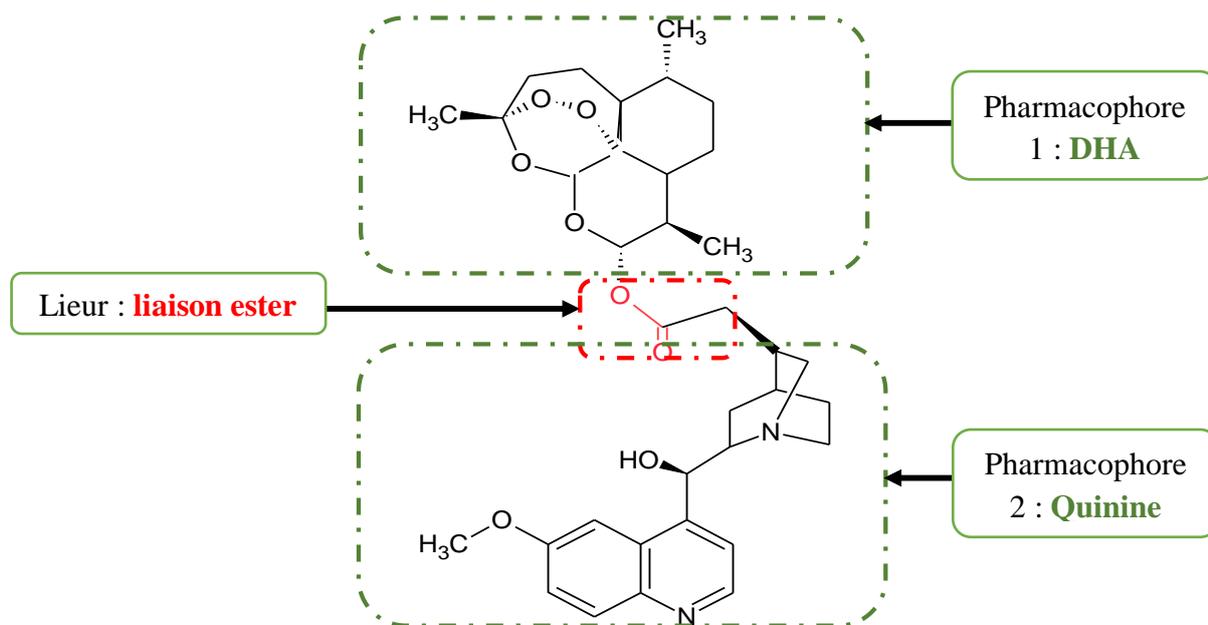


Figure 34: Structure chimique de l'hybride DHA-Quinine. (49)

I.2 Mode de synthèse chimique et hybridation

I.2.1 Préparation du dérivé carboxylique de la quinine

I.2.1.1 Extraction de la quinine

La quinine est un alcaloïde isolé à partir de l'écorce de Quinquina rouge (Cinchona pubescens), un arbuste originaire de l'Amérique du sud (Figure 35). (39)



Figure 35: Isolation de la quinine. (39)

I.2.1.2 La conversion de la fonction vinyle de la quinine en un dérivé d'acide carboxylique

➤ La 1^{ère} étape

C'est une étape de protection qui consiste à protéger la fonction **hydroxyle (OH)** de la quinine en tant que **Ter-butyldiméthylsilyl TBDMS**, en utilisant le chlorure de **terbutyldiméthylsilyl TBDMS** en présence de **diméthylaminopyridine DMAP** comme catalyseur de la réaction, le **triéthylamine Et₃N** comme base pour neutraliser l'acide (HCl) libéré au cours du processus, et le **N,N-diméthylformamide DMF** comme un solvant (Figure 36). (49)

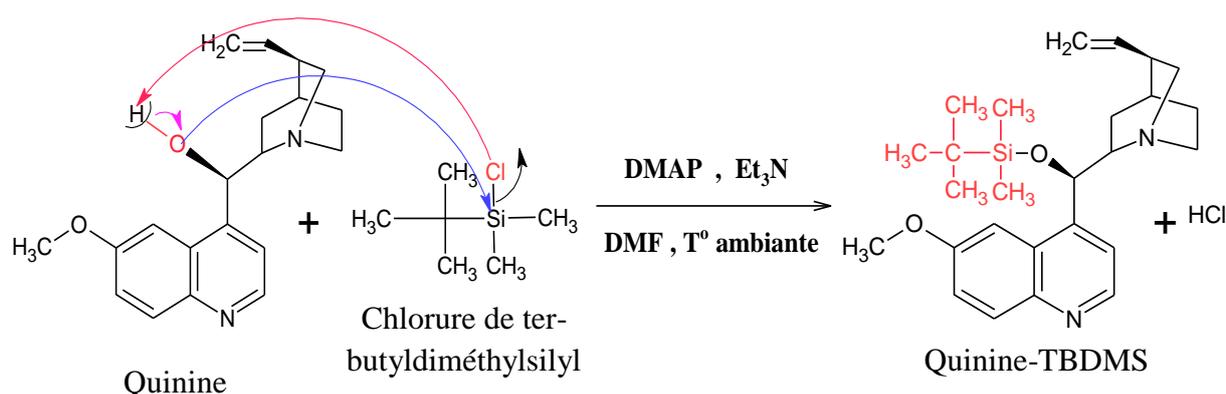


Figure 36: Réaction de protection de la fonction hydroxyle de la Q. (49)

➤ La 2^{ème} étape

C'est une étape d'**hydroboration** suivie immédiatement par une réaction d'**oxydation**.

L'hydroboration, une réaction qui implique l'action du **borane** complexé dans le **tétrahydrofurane (BH₃-THF)** sur la quinine-TBDMS, dans le **diglyme [di-(2-méthoxyéthyl)éther]** qui est utilisé comme un solvant. (49)

Cette réaction est suivie d'un clivage du complexe borane par l'**oxyde de triméthylamine di-hydraté Me₃NO/2H₂O** qui est ajouté immédiatement après l'hydroboration, agit par une attaque nucléophile sur le **B**, pour donner un **alcool primaire** (Figure 37). (49)

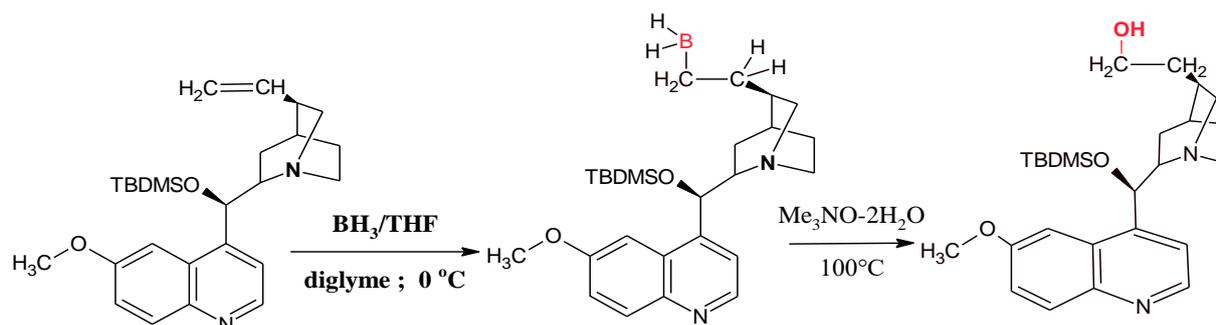


Figure 37: Réaction d'hydroboration-oxydation de la Quinine-TBDMS. (49)

➤ **3^{ème} étape**

Pour obtenir le dérivé carboxylique de la quinine-TBDMS, une **oxydation** par le **réactif de Jones** (une solution de trioxyde de chrome CrO_3 + l'acide sulfurique concentré H_2SO_4 + H_2O) en présence de l'**acétone** est effectuée.

L'oxydation de Jones est une réaction chimique caractérisée par l'oxydation de l'**alcool** primaire en acide carboxylique (Figure 38). (49)

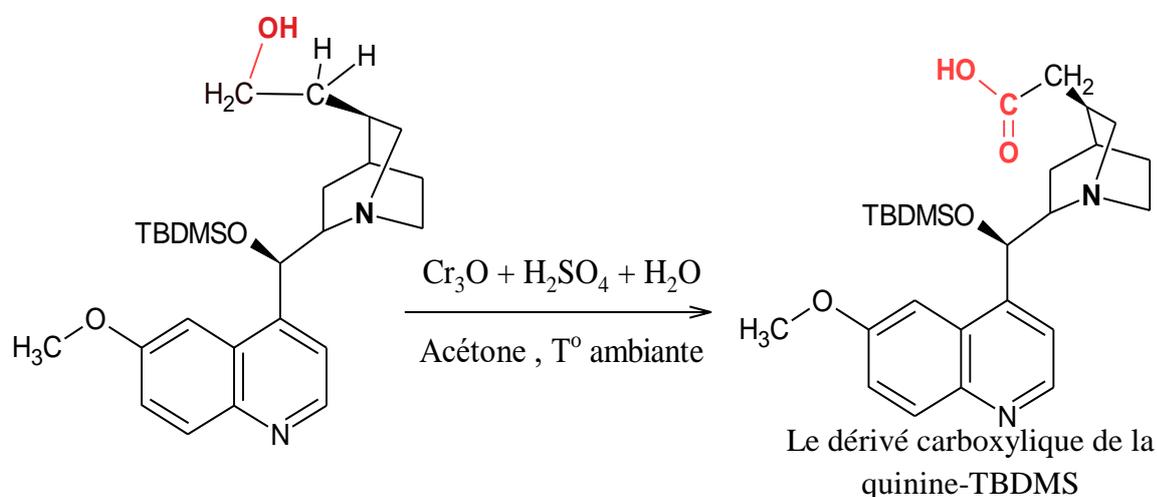


Figure 38: Réaction d'oxydation de Jones. (49)

I.2.2 Préparation de la DHA

I.2.2.1 Extraction de l'artémisinine

L'artémisinine est une lactone sesquiterpénique extraite à partir des parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) de l'armoise annelle « Artemisia annua L » (Figure 39). (39)



Figure 39: Isolation de l'artémisinine. (39)

I.2.2.2 La DHA

L'artémisinine est une molécule sensible pour la dérivation à grande échelle. Son groupe **carbonyle** ($\text{C}=\text{O}$), peut être facilement **réduit** en un groupe **hydroxyle** (OH) en conservant la

partie endoperoxyde, et cela sous l'action du **tétrahydroborate de sodium** NaBH_4 pour donner la **DHA**. (39,49)

Le NaBH_4 est une source d'ions hydrures qui sont capable d'attaquer le C du groupement carbonyle en effectuant un transfert avec leurs paires d'électrons afin de générer un ion alcoxyde qui est protoné par un solvant (**méthanol**). Ces deux processus ont lieu simultanément (Figure 40). (49)

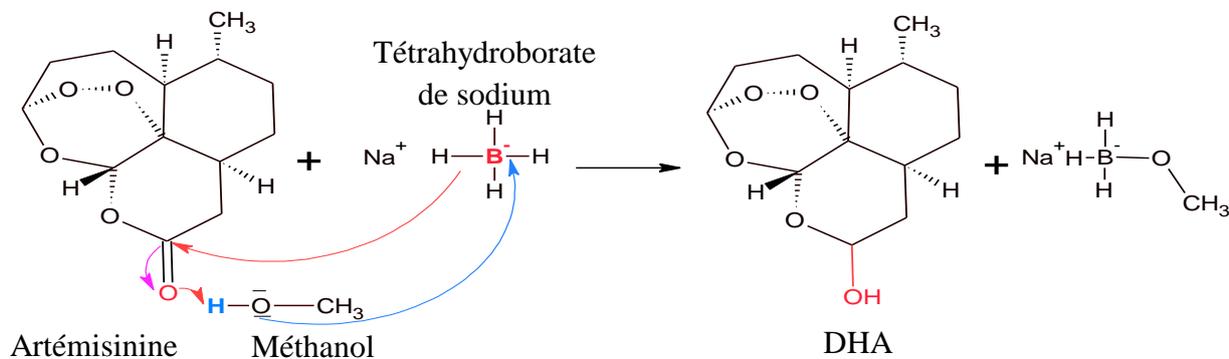


Figure 40: Réaction de réduction de l'artémisinine. (49)

I.2.3 L'hybridation

Le **couplage** entre la DHA et le dérivé carboxylique de quinine-TBDMS est effectué par l'intermédiaire du **chlorure de 2,6-dichlorobenzyle** comme un réactif de couplage, le **triéthylamine** Et_3N en tant que base et le **4-diméthylaminopyridine** **DMAP** comme catalyseur d'acylation (Figure 41). (49)

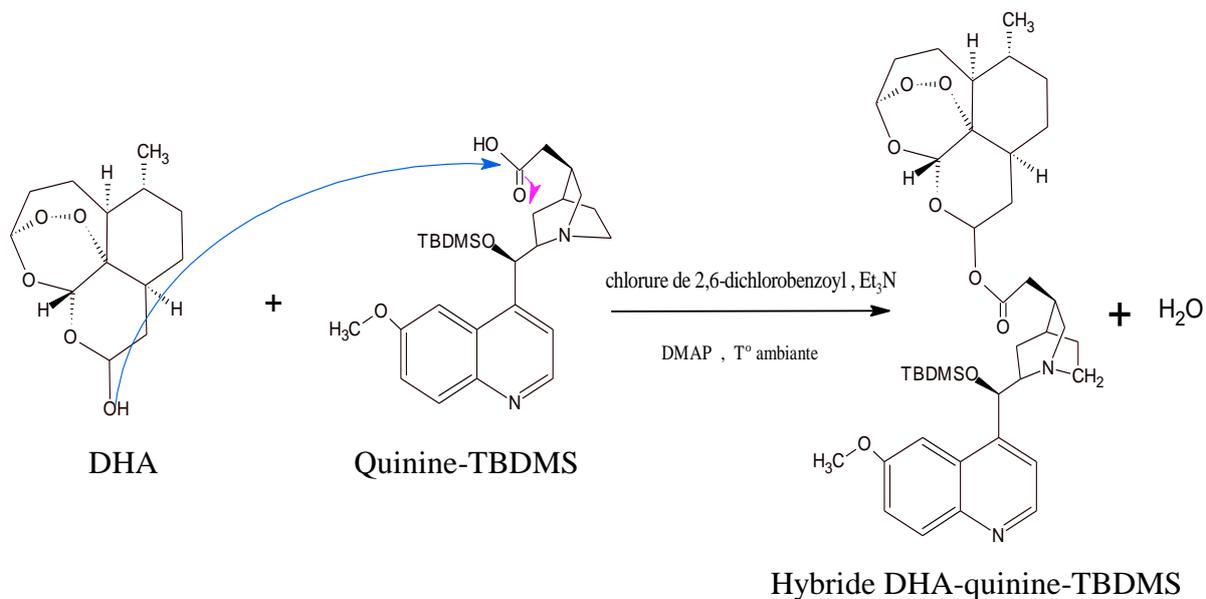


Figure 41: Couplage de la DHA avec le dérivé carboxylique de la Quinine-TBDMS. (49)

I.2.4 La déprotection du groupe hydroxyle de la quinine

Le groupement TBDMS de la quinine est clivé (**désilylation**) et éliminé après un traitement par le **fluorure de tétra-n-butylammonium TBAF** dans du **tétrahydrofurane THF** (Figure 42). (49)

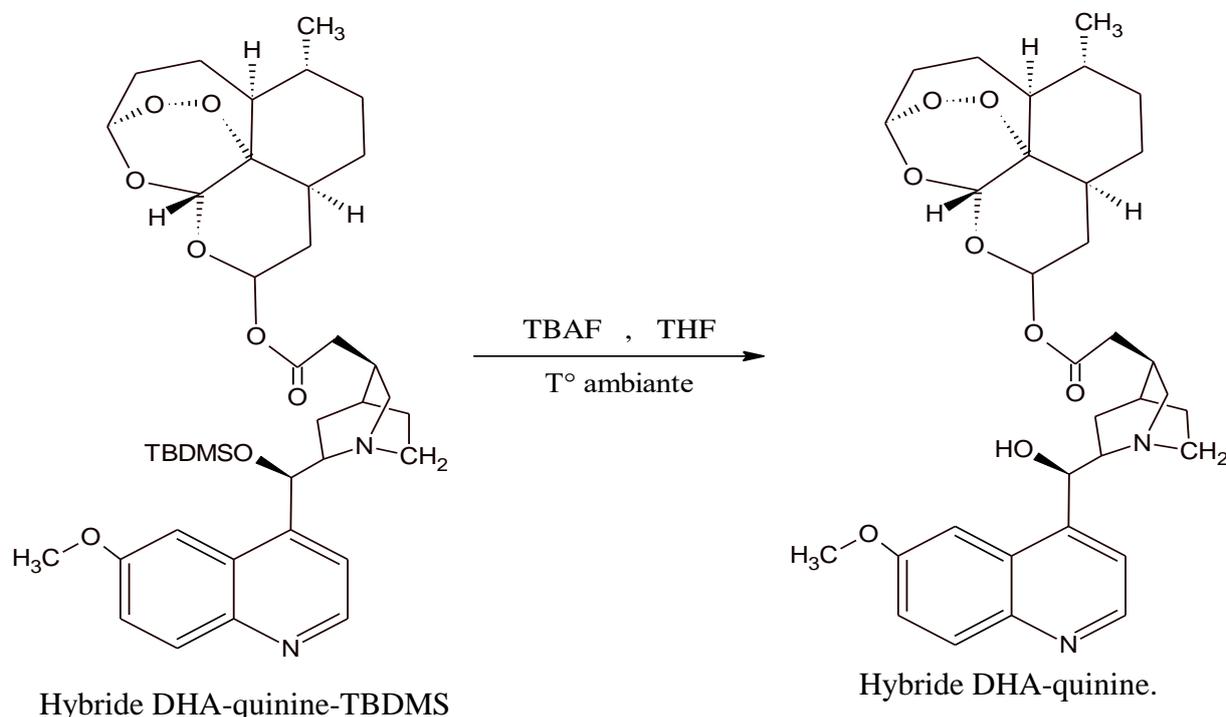


Figure 42: Réaction de déprotection de la fonction hydroxyle de la Q. (49)

I.3 Relation structure-activité

I.3.1 Le pharmacophore 1 : DHA

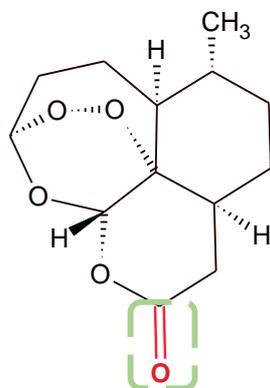


Figure 43: Structure chimique de l'artémisinine.

Le changement du groupe carbonyle (C=O) (Figure 43) de l'artémisinine exerce une influence sur la solubilité, ainsi que certaines propriétés pharmacocinétiques de chacun de ses dérivés. (39)

La DHA est l'un de ses principaux dérivés, contenant une fonction hémiacétale (Figure 44) capable d'être estérifiée facilement. C'est pour cela qu'elle a été choisie pour la conception de cet hybride. (49)

L'activité antipaludéenne de la DHA dépend de la fraction endoperoxyde (1,2,4-tiroxane) (Figure 44), qui est une caractéristique indispensable pour ce pharmacophore. (19)

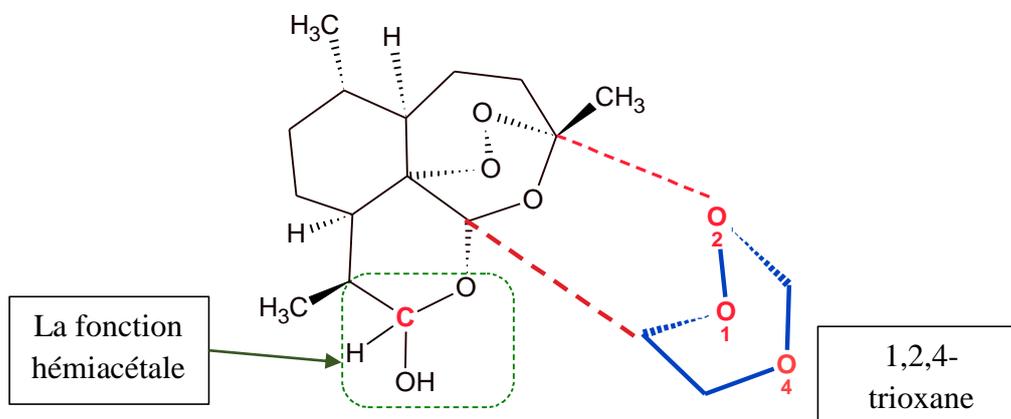


Figure 44: DHA et son pharmacophore. (19)

La liaison entre la DHA et le Fe(II) de l'hème est effectuée, soit entre l'oxygène 1 (Figure 44) (O1-Fe), soit entre l'oxygène 2 (Figure 44) (O2-Fe). L'encombrement stérique autour de l'oxygène 1 ainsi que l'électronégativité plus remarquable sur l'oxygène 2 induisent que la liaison O2-Fe est préférable. Cette observation est en accord avec les résultats d'accueil rapporté par Shukla et al. (41)

I.3.2 Le pharmacophore 2 : Quinine

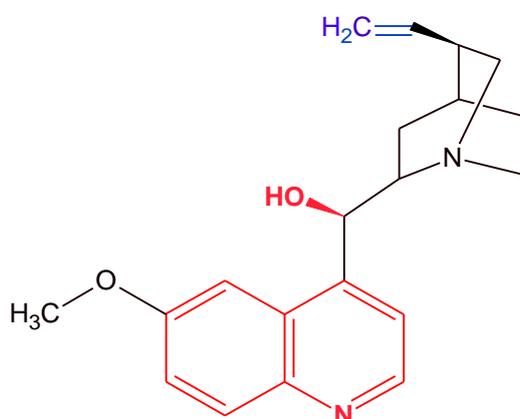


Figure 45: Structure chimique de la Quinine. (39)

Le groupement hydroxyle et le noyau quinoléine de la quinine (Figure 45) sont essentiels pour l'activité antipaludique, tout changement effectué sur ces derniers aura des effets défavorables voir même la perte d'activité. (49)

Tandis que le noyau quinuclidine (Figure 45) peut être remplacé ou modifié sans avoir aucun effet défavorable sur l'activité. C'est pour cela que les chercheurs ont utilisé la fonction vinyle pour relier les deux pharmacophores (DHA-quinine). (49)

I.3.3 Le lieur

La longueur du lieur doit être réduite à 2 ou 3 atomes de carbone, car si la chaîne contient plus que 3 atomes, l'hybride devient moins puissant que la CQ. Et même sa nature joue un rôle, c'est-à-dire lorsque le lieur est acyclique l'hybride sera plus actif qu'un hybride avec un lieur sous forme cyclique. (12)

I.4 Mécanisme d'action

Après l'administration, l'hybride gagne la vacuole digestive du plasmodium où il exerce son effet. Cette pénétration est facilitée par le pharmacophore de la quinine.

Au niveau de la vacuole digestive, l'hybride est hydrolysé (Figure 46) pour libérer les deux pharmacophores (la DHA et la Quinine) qui vont agir par des mécanismes d'action indépendants sur une même cible (la polymérisation de l'hème). (49)

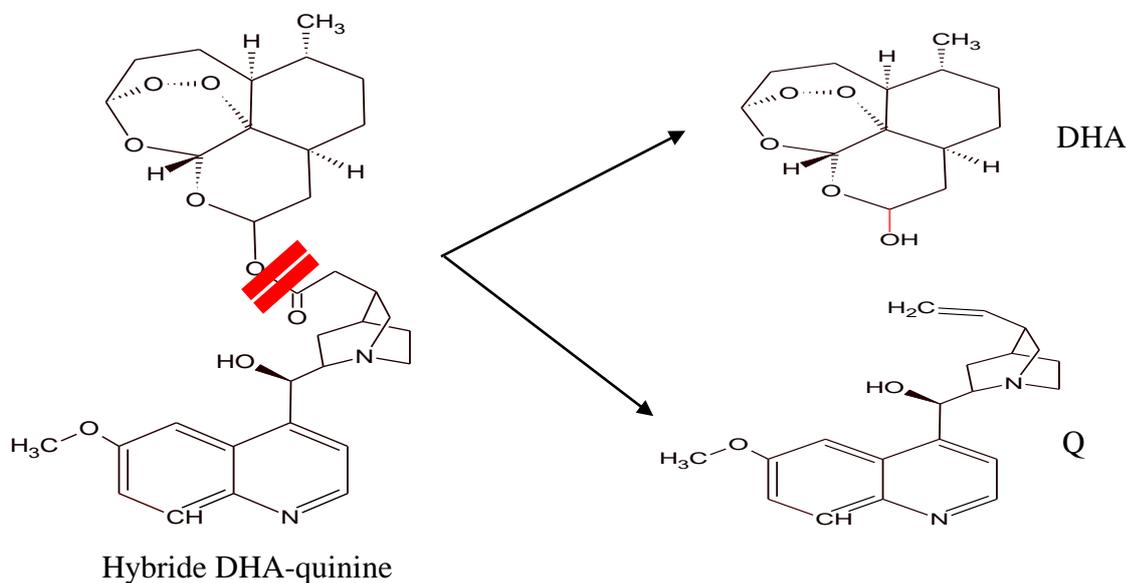


Figure 46: Hydrolyse de l'hybride DHA-Quinine. (49)

I.4.1 La quinine

La quinine, est une base faible qui aide à la pénétration de l'hybride dans la vacuole digestive du plasmodium. (19)

Cette dernière va former un complexe avec la ferriprotoporphyrine IX (Fe(III)PPIX) libérée lors du processus de dégradation de l'Hb. Ce complexe va inhiber le processus de détoxification de l'hème en inhibant l'hème polymérase (Figure 47), permettant ainsi

CHAPITRE IV Etude de certains MH antipaludiques à base de quinolines

l'accumulation de l'hémine (produit cytotoxique) dans la vacuole digestive qui est normalement transformé en pigment malarique (hémozoïne).

Le complexe est produit par l'empilement hydrophobe π - π entre le Fe (III) de l'hème et la structure plane de la quinine. (19)

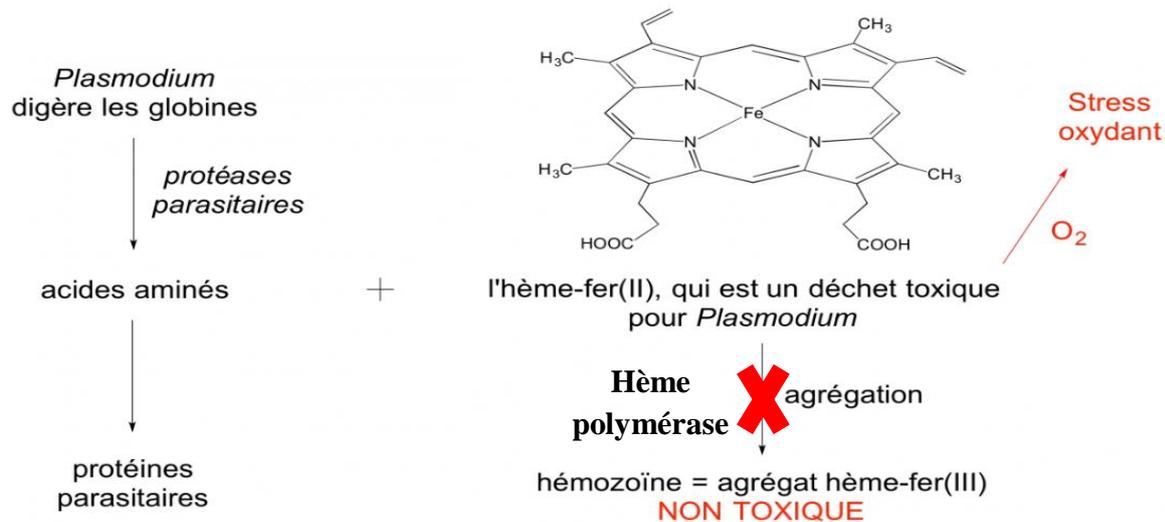


Figure 47: Mécanisme d'action de la Q. (53)

I.4.2 La DHA

Alkylation de l'hème après activation du pont peroxyde par l'interaction avec le fer (Fe(II)) de l'hème (Figure 16) (voir le CHAPITRE II). (41,42)

I.5 Etude d'activité

➤ In vitro

L'étude de l'activité in vitro de l'hybride DHA-Quinine a été effectuée sur les deux souches :

- La souche de *Plasmodium falciparum* 3D7.
- La souche résistante à la CQ FCB1. (49)

Cette dernière a été mesurée par la détermination des CI₅₀ de l'hybride, obtenu par la méthode enzymatique qui effectue le dosage du lactate déshydrogénase parasitaire LDH_p (voir chapitre III). (49)

Les résultats obtenus ont été comparés avec l'activité de l'artémisinine seule, quinine seule, ainsi que celle d'un mélange 1 :1 de quinine et artémisinine (1mole d'ART / 1mole de quinine). (Tableau 14). (49)

Composé	3D7 (48h)	3D7 (72h)	FCB1(48h)	FCB1(72h)
CI₅₀ (nM)				
Quinine	149	73,5	96,8	75,3
Artémisinine	49.4	45,5	50	55
Hybride : DHA-Quinine	8.95	10.4	9,59	10,2
Mélange 1 :1	31.8	28,6	27,9	26,3

Tableau 14: Détermination des CI₅₀ de l'hybride DHA-Quinine. (49)

Ces résultats ont révélé que la croissance de la souche 3D7 de *P.falciparum* a été inhibée par l'hybride DHA-quinine dans des concentrations beaucoup plus faibles en comparant à ceux de la quinine ou l'artémisinine seules. Cela suggère que les actions des deux pharmacophores ont été conservées. En outre, lorsque l'activité de l'hybride a été comparée à celle d'un mélange 1 :1 de quinine et d'artémisinine, l'hybride était environ 3 fois plus puissant. (48,49)

Des résultats similaires ont été obtenus avec la deuxième souche FCB1 (Tableau 14). (48,49)

II. Hybride 4-aminoquinoléine-trioxane (TRIOXAQUINE)

II.1 Recherches et développements

La compréhension du mécanisme d'action des dérivés de l'artémisinine a conduit à la mise en place d'un programme de recherche sur la synthèse et l'évaluation de nouvelles molécules hybrides à activité duale : les **TRIOXAQUINES**.

Entre 2000 et 2003, Meunier et ses collègues ont synthétisés plusieurs séries de TRIOXAQUINES (Figures 48/49/50) afin d'étudier la RSA par la méthode de Desjardin sur différentes souches de *P.falciparum* (CQS Négiriane, CQR FcB1 et CQR++ FcM29). (Tableau 15). (45)

Parmi les molécules synthétisées :

- Le DU1102 et DU1108 qui se différencient par la longueur du lien entre le 4-aminoquinoléine et le trioxane (n=2, n=4 respectivement) (Figure 48). (45)

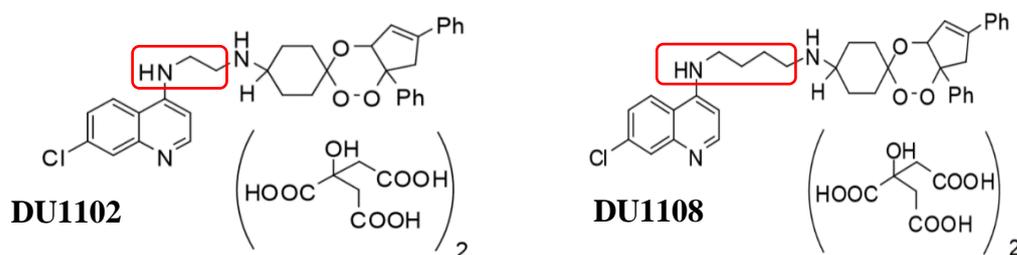


Figure 48: Structure chimique des citrates de TRIOXAQUINES (DU1102, DU1108). (45)

- DU1402 et DU1302 obtenus à partir des diènes différents (1,2-cyclohexadiène et α -terpinène) (Figure 49). (45,54)

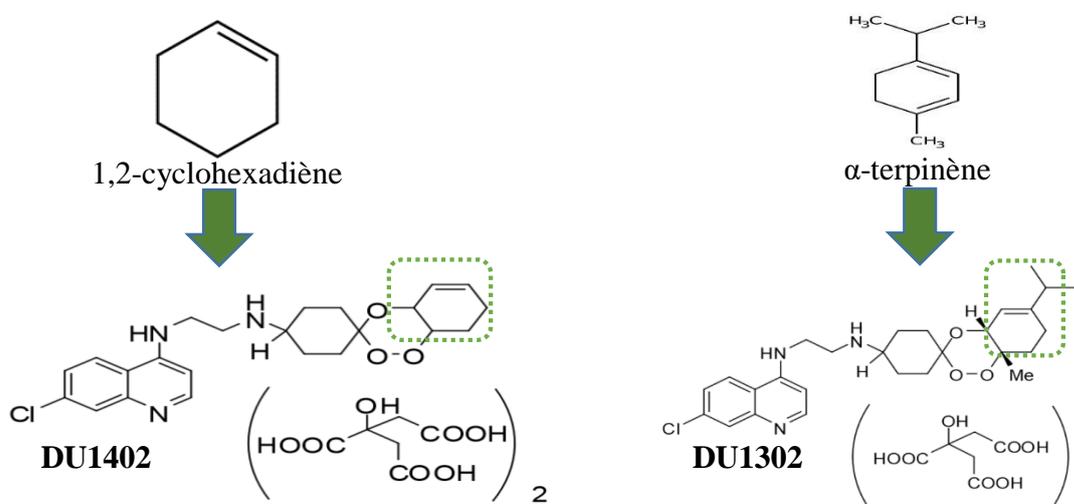


Figure 49: Structure chimique des citrates de TRIOXAQUINES (DU1402, DU1302). (45)

- Le DU2302 qui possède un pharmacophore de 8-aminoquinoléine (Figure 50).

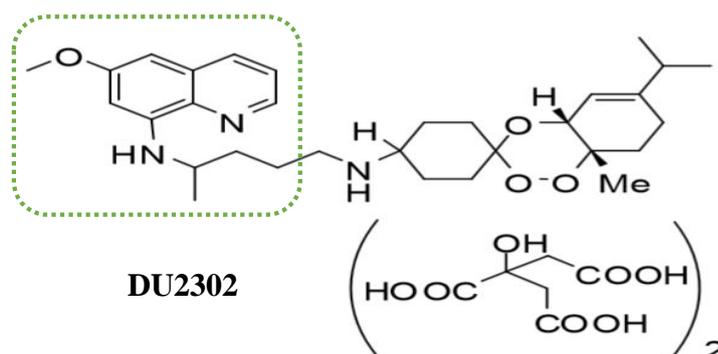


Figure 50: Structure chimique DU2302. (45)

Le tableau suivant évalue l'activité des différents TRIOXAQUINES obtenus :

Molécules	CI ₅₀ (nM)		
	CQS	CQR	CQR+
DU1102	22	27	27
DU1108	87	41	41
DU1402	36	71	49
DU1302	17	15	6
DU2302	176	112	108
Chloroquine	62	116	174
Primaquine	875	1075	1400

Tableau 15: Les CI₅₀ des différents citrates de TRIOXAQUINES. (45)

Le TRIOXAQUINES DU1102 et DU1302 ont été révélés plus actifs que les autres (CI₅₀ basses) (Tableau 15), ce qui indique qu'un lieu avec une courte chaîne (n=2) est préférable. En outre, le DU2302 a montré une faible activité (CI₅₀ élevés) (Tableau 15) ce qui confirme que le pharmacophore de 4-aminoquinoléine est plus essentiel pour l'activité antipaludique des TRIOXAQUINES. Le changement de diène utilisé dans la synthèse de DU1302 et DU1402 (Figure 49) n'a pas vraiment modifié l'activité.

Le TRIOXAQUINE DU1302 a été sélectionné comme un prototype intéressant utilisé dans plusieurs études pharmacologiques mais il n'a pas été développé comme un médicament candidat viable en raison de ses quatre stéréo-isomères qui sont difficiles à séparer avec un profil pharmacocinétique et une activité différentes.

Entre 2003 et 2006, Palumed ont testé plus de 100 TRIOXAQUINES et ils ont choisi le **TRIOXAQUINE PA1103-SAR116242** comme candidat pour le développement réglementaire préclinique en Janvier 2007 qui est un mélange de deux stéréo-isomères (cis et trans) séparables qui ont été comparés in vitro et in vivo et ils se sont révélés être équipotents. (45)

II.2 Structure

Le PA1103-SAR116242 est un hybride conjugué complètement synthétique contenant deux pharmacophores (4-aminoquinoléine et 1,2,3-trioxane) liés par l'intermédiaire d'un amino-cyclohexyle (Figure 51). (45)

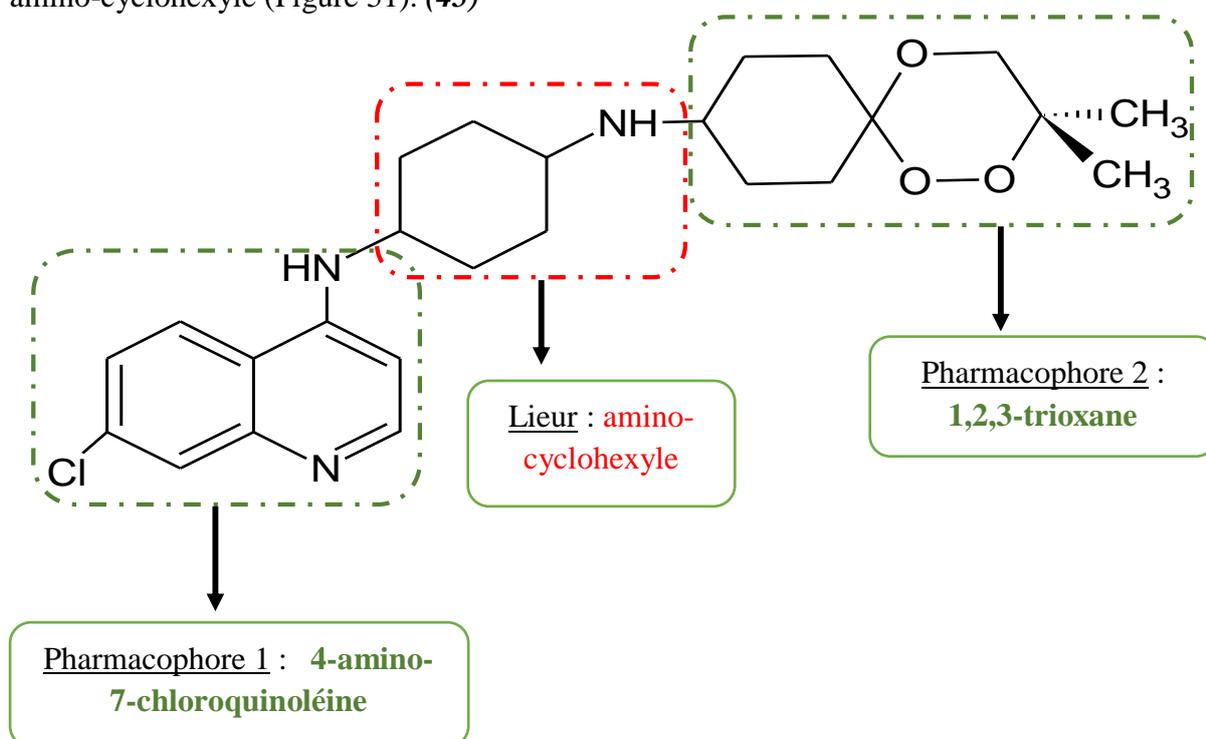


Figure 51: Structure chimique de l'hybride PA1103-SAR116242. (45)

II.3 Mode de synthèse chimique et d'hybridation

II.3.1 Préparation du trioxane

Le trioxane a été préparé par condensation de cyclohexan-1,4-dione dans un milieu acide en présence d'un solvant (chloroforme) pendant 30 mn avec un peroxyde qui peut être obtenus par deux méthodes différentes (la voie A ou B) (Figure 52):

- **La voie A :** peroxydation de Mukaiyama d'un alcool insaturé (2-méthylprop-2-èn-1-ol) avec le **triéthylsilane (Et₃SiH)** en présence d'**éthanol** à une pression 1,2 Bar pour donner le 2-triéthylsilyldioxy-2-méthylpropanol.
- **La voie B :** ouverture d'un époxyde par le **peroxyde d'hydrogène** en présence d'**acétylacétonate de dioxomolybdenum, MgSO₄** et l'**éther diéthylique Et₂O**

pour donner le 2-hydroperoxy-2-méthylpropanol. Le rendement du produit est généralement faible et l'isolement du mélange réactionnel est difficile. (50,55)

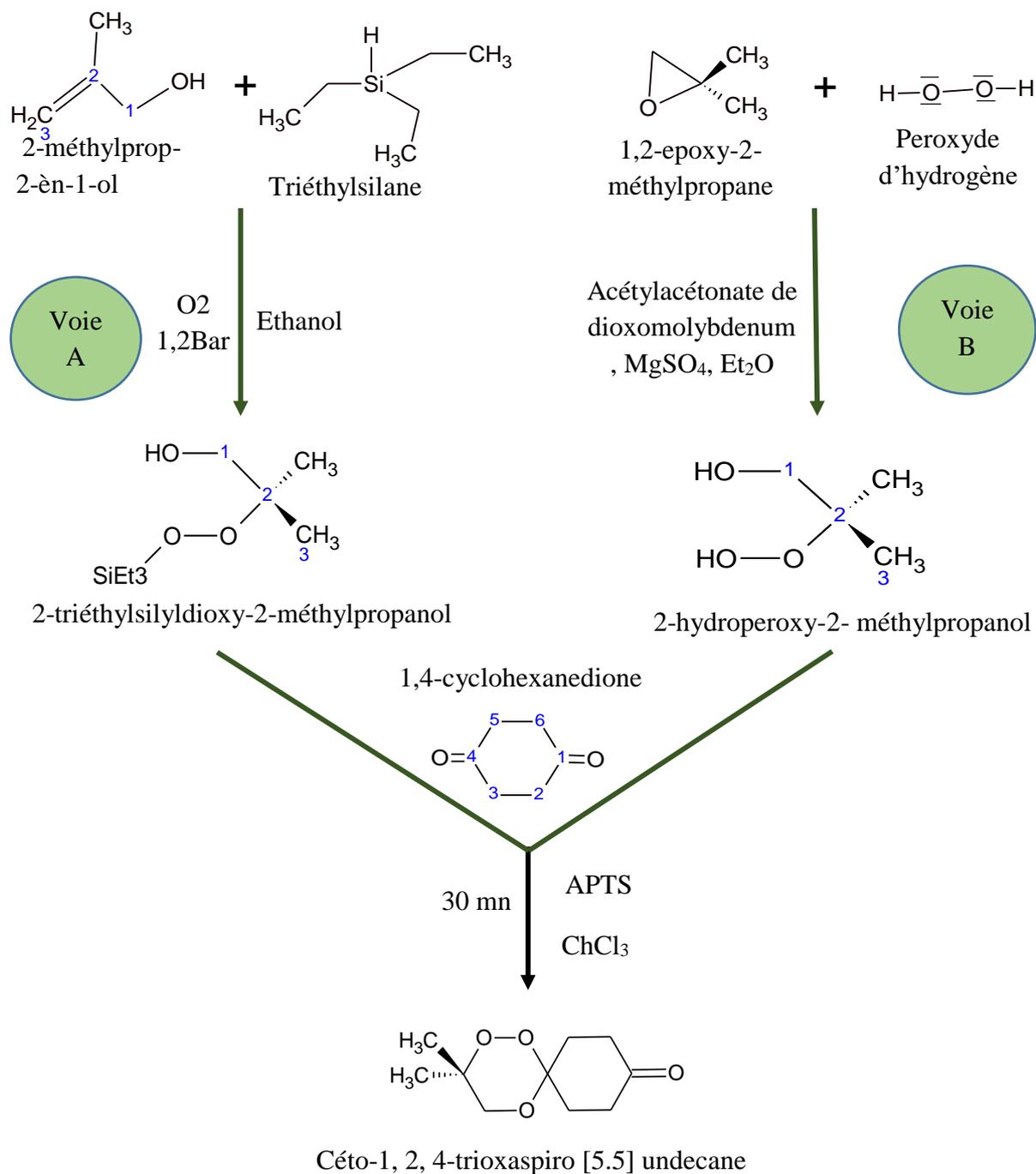


Figure 52: Réactions de la synthèse du trioxane. (50)

II.3.2 Préparation de 4-(4'-aminocyclohexyl)amino-7-chloroquinoléine

La première étape consiste en la synthèse d'une 4,7-dichloroquinoléine suivie d'une condensation avec un 1,4-diaminocyclohexane.

II.3.2.1 Préparation de 4,7-dichloroquinoléine

La 3-chloroaniline va être **substitué** par l'éthoxyméthylènemalonate de diéthyle pour former un 3-carboxyl-7-chloro-4-hydroxyquinoléine. Ce dernier va subir une **décarboxylation** par un **chauffage** à 250°C pour donner la 7-chloro-4-hydroxyquinoléine qui va être **substitué** par le trichlorure de phosphoryle **POCl₃** pour donner la 4,7-dichloroquinoléine (Figure 53). (52)

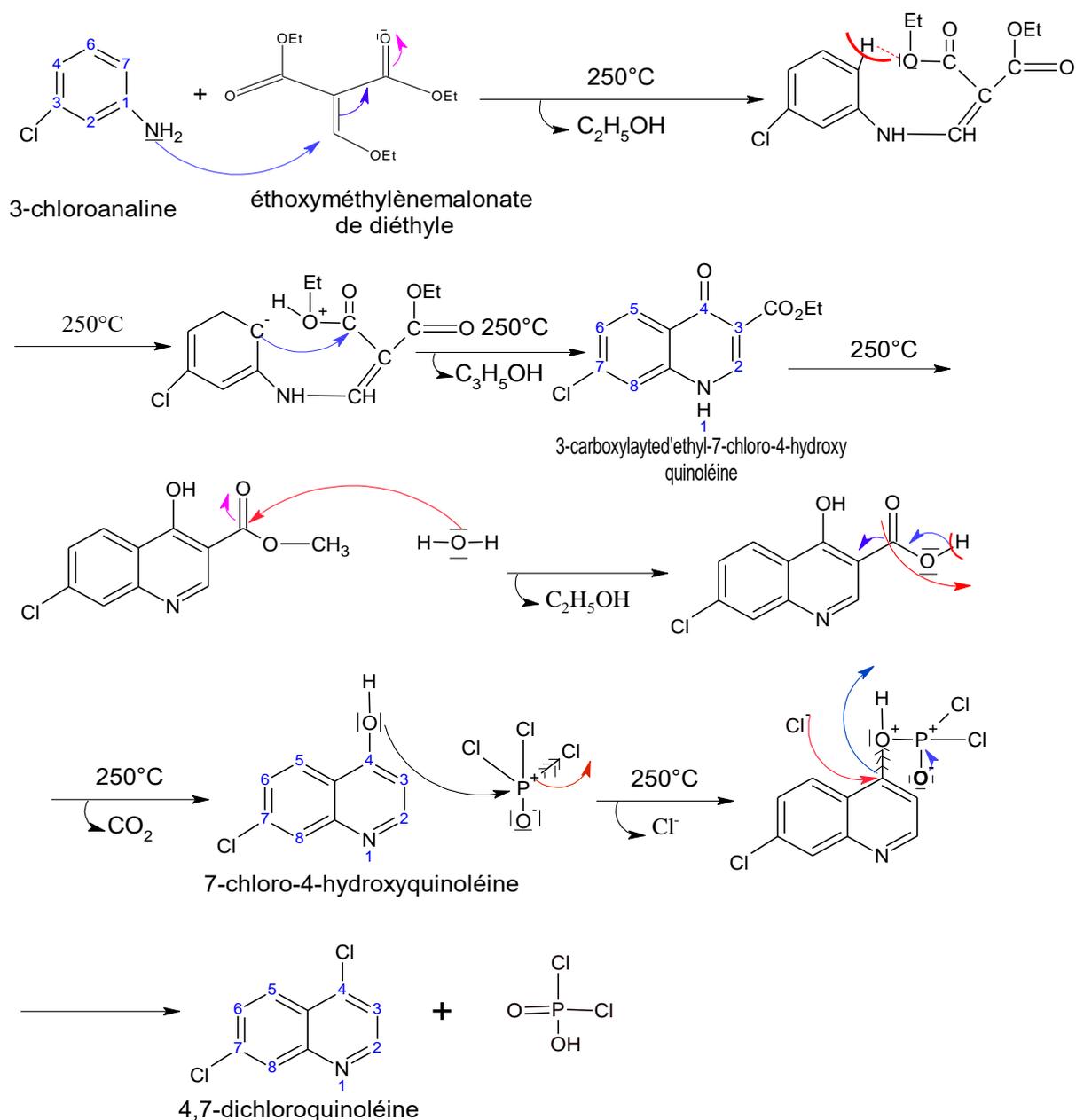


Figure 53: Réactions de synthèse du 4,7-dichloroquinoléine. (56)

II.3.2.2 Substitution du 4,7-dichloroquinoléine

Le 4,7-dichloroquinoléine est substitué par le 1,4-diaminocyclohexane dans un milieu chaud à 190° pendant 45 mn pour donner le 4-(4'-aminocyclohexyl)amino-7-chloroquinoléine (Figure 54). (50)

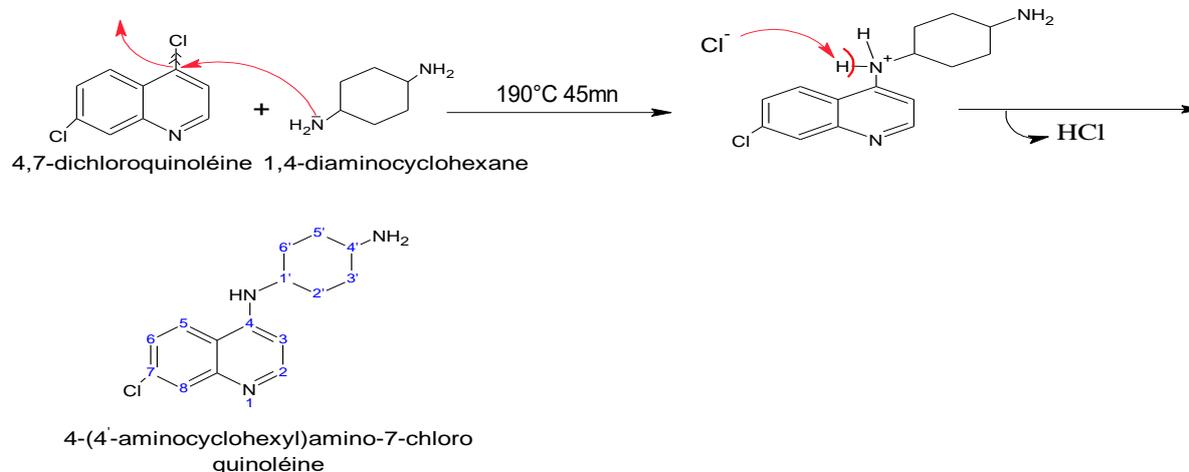


Figure 54: Réaction de substitution du 4,4-dichloroquinoléine. (50)

II.3.3 L'amination réductrice du trioxane avec l'aminocyclohexylamine préparée (hybridation)

La fonction amine de 4-(4'-aminocyclohexyl)amino-7-chloroquinoléine va réagir avec le céto-1, 2,4-trioxaspiro[5.5]undecane dans un milieu acide pour donner un imine suivi d'une réduction par l'hydruire NaBH_3CN pour donner le TRIOXAQUINE PA1103/SAR116242 (Figure 55). (50)

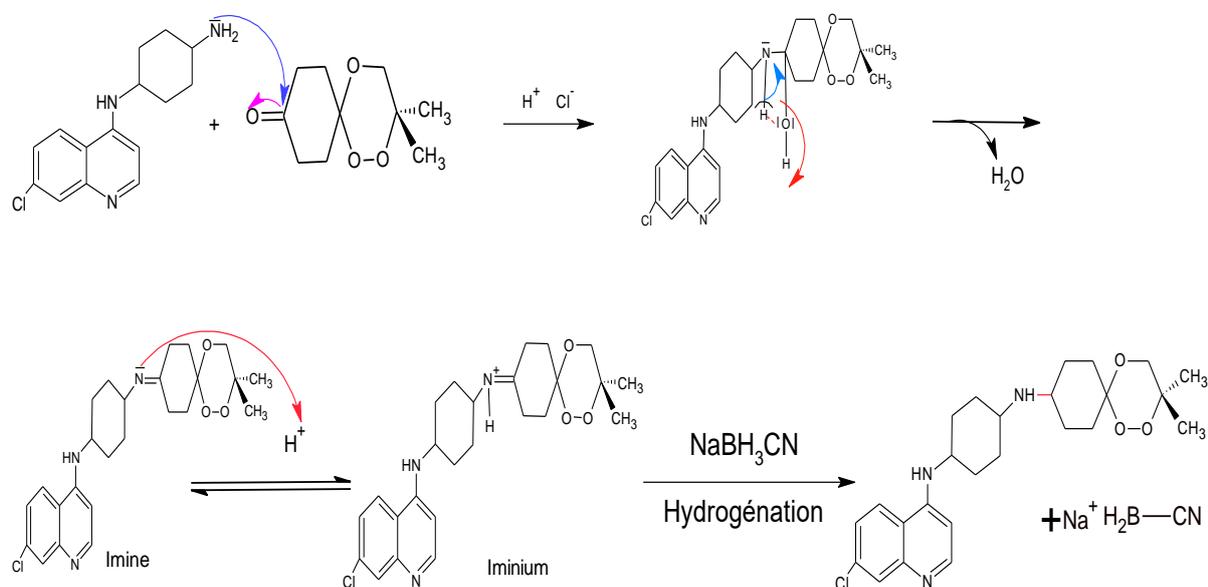


Figure 55: Réaction d'amination réductrice du trioxane. (50)

II.4 Relation structure Activité

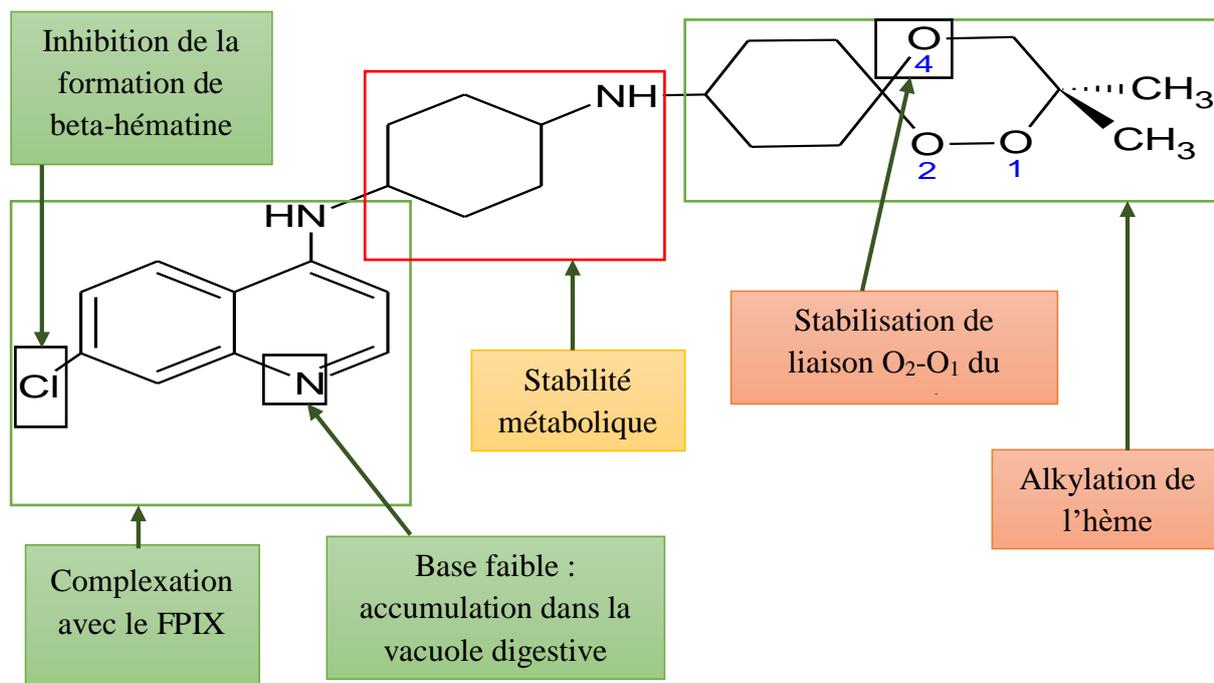


Figure 56: RSA du PA1103/SAR116242. (47,2, 50)

II.4.1 Le pharmacophore 1 : 4-amino-7-chloroquinoléine

- L'azote en position 1 (Figure 56) sur le noyau quinoléine aide l'hybride à s'accumuler dans la vacuole digestive en se faisant protoner, ainsi que sa fixation à l'hème.
- La fonction amine en position 4 (Figure 56) est essentielle pour l'activité, tout remplacement par autres substituants à savoir le soufre S ou l'oxygène O aboutit à la régression d'activité antipaludique.
- Le chlore Cl en position 7 (Figure 56) lui confère une meilleure activité, dont son remplacement par d'autres substituants (Br, OCH₃, CH₃, ou CF₃) la diminue. (47)

II.4.2 Le pharmacophore 2 : 1,2,4-Trioxane

Pour le trioxane (Figure 56), il est caractérisé par une stabilité thermique bien meilleure que celle des molécules ayant des masses moléculaires du même ordre avec un simple motif endoperoxyde. Cela souligne le rôle essentiel du troisième atome d'oxygène en position 4 du trioxane comme élément de stabilisation de liaison O-O du peroxyde. (2)

La partie trioxane du PA1103/SAR116242 a été simplifiée avec un plan de symétrie pour limiter le nombre de centre chiraux. (50)

II.4.3 Le lieur

Les deux pharmacophores sont liés par l'intermédiaire d'un cyclohexyl (Figure 56) qui leur confère une stabilité métabolique. Ce dernier permet d'obtenir un effet synergique entre les deux fragments actifs ainsi que synchroniser la biodisponibilité des résidus actifs en évitant les problèmes pharmacocinétiques que l'on rencontre dans la thérapie des médicaments combinés. (35,57)

II.5 Mécanisme d'action

Le traitement de souris infectées par *P. vinckei* traitées par voie orale avec le **PA1103** induit la détection d'adduit hème-PA1103 dans la rate et l'urine, confirmant ainsi que l'hème est sa cible in vivo. (58)

Cet hybride associe deux motifs actifs : un trioxane choisi de façon à être un alkylant potentiel de l'hème, et une 4-aminoquinoléine susceptible d'être accumulée dans le parasite. (57)

II.5.1 4-amino-7-chloroquinoléine

Le pharmacophore 4-amino-7-quinoléine est la partie responsable de la pénétration de l'hybride dans les hématies infectés grâce à ses propriétés de base faible et à son noyau lipophile (comme la chloroquine). Il diffuse passivement à travers la membrane érythrocytaire et parasitaire pour gagner enfin la vacuole digestive.

Au niveau de la vacuole digestif, la 4-aminoquinoléine a une forte affinité pour la protoporphyrine ferrique (Fe(III)PPIX) donc il entre en compétition avec l'hème polymérase et inhibe la formation de l'hémozoïne. (28)

II.5.2 1,2,4-trioxane

Le pharmacophore 1,2,4-trioxane agit comme un agent alkylant après activation réductrice. L'hème joue ainsi à la fois le rôle d'activateur (activation réductrice du pont peroxyde) et de cible (alkylation par les radicaux générés).

La coupure de 1,2,4-trioxane, initiée par le fer(II) de l'hème, commence par un transfert mono électronique du pont peroxyde conduisant vers le Fe(II) à un radical alcoyle. La fragmentation de ce radical conduit à deux radicaux différents de type alkyle en fonction de l'orientation de la scission (β_1 ou β_2) (Figure 57) qui sont capable d'alkyler l'hème.

L'accumulation des produits d'alkylation redox actifs entraîne un stress oxydatif et la mort du parasite (Figure 57). (50)

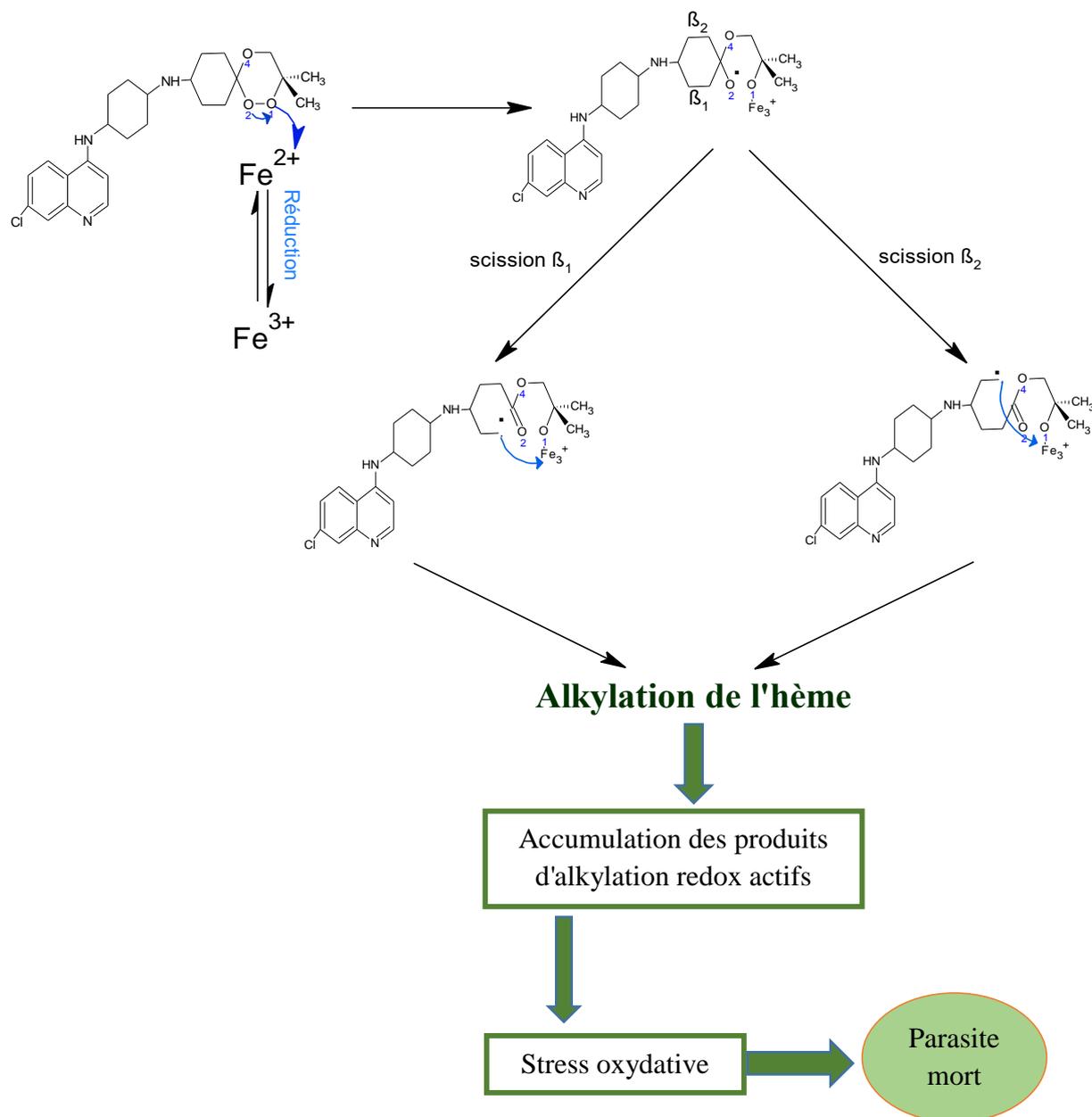


Figure 57: Mécanisme d'action du PA1103. (50,59)

II.6 Etude de l'activité

II.6.1 In vitro

II.6.1.1 Détermination de la CI₅₀

Les deux stéréo-isomères de PA1103 ont les mêmes activités in vitro donc toutes les données ont été obtenues avec un mélange 50/50.

Sept différentes souches de *P. falciparum* de régions géographiques différentes ont été utilisées pour l'évaluation in vitro de l'activité de ce TRIOXAQUINE selon la méthode classique de micro dilution radioactive décrite par Desjardins et al (voir le chapitre III).

Les CI_{50} ont été déterminés en traçant graphiquement la courbe des concentrations du médicament en fonction du pourcentage d'inhibition de la croissance du parasite après 48h d'incubation (Tableau 16). (50)

Molécule	CQS		CQR			CQR++	
	D6 SierraLeone	F32 Tanzania	FcB1 Colombia	FcR3 Gambia	PaloAlo Ouganda	W2 Indo- China	FcM29 Cameron
PA1103/SAR 116242 (nM)	7 ± 6	13	24 ± 3	12 ± 3	15 ± 3	15 ± 3	10 ± 3
Chloroquine (nM)	11 ± 3	25 ± 3	147 ± 3	144 ± 3	126 ± 3	236 ± 3	518 ± 5
Artémisinine (nM)	8 ± 5	9 ± 5	10 ± 4	8 ± 5	10 ± 5	10 ± 5	7 ± 5

Tableau 16: Evaluation de l'activité du PA1103 sur différentes souches de *P.falciparum*. (50)

Le PA1103 a une activité similaire sur les souches *P. falciparum* CQS, CQR et CQR++ avec des CI_{50} allant de 7 à 24 nM, contrairement à la chloroquine qui a des CI_{50} élevés sur les souches résistantes (jusqu'à 518 nM) (Tableau 16).

De plus, le PA1103 possède une activité proche de celle de l'artémisinine (5- 10 nM), cela justifie le rôle cruciale du pharmacophore 1,2,4-trioxane. (48)

II.6.1.2 Etude du métabolisme

L'évaluation métabolique du PA1103 a été effectuée en utilisant des fractions microsomales hépatiques préparées à partir des souris, des rats et des humains. (Voir chapitre III)

Les résultats obtenus ont montré que le PA1103 a un taux de métabolisation faible (11% pendant 20min) avec une clairance intermédiaire élevée ($0.11 \pm 0.05 \text{ ml/h}/10^{-6}$ hépatocytes), par rapport à la métabolisation rapide et complète de l'artésunate (100% ; $0.61 \pm 0.22 \text{ ml/h}/10^{-6}$ hépatocytes) et de la chloroquine (29%) dans les mêmes conditions expérimentales.

Donc on conclue que le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) du PA1103 est plus lent que celui d'artésunate et de la chloroquine. (50)

II.6.2 In vivo

L'étude in vivo a été obtenue sur des souris infectées par deux différentes souches (*P.vinckei.petteri* (CQS) et *P.vinckei vinckei* (CQR)) par le test suppressif de 4 jours (voir chapitre III).

Les résultats ont permis d'obtenir une comparaison directe entre les données in vitro et in vivo.

Le PA1103 a été administré à des souris Suisses injectées par des globules rouges parasités une fois par jour pendant 4 jours (Chapitre III). Les niveaux de parasitémie ont été déterminés le jour après le dernier traitement, et les souris guéries après 30 jours ont été enregistrées. (50)

II.6.2.1 Evaluation de la biodisponibilité

Le PA1103 est administré à des souris Suisses infectées par deux voies différentes à savoir la voie orale et intra-péritonéale (Tableau 17).

Molécules	CD ₁₀₀ (mg/Kg par jour)	
	CQS	CQR
PA1101/SAR116242	32	30
Chloroquine	16	> 100
Arésunate	32	100

Tableau 17: Etude de l'activité in vivo du PA1103 sur des souris suisses par voie orale. (50)

Les CD₁₀₀ (la quantité de médicament en mg / Kg par jour ayant guéri 100% des souris infectées) étaient similaires pour les deux voies (de 26 à 32 mg/Kg), ce qui confirme la bonne biodisponibilité orale de ce médicament.

En outre, lors de l'utilisation de la souche CQR (*P.vinckei vinckei*), ils avaient constaté que l'activité du PA1103 était pratiquement la même que celle obtenu avec la souche CQS. En plus, le PA1103 était plus efficace (CD₁₀₀ = 30mg/Kg) contre la souche CQR par rapports l'artésunate (CD₁₀₀ = 100mg/Kg). (50)

II.6.2.2 Evaluation de la réduction de la parasitémie

L'étude est faite sur un modèle de rongeur où ils ont administré par voie orale le PA1103, artésunate, CQ et la méfloquine à une dose 25 mg/Kg/j. les résultats obtenus (Figure 58) ont été comparé à fin d'évaluer la capacité du PA1103 à réduire la parasitémie.

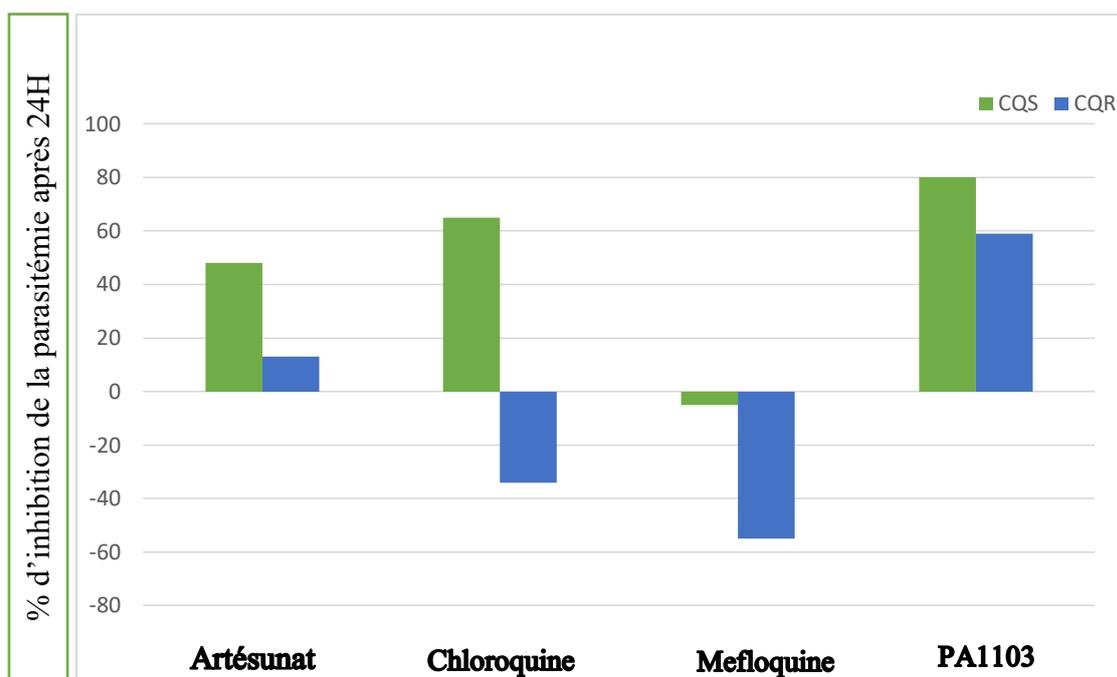


Figure 58: Pourcentage d'inhibition de la parasitémie après 24h. (50)

Le PA1103 est le plus efficace sur les deux souches, alors que la chloroquine et méfloquine sont incapables de réduire la croissance de la souche CQR. (50)

II.6.2.3 Evaluation de l'activité contre les formes érythrocytaires P. falciparum

Pour évaluer l'activité du PA1103 chez des souris humanisées infectées par P. falciparum, une expérience de type curative a été réalisé sur la souche 3D7(CQS) et la souche W2(CQR). (Tableau 18)

Molécule	Dose (mg/Kg par jour)	Les souches de P. falciparum	Réduction de la parasitémie (%) le 4ème jour
Chloroquine	15	3D7 (CQS)	100
		W2 (CQR)	0
	43	3D7 (CQS)	100
		W2 (CQR)	15
Artésunate	4	3D7 (CQS)	28
		W2 (CQR)	89
	54	3D7 (CQS)	ND
		W2 (CQR)	100

PA1103/SAR116 242	32	3D7 (CQS)	ND
		W2 (CQR)	77
	63	3D7 (CQS)	100
		W2 (CQR)	96

Tableau 18: Etude de l'activité in vivo contre les formes érythrocytaires de *P.falciparum*. (50)

Un traitement de 4 jours par le PA1103 avec une dose de 32 ou 63 mg /Kg /jour par voie orale a induit une réduction significatif ou totale de la parasitémie chez toutes les souris traitées et son activité à la dose 63 mg/Kg était similaire à celle observée chez les souris traitées avec 54mg/Kg d'artésunate.

Ces résultats (Tableau 18) confirment l'activité de ce trioxaquine sur le *P.falciparum* qui permet une évaluation plus fiable de ce médicament contre la cible réelle du parasite.

II.7 La toxicité

Pour étudier le profil toxique de ce trioxaquine (PA1103/SAR116242), des essais tels que le test **Ames** (un test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique) et le test des **micronoyaux** in vitro ont été utilisé pour déterminer l'effet mutagène ou tératogènes. Dans les deux tests, le PA1103 n'a montré aucune activité mutagène ou tératogène.

La toxicité cardiaque a été également évaluée par la technique **patch-clamp** (technique électro physiologique). Le TRIOXAQUINE n'a induit aucun effet ni sur la pression artérielle, ni la fréquence cardiaque, et ni sur l'intervalle QT jusqu'à 100 mg/Kg par voie orale. (50)

III. Hybride 4-aminoquinoléine-imipramine

La CQ est une molécule utilisée avec succès mais le développement des souches chloroquino-résistantes limite son efficacité pour cela ils ont essayé de la lier avec une entité capable d'inverser le mécanisme responsable de sa résistance appelée **agent d'inversion** (selon Peyton en 2012). Cette dernière appelée également « agent chimio-sensibilisant » en référence à la re-sensibilisation de la cible au traitement (Figure 59). (60)

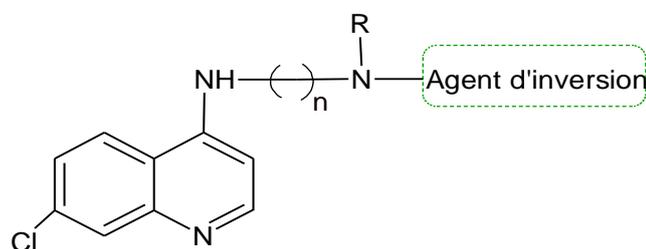


Figure 59: Structure générale d'un hybride 4-aminoquinoléine-agent d'inversion. (60)

Ce phénomène est caractérisé à la fois par une réduction du CI_{50} de chloroquine donc amélioration de son activité ainsi que son accumulation accrue dans la vacuole digestive spécifiquement pour les souches CQR. (60)

Selon Bhattacharjee, les éléments clés du pharmacophore « agent d'inversion » sont deux cycles aromatiques (représentés par les hexagones gris) et un accepteur de liaison hydrogène qui est généralement azoté (représenté par une sphère vert et un cône rouge) (Figure 60). (61)

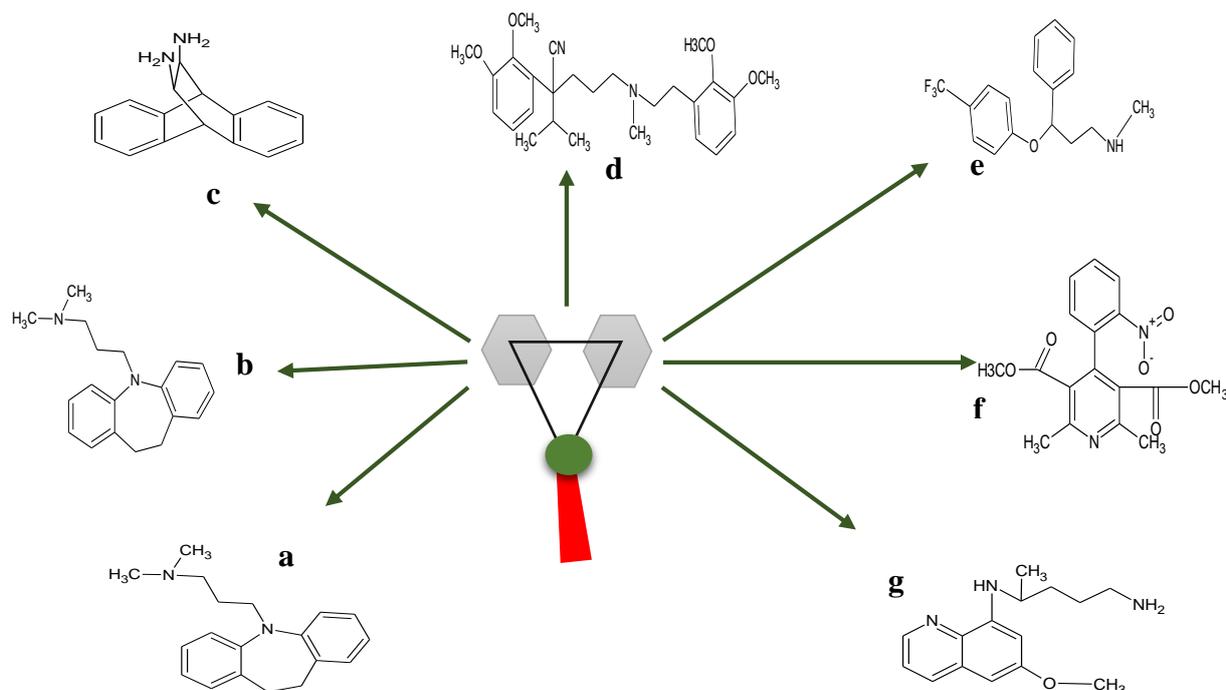


Figure 60: Représentation schématique des pharmacophores d'agent d'inversion proposés par Bhattacharjee. (61)

Une série de composés représentatifs de diverses classes illustrent le pharmacophore chimio-sensibilisant proposés (Figure 60). Ceux-ci comprennent : (a) l'imipramine, (b) la chlorpromazine, (c) un dérivé de dihydroanthracène, (d) vérapamil, (e) la fluoxétine, (f) la nifédipine (g) et la primaquine. (61)

L'imipramine est l'un des agents d'inversion du PfCRT les mieux étudiés et connus. (14)

III.1 Structure

C'est un hybride fusionné complètement synthétique : la 4- aminoquinoléine a été fusionné avec l'imipramine en tirant partie du point commun de leurs composés de départ qui est l'atome d'azote. (Figure 61). (60)

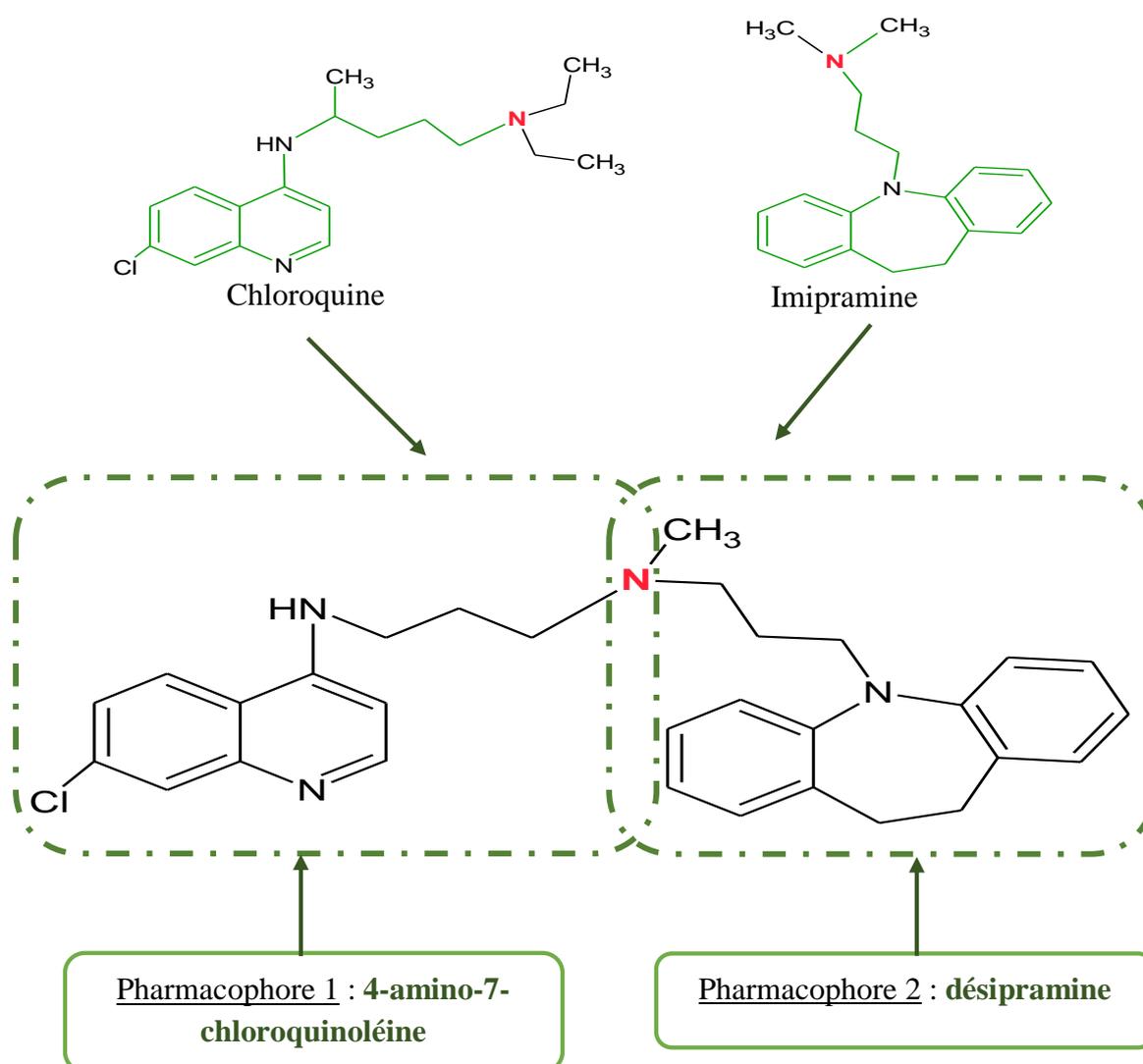


Figure 61: Structure chimique de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (60)

III.2 Mode de synthèse chimique et hybridation

Burgess et al ont préparé l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine (Figure 61) par fusion des deux entités la 3-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]propanol (Figure 62-a) et le desipramine (Figure 62-b). (60)

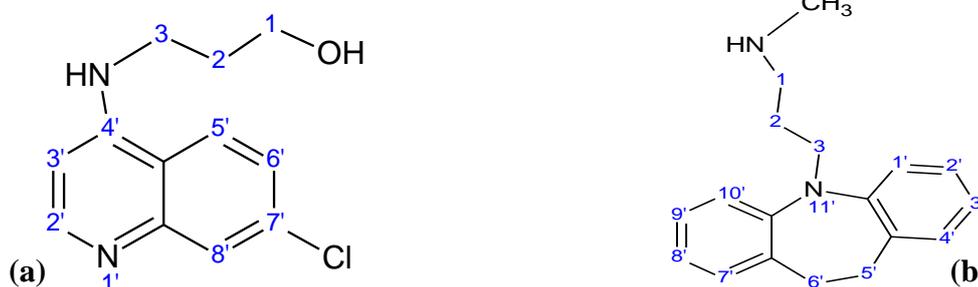


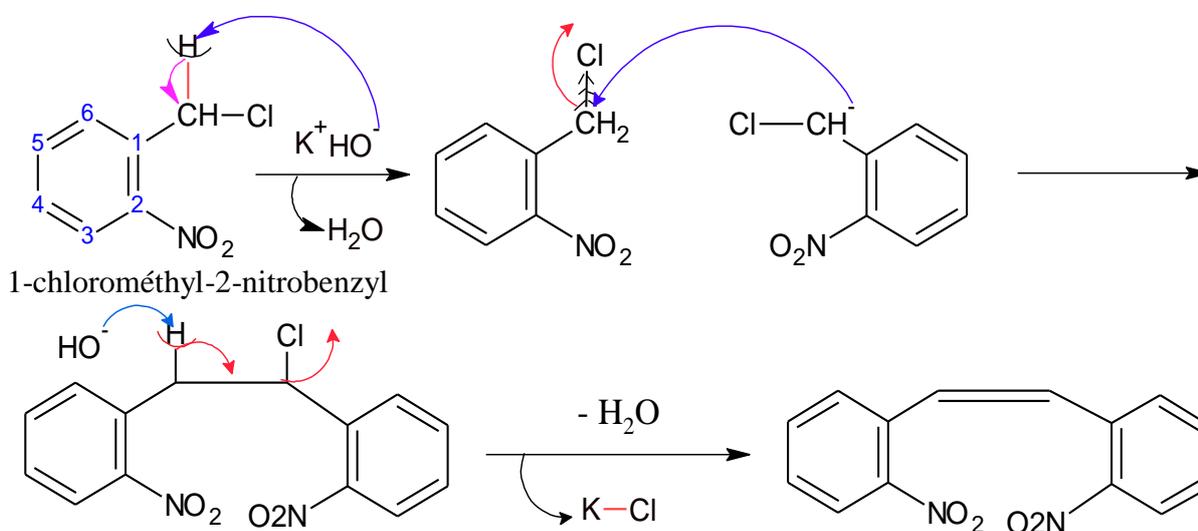
Figure 62: Structure chimique du 3-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]propanol (a) et du desipramine (b). (60)

III.2.1 Préparation du désipramine

Le desipramine 3-(5',6'-dihydrodibenzazépin-11'-yl)-N-méthylpropanamine (Figure 62-b) qui est composé d'un noyau dibenzazépine substitué au niveau de l'atome d'azote par un N-méthyl-N-propylamine.

III.2.1.1 Préparation de 5,6-dihydrodibenzazépine

Il est synthétisé à partir d'une **condensation** entre deux molécules de **1-chlorométhyl-2-nitrobenzène** en présence d'une **base forte KOH** (hydroxyde de potassium), suivie d'une **réduction** par **SnCl₂** (chlorure d'étain) / **HCl** et un chauffage pour obtenir le 5,6-dihydrodibenzazépine (Figure 63). (62)



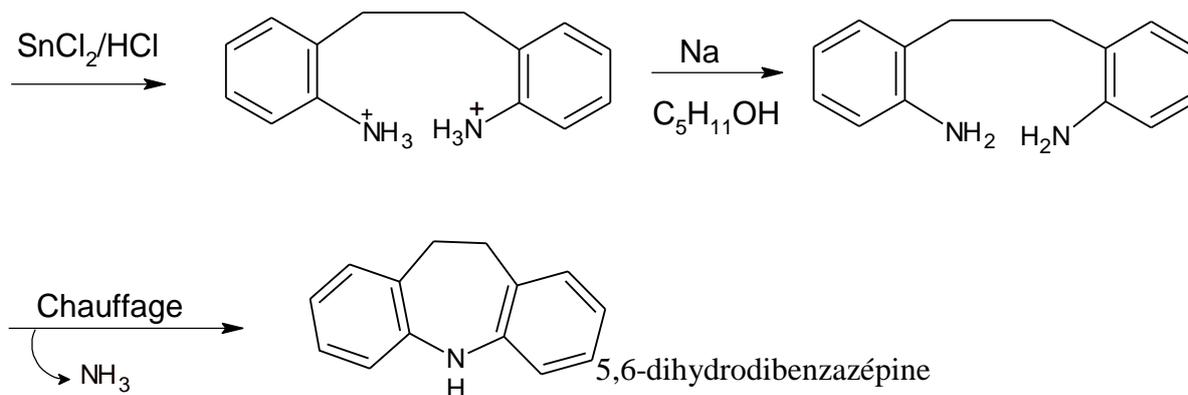


Figure 63: Préparation de 5,6-dihydrodibenzazépine. (62)

III.2.1.2 Synthèse du désipramine

Il s'agit d'une **N-alkylation** (Figure 64) du noyau 5,6-dihydrodibenzazépines par un **1-bromo-3-chloropropane** en présence d'une base (**amidure de sodium**) pour donner le 3-(5,6-dihydrodibenzazépino-11-yl)-1-chloropropane qui va être **substitué** par le **méthylamine** (Figure 64). (62)

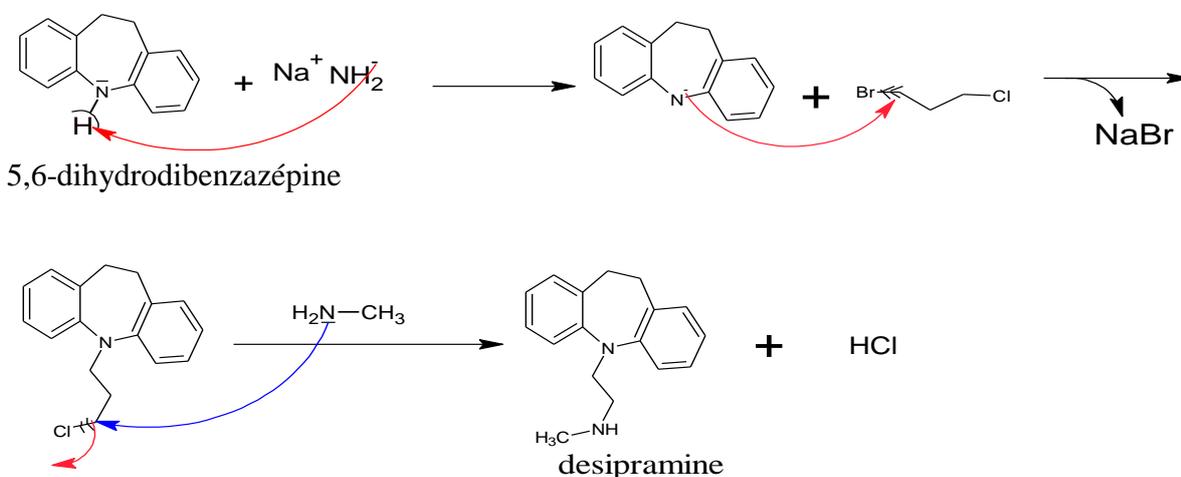


Figure 64: Réaction de synthèse du désipramine. (62)

III.2.2 Préparation de 3-[(7-chloroquinolin-4-yl) amino]propanol

III.2.2.1 Préparation de la 4,7-dichloroquinoléine (voir chapitre IV-II) (Figure 53).

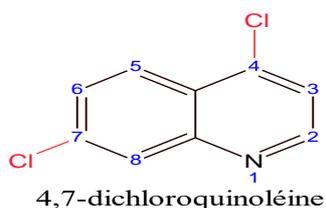


Figure 65: Structure chimique de 4,7-dichloroquinoléine. (56)

III.2.2.2 Substitution par le 3-aminopropanol

Il s'agit d'une **substitution nucléophile** du 4,7-dichloroquinoléine par le **3-aminopropanol** après un **chauffage**, pour donner le 3-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]propanol (Figure 66). (60)

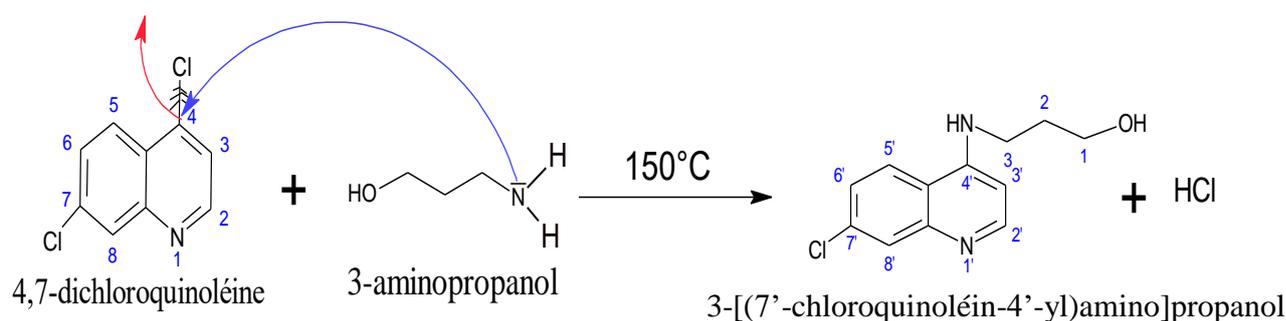


Figure 66: Substitution nucléophile par 3-aminopropanol. (60)

III.2.3 Hybridation

III.2.3.1 Etape de protection

La **fonction hydroxyle** de 3-[(7'-chloroquinoléin-4'-yl)amino]propanol est **protégée** en tant que **méthansulfonyl** en utilisant le **chlorure de méthanesulfonyle** dans un solvant **tétrahydrofurane(THF)** en présence d'une base de **triéthylamine(Et₃N)** pour neutraliser l'acide (HCl) libéré (Figure 67). (60)

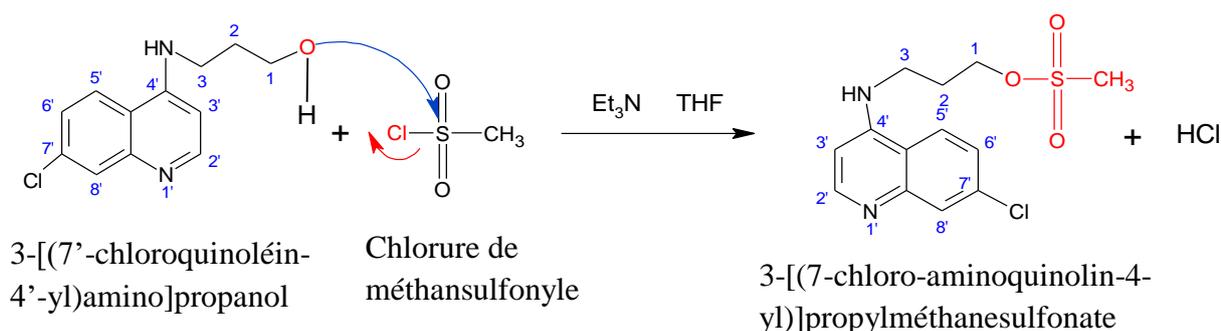


Figure 67: Etape de protection de la fonction hydroxyle. (60)

III.2.3.2 Couplage

Le **3-[(7-chloro-aminoquinoléin-4-yl)]propyl méthanesulfonate** est **couplé** avec le **desipramine** en présence de la **triéthylamine (Et₃N)** et **iodure de potassium (KI)** dans un solvant (**tétrahydrofurane THF**) (Figure 68). (60)

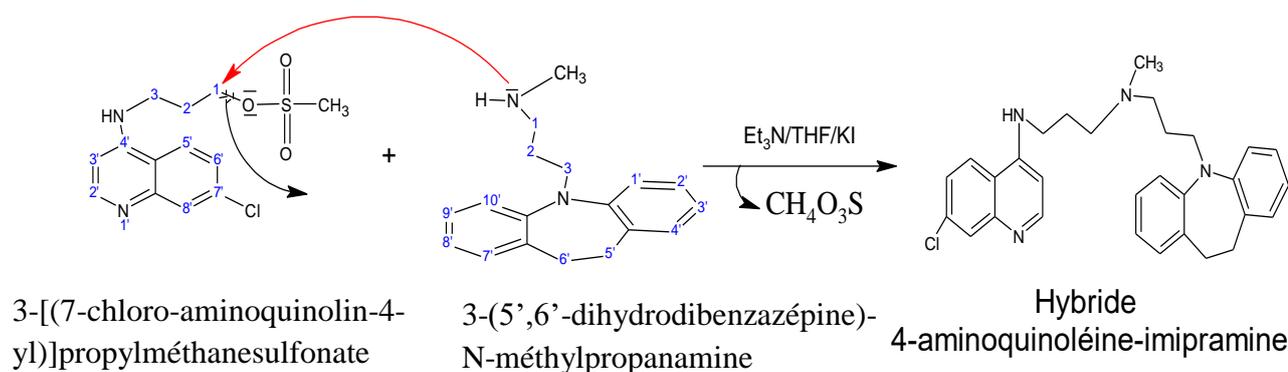


Figure 68: Réaction d'hybridation pour l'obtention de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (60)

III.3 Relation structure-activité

La structure de l'hybride est choisie d'une façon pour permettre au pharmacophore 4-amino-7-chloroquinoléine d'exercer un mécanisme identique à celui de la chloroquine, et cela par la conservation des fonctions indispensables à l'activité (Figure 69) à savoir :

- L'atome d'azote pour son accumulation dans la vacuole digestive (renforcer par l'agent d'inversion),
- la partie aminoquinoléine pour l'interaction avec la ferriprotoporphyrine après dégradation de l'hème et,
- le Cl en position 7 pour l'inhibition de la formation de l'hémozoïne. (63)

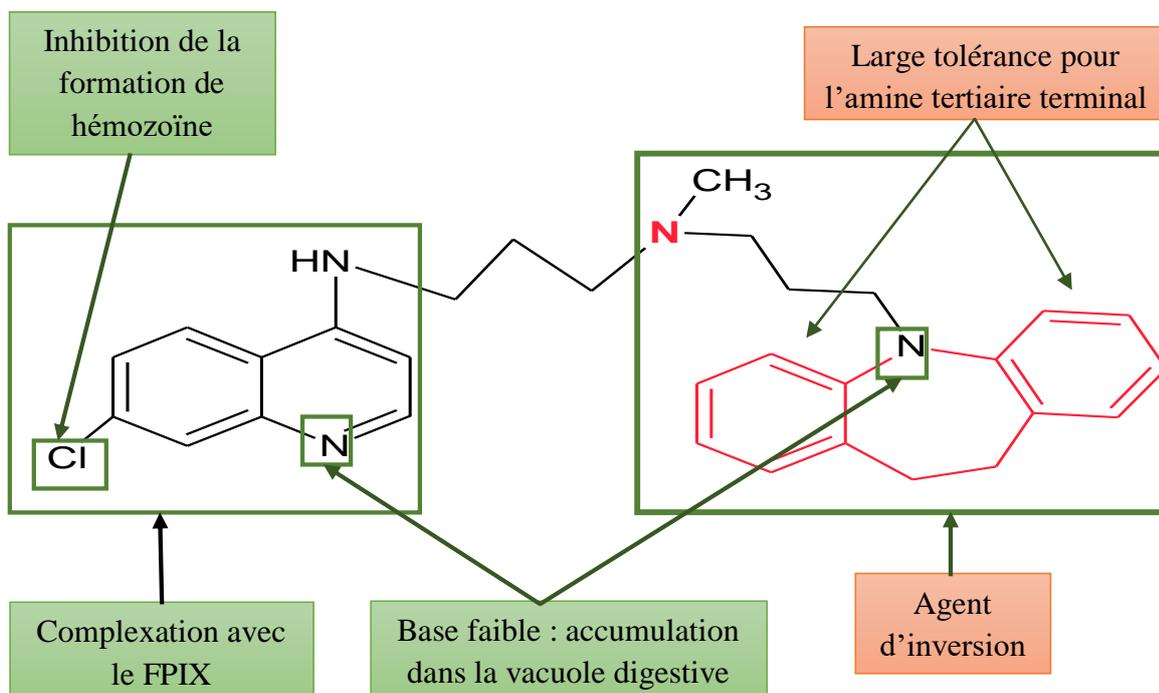


Figure 69: Représentation schématique de la RSA de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (63)

En 2002, Bhattacharjee et al ont fait une étude 3D QSAR sur les agents d'inversion en utilisant 17 analogues d'imipramine. Les caractères de base qui ont révélé leur relation structure activités sont :

- Deux cycles hydrophobes aromatiques et un site accepteur de liaisons hydrogène, de préférence un atome d'azote dans la chaîne latérale, semblent être nécessaires pour une activité d'inversion de résistance puissante.
- Les études basées sur la chimie quantique ont également permis d'établir une corrélation satisfaisante entre l'activité d'inversion et certaines propriétés électroniques telles que les énergies orbitales et la basicité intrinsèque de l'atome d'azote dans l'hétérocycle tricyclique.
- Les études empiriques de structure-activité ont montré une bonne corrélation entre l'activité d'inversion et la lipophilie et la densité des molécules. (64)
- L'imipramine et la désipramine présentaient une activité antiplasmodique intrinsèque qui est probablement liée à des similarités structurales avec la CQ (Figure 70). (65)

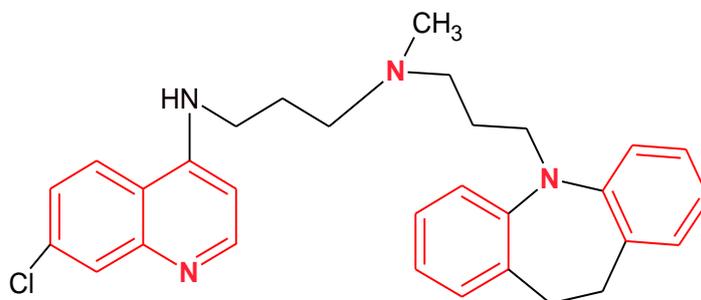


Figure 70: Similarité structurale entre les deux pharmacophores. (65)

III.4 Mécanisme d'action

III.4.1 4-amino-7-chloroquinoléine (voir CHAPITRE II)

III.4.2 Désipramine

L'imipramine est un antidépresseur avec une activité antipaludique intrinsèque légère ainsi qu'une inhibition du transporteur de la résistance à la chloroquine (PfCRT) de *P. falciparum* responsable de l'efflux de la CQ de la vacuole digestive (Figure 71). (60)

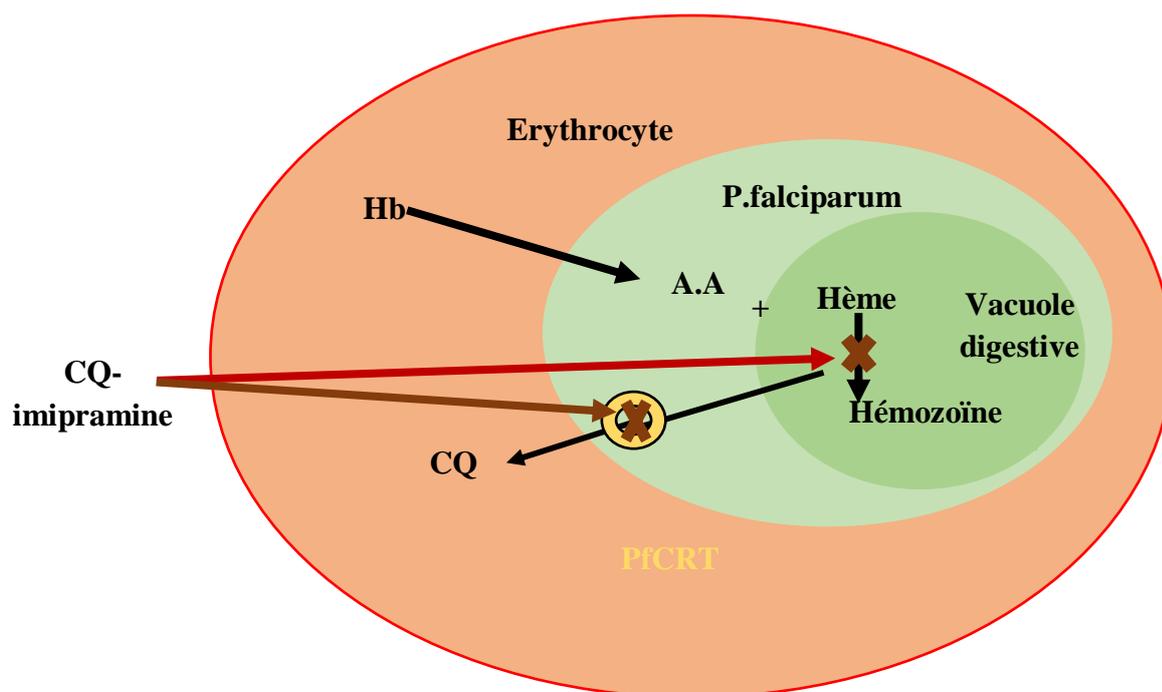


Figure 71: Mécanisme d'action de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (65)

III.5 Etude de l'activité

III.5.1 In vitro

III.5.1.1 Détermination de la CI₅₀

L'étude est réalisée selon une méthode radioactive (voir chapitre III). Les cultures asynchrones des souches CQS D6 et CQR Dd2 ont été diluées dans un milieu complet (RPMI-1640 avec 0,5% d'Albumax II) en présence des érythrocytes non infectées pour obtenir une parasitémie de 0,2% et hématocrite de 2%.

Dans des microplaques à 96 puits, de la chloroquine (témoin positif) ou une solution de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine diluée ont été ajoutées au mélange de cellules avec des concentrations de médicament comprises entre 0 et 10^{-4} M dans un volume de puits final 100 μ l.

Après 72 h d'incubation, les plaques ont été examinées par une méthode basée sur la fluorescence SYBR Green-I en utilisant un lecteur de microplaques à fluorescence (Gemini-EM) à des longueurs d'ondes (497 et 520 nm) d'excitation et d'émission respectivement.

Les résultats (Tableau 19) ont été obtenus par analyse de régression des courbes doses-réponses. (60)

Composés	CI ₅₀ (nM)	
	CQS(D6)	CQR(Dd2)
CQ	6,5	120
4-aminoquinoléine- Imipramine	2,9	5,3

Tableau 19: Détermination des CI₅₀ de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (60)

Les CI₅₀ obtenues de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine sont plus basses que celles de la CQ seule, cela signifie que l'hybride est plus efficace contre les deux souches (D6 CQS et Dd2 CQR) affirmant que sa fixation avec l'entité 4-aminoquinoléine a non seulement amélioré l'activité antipaludique mais aussi a inversé la chloroquino-résistance. (60)

III.5.1.2 Etude de l'interaction entre l'hybride et l'hème

Bergess et ses collaborateurs ont évalué la liaison l'hème-CQ et l'hybride-hème en utilisant la spectroscopie UV-Visible à deux valeurs de Ph différentes :

- À un pH 5,7 près de celui de la vacuole digestive, la constante de liaison mesurée était la même que ça pour l'hybride ou la CQ ($3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$).
- A un pH 7 la constante mesurée pour l'hybride ($3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) était comparable à celle de la CQ ($1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) dans les mêmes conditions.

On conclue que le pharmacophore de l'imipramine (desipramine) a permis l'accumulation de l'hybride dans la vacuole digestive des souches résistantes à la chloroquine sans qu'il affecte la liaison du pharmacophore de la CQ (4-aminoquinoléine) avec sa cible (hème). (60)

III.5.2 In vivo

III.5.2.1 Test suppressif de 4 jours

Des souris femelles âgées de 4 à 5 semaines, ont été injectées par voie intraveineuse par 10^6 érythrocytes infectés par la souche P.chabaudi CQR.

Après 24h, l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine a été administré par voie orale à des doses différentes (64, 32, 16 et 0mg/Kg/j) chez 4 souris infectées.

Les résultats ont été obtenus par analyse microscopique directe des frottis sanguins colorés au Giemsa 1 jour après la dernière dose.

Il a été constaté que la dose de 64 mg/kg/jour inhibe plus de 99% de la croissance de P. chabaudi après 4 jours d'administration ; une dose plus faible ne produit aucune suppression. Bien que le CQ soit efficace à une dose plus faible chez le même modèle animal. (60)

Les raisons de la dose plus élevée de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine ne sont pas connues mais peuvent impliquer son caractère lipophile, son métabolisme dans le foie ou d'autres facteurs. (60)

III.6 Toxicité

Le test de cytotoxicité de l'hybride a été appliqué sur les lymphocytes de la rate de souris. Les résultats (Tableau 20) sont estimés à $\pm 50\%$, sur la base des incertitudes de pesée pour les divers composés (qui sont des bases libres et souvent des huiles), ainsi que de la variabilité entre les déterminations effectuées au cours de différentes semaines. (66)

Molécule	Cytotoxicité (nM)
CQ	12000
4-aminoquinoléine-Imipramine	700

Tableau 20: Etude de la cytotoxicité de l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine. (66)

Les résultats ont montrés que l'hybride 4-aminoquinoléine-imipramine est moins cytotoxique (700 nM) que la CQ (12000 nM). (66)

IV. Hybride 4-aminoquinoléine-chalcone

Les chalcones ou 1,3-diarylprop-2-èn-1-one (Figure 72-a), bioprécurseurs de flavonoïdes ont été source d'inspiration pour les chimistes médicaux depuis longtemps.

Leurs analogues présentent un large éventail d'activités biologiques : antifongique, antiparasite, antitumorale, anti-oxydant, immunomodulateur, antileishmanienne, antimitotiques, anti-invasive, anti-inflammatoire et une activité antipaludéenne.

Ces derniers présentent une activité antipaludique en agissant comme inhibiteurs des protéases, inhibiteurs des canaux induits par le plasmodium, ainsi que des perturbateurs de la membrane érythrocytaire. Le licochalcone-A (Figure 72-b) a été le premier chalcone antipaludéen puissant actif contre *P.falciparum* CQR.

Cela a conduit à la synthèse de nouveaux analogues synthétiques et des molécules hybrides à base de 4-aminoquinoléine. (46)

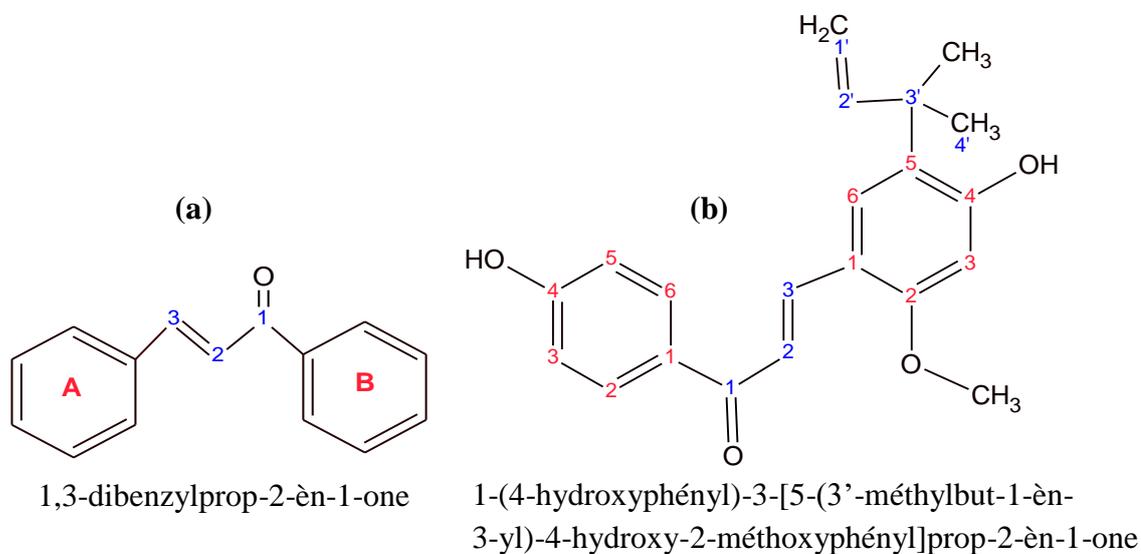


Figure 72: Structure chimique du chalcone (a), licochalcone (b). (46)

IV.1 Recherches et développements

La conception des hybrides 4-aminoquinoléine-chalcone est passée par plusieurs étapes, et ce pour une amélioration d'activité, d'efficacité et de sécurité. (46)

➤ 01^{ère} Etape

Dans une première approche, les chalcones sont liés de façon covalente à une 4-aminoquinoléine, soit par l'intermédiaire d'une liaison oxo (X=O) [Figure 73 (01-d)], ou une liaison amine (X=NH) [Figure 73 : 01(a-b-c)]. (46)

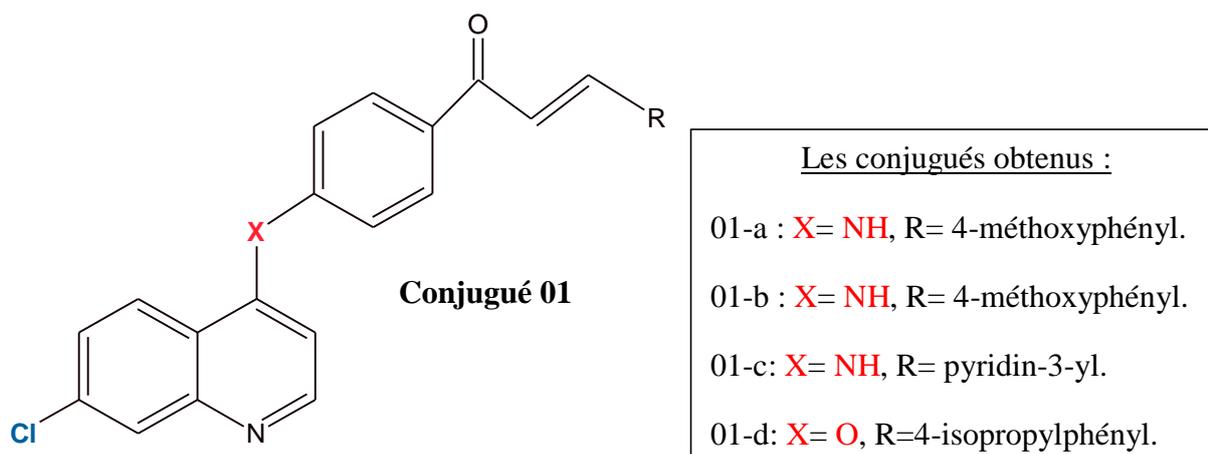


Figure 73: Structure chimique des conjugués 01. (46)

Ces composés ont été criblés in vitro contre la souche de *P.falciparum* CQS NF54. Les hybrides liés par une liaison oxo (Figure 73 01-d), se sont révélés inactifs, tandis que ceux liés par une liaison amine [Figure 73 : 01(a-b-c)] ne présentaient qu'une très légère activité antipaludique. (46)

➤ **02^{ème} Etape**

Un autre groupe s'est concentré sur les dérivés liés par une liaison amine (X= NH), mais il a modifié les substituants des benzaldéhydes donnant ainsi des molécules hybrides [Figure 74 : 02 (a-e)]. (46)

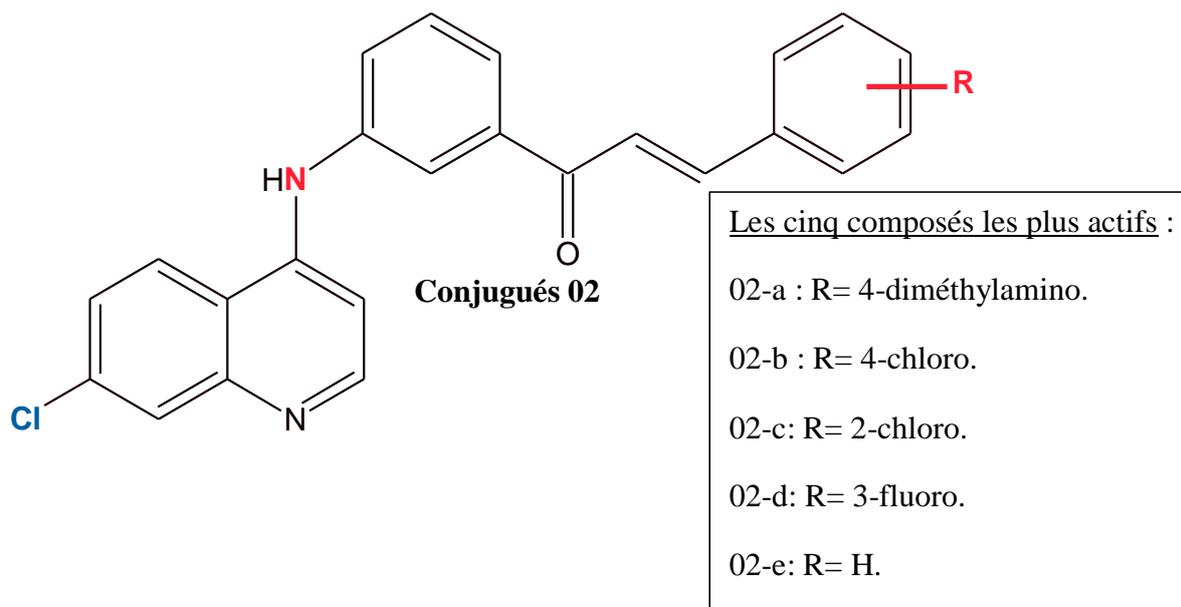


Figure 74: Structure chimique des conjugués 02. (46)

Ces composés ont été évalués in vitro pour leurs effets en tant qu'inhibiteurs de la formation de β -hématine. Étant donné que des inhibitions supérieures à 90% sont considérées

comme significatives (puisque la CQ possède une inhibition de 94%), cinq hybrides [Figure 74 : 02 (a-e)] ont été retenus car ils présentaient une inhibition satisfaisante (94 à 95%).

Cependant, aucun d'entre eux n'a indiqué d'activité inhibitrice efficace de la protéolyse de Hb dans un test in vitro qui utilisait un extrait riche en trophozoïte pour digérer l'Hb native des souris. (46)

➤ **03^{ème} Etape**

Guantai et al ont proposé de changer le lieu par le 1,2,3-triazole (Figure 75).

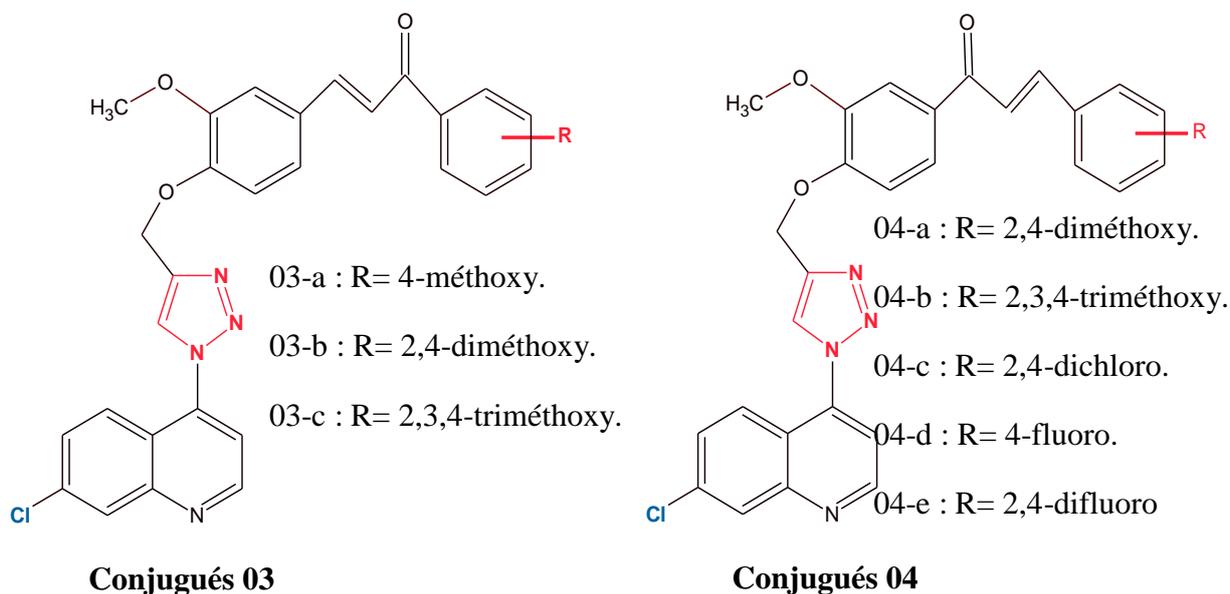


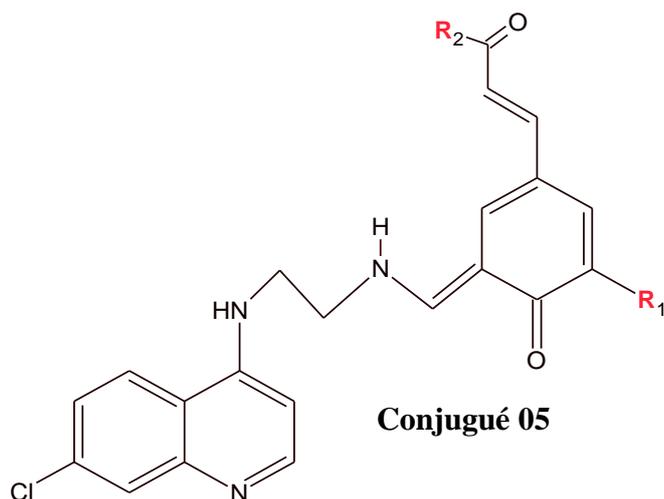
Figure 75: Structure chimique des conjugués 03 et 04. (46)

Les conjugués 03 et 04 (Figure 75) ont été évalués pour leur activité antipaludique in vitro contre les souches de *P.falciparum* (D10 CQS, Dd2 CQR et W2 CQR++), et ont présenté une activité modérée à bonne sur les trois souches.

L'hybride 03-b (Figure 75) était le plus actif avec des valeurs de CI50 (40, 70 et 90 nM) contre les souches (D10, Dd2 et W2) respectivement. Sa cytotoxicité a également été évaluée vis-à-vis de la lignée cellulaire CHO (mammifère) et aucune cytotoxicité n'a été observée à la concentration la plus élevée testée (100 µM).

➤ **04^{ème} Etape**

Inspiré par ces résultats, le groupe Sashidhara a poursuivi la stratégie d'hybridation associant deux fractions antipaludiques connues, la CQ et la céto-énamine chalcones, fournissant les hybrides 05 (Figure 76).



Les composés les plus actifs :

- 05-a : R₁= méthyl, R₂= tolyl.
- 05-b : R₁= méthyl, R₂= 4-hydroxyphényl.
- 05-c : R₁= méthyl, R₂= thiophén-2-yl.
- 05-d : R₁= sec-butyl, R₂= furan-2-yl.
- 05-e : R₁= sec-butyl, R₂= thiophén-2-yl.
- 05-f : R₁= tertbutyl, R₂= 4-fluorophényl.
- 05-g : R₁=tertbutyl, R₂= 4-bromophényl.

Figure 76: Structure chimique des conjugués 05. (46)

L'évaluation antipaludique de ces conjugués contre la souche de *P.falciparum* 3D7 CQS a révélé que deux hybrides (05b et 05g) [Figure 76 : 05(b-g)] présentaient une activité comparable (3,63 et 4,64 ng / mL, respectivement) à la CQ (2,45 ng / mL) et cinq composés ont présenté des valeurs de CI50 inférieures à 10 ng / mL.

La différence d'activité (3 à 380 ng / mL) en général pourrait être attribuée à différents facteurs tels que la longueur et la nature du lieu et les substituants du pharmacophore chalcone.

De plus, les 10 composés les plus puissants ont également été évalués in vivo contre la souche de *P. yoelii* N67 CQR chez la souris suisse. Les résultats ont révélé que ces dérivés étaient très actifs et pouvaient éliminer la parasitémie au-dessous des niveaux détectables chez la souris après administration orale d'une doses de 100 mg / kg. Cependant, une guérison complète n'a pas été obtenue à cette dose. (46)

➤ **05^{ème} étape**

Dans le prolongement des recherches précédentes, le groupe Sashidhara a présenté une nouvelle classe de molécules hybrides à base de 4-aminoquinoléine-chalcone obtenus par condensation de Claisen-Schmidt avec les aldéhydes appropriés (conjugués 06) (Figure 77). (46)

IV.2 Structure

C'est un hybride conjugué complètement synthétique constitué de deux entités chimiques actives, le pharmacophore de la CQ (4-amino-7-chloroquinoléine) lié de façon covalente avec celui du chalcone, par l'intermédiaire d'une liaison imine (Figure 77). (46)

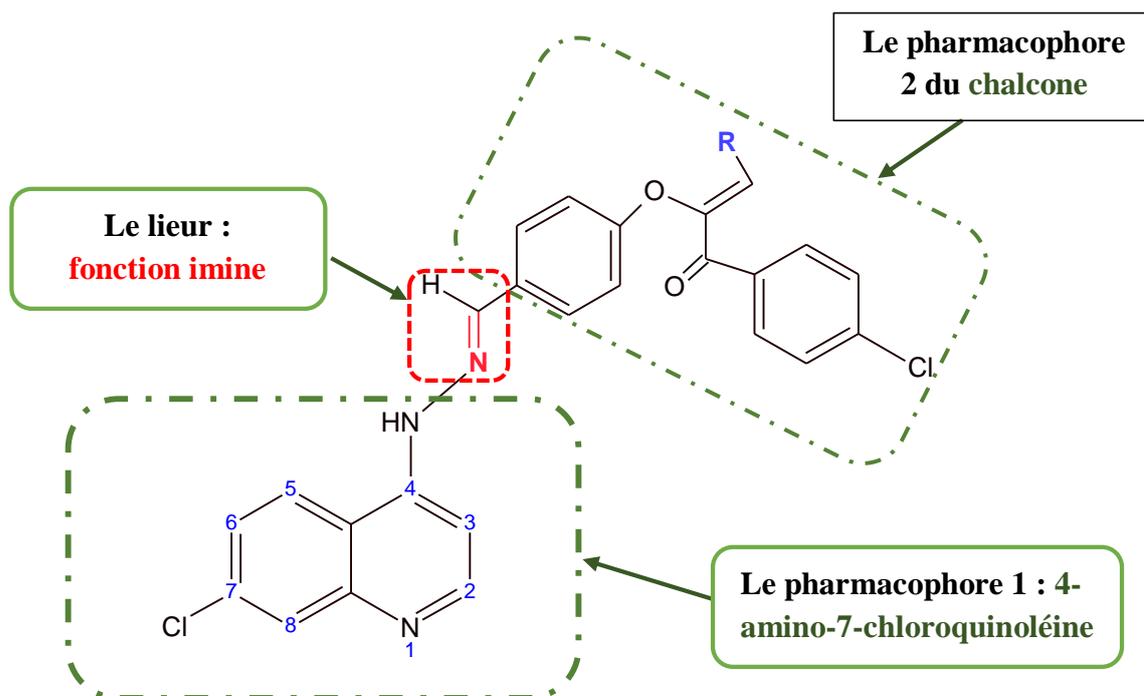


Figure 77: Structure chimique de l'hybride 4-aminoquinoléine-chalcone. (46)

IV.3 Mode de synthèse et hybridation

IV.3.1 Préparation de la 4,7-dichloroquinoléine (voir le chapitre IX : Titre II) (Figure 53).

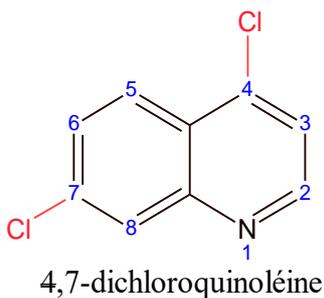


Figure 78: Structure chimique du 4,7-dichloroquinoléine. (56)

IV.3.2 Substitution nucléophile

Le **chlore** en position 4 du 4,7-dichloroquinoléine est **substitué** par l'**hydrate d'hydrazine** en présence d'**éthanol** qui favorise le contact entre les deux réactifs. Un **chauffage à reflux** est effectué pour éviter les pertes de matières. A la fin de la réaction, on obtient le composé 7-chloro-4-hydrazinoquinoléine (Figure 79). (67)

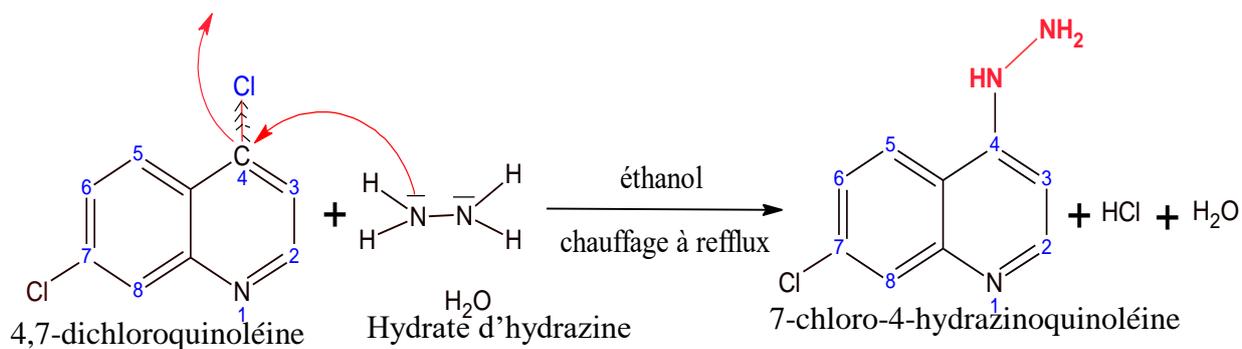


Figure 79: Réaction de substitution nucléophile. (67)

IV.3.3 Condensation avec le 4-hydroxybenzaldehyde

Le 7-chloro-4-hydrazinoquinoléine va se **condenser** avec la 4-hydroxybenzaldehyde en présence d'**éthanol** en tant que catalyseur, pour donner le composé N-(7-chloroquinoléin-4-yl)-N-[(4-hydroxyphényl)imino]amine (Figure 80). (67)

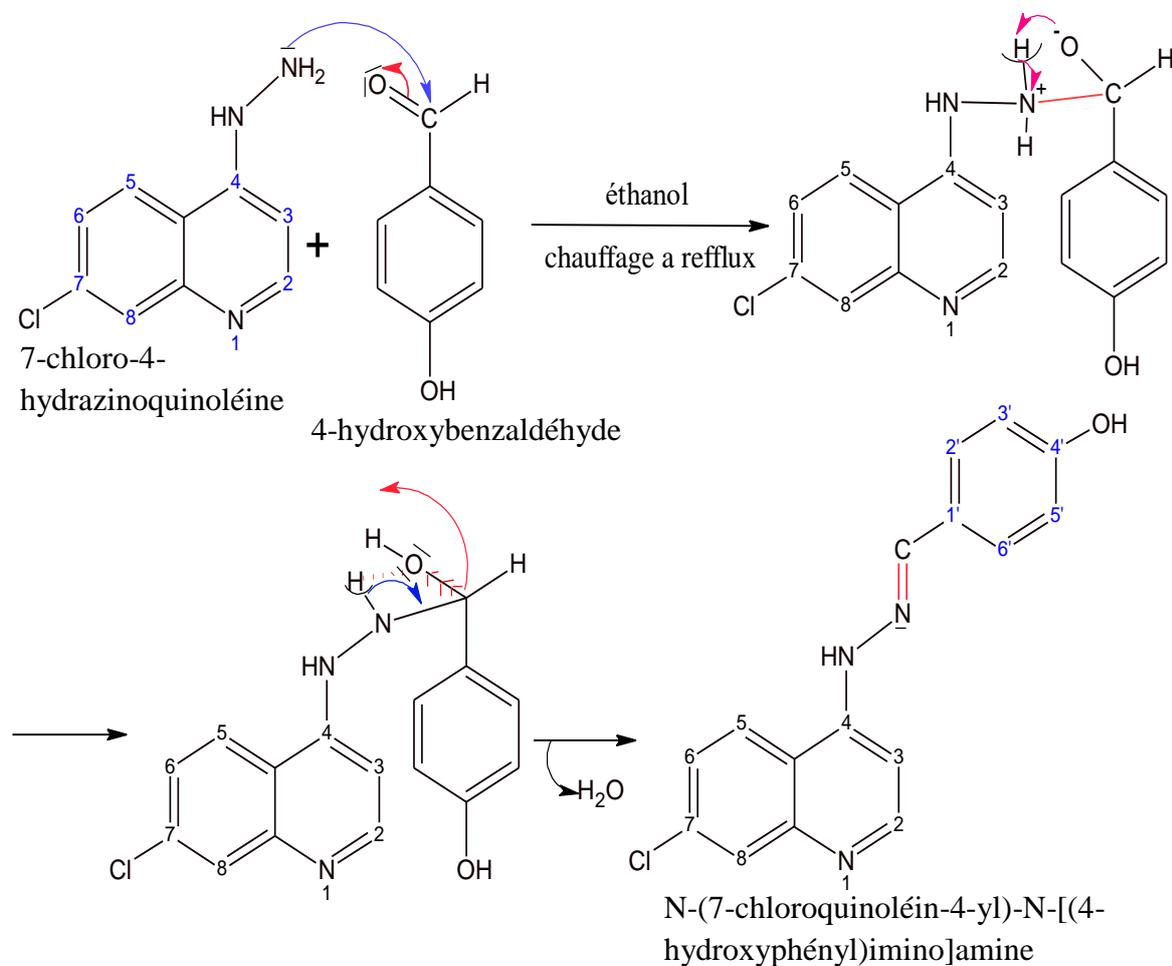
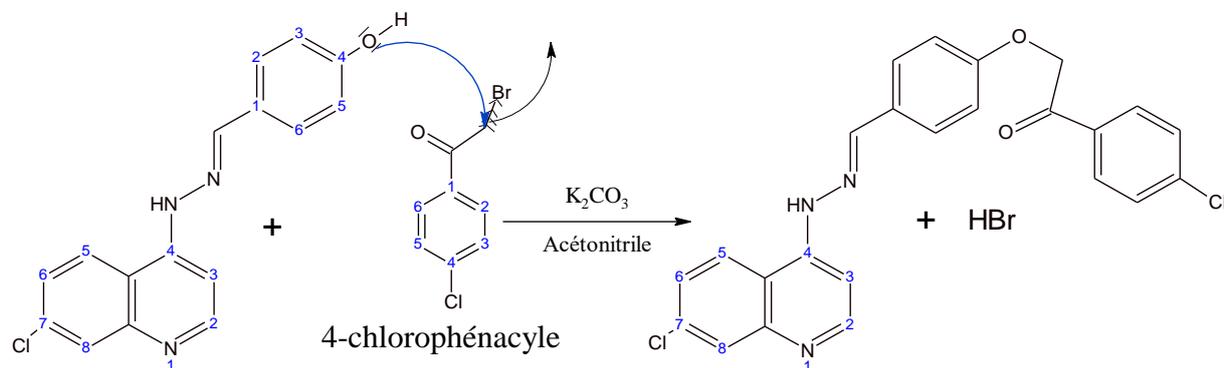


Figure 80: Réaction de condensation avec le 4-hydroxybenzaldehyde. (67)

IV.3.4 Substitution nucléophile

Le N-(7-chloroquinoléin-4-yl)-N-[(4-hydroxyphényl)imino]amine est substitué par le bromure de 4-chlorophénacyle, en présence de carbonate de potassium K_2CO_3 et l'acétonitrile dans le but d'obtenir un composé avec un bon rendement (Figure 81). (67)

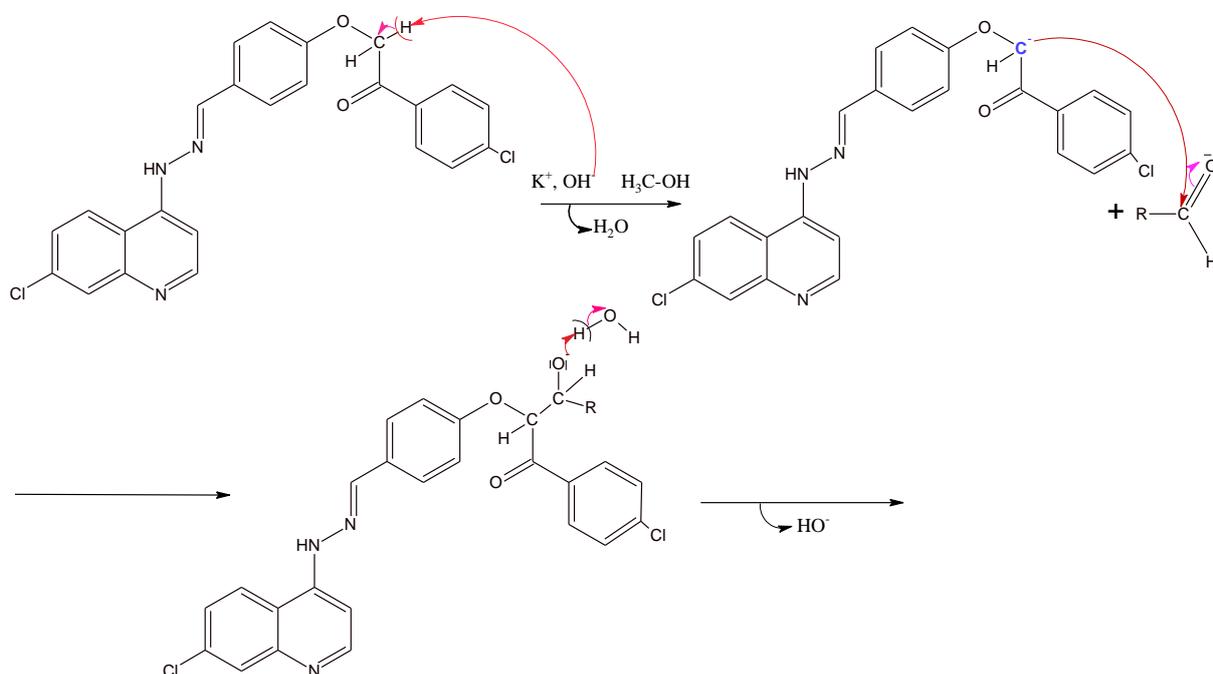


N-(7-chloroquinoléin-4-yl)-N-[(4-hydroxyphényl)imino]amine

Figure 81: Réaction de substitution nucléophile par le 4-chlorophénacyle. (67)

IV.3.5 Réaction de condensation Claisen-Schmidt

La condensation de Claisen-Schmidt est une réaction où une **liaison** carbone-carbone (C-C) entre un **composé cétonique** et un **composé carbonyle** (aldéhydes appropriés) est formée en présence d'une **base forte** (hydroxyde de potassium **KOH**) dans un milieu alcoolique (solution méthanolique de **KOH**) (Figure 82). (67)



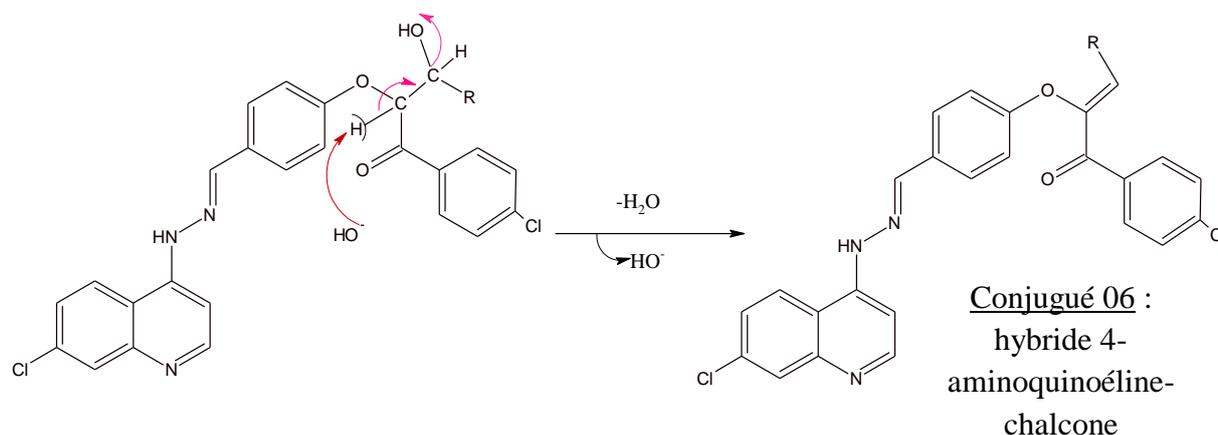
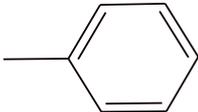
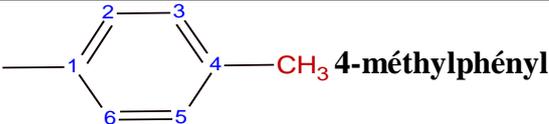
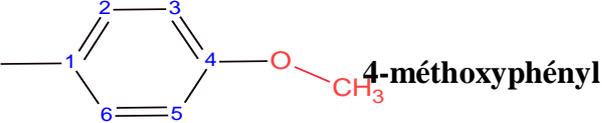
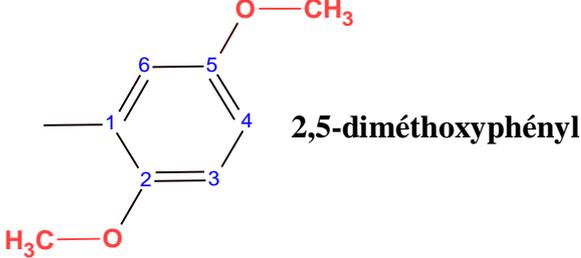
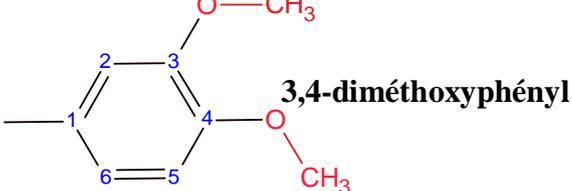
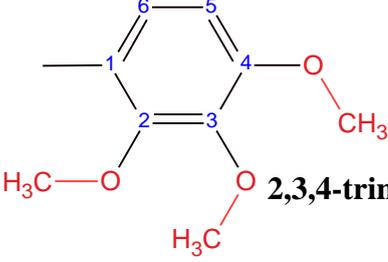
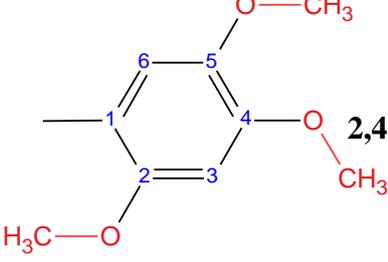
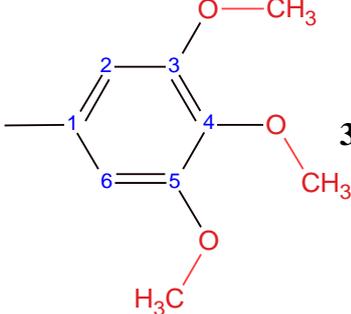
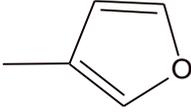
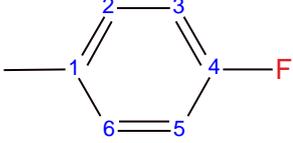
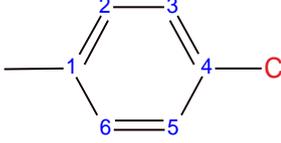
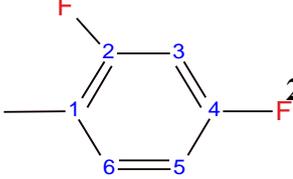
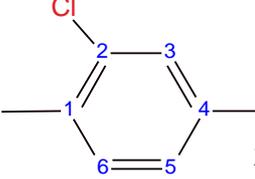


Figure 82: Réaction de condensation Claisen-Schmidt. (67)

Les structures de tous ces nouveaux composés (06: A-O) (Tableau 21) ont été confirmé par la Résonance Magnétique Nucléaire du proton H RMN, et du carbone C RMN, spectroscopie IR et spectrométrie de masse. La pureté de ces composés a été vérifié par analyse de chromatographie sur couche mince CCM. (67)

Composé	Radical (R)
A	 phényl
B	 4-méthylphényl
C	 4-méthoxyphényl
D	 2,5-diméthoxyphényl
E	 3,4-diméthoxyphényl

F	 <p>2,3,4-triméthoxyphényl</p>
G	 <p>2,4,5-triméthoxyphényl</p>
H	 <p>3,4,5-triméthoxyphényl</p>
I	 <p>furanyl</p>
J	 <p>4-fluorophényl</p>
K	 <p>4-chlorophényl</p>
L	 <p>2,4-difluorophényl</p>
M	 <p>2,4-dichlorophényl</p>

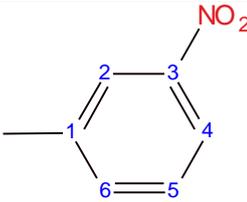
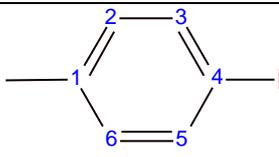
N	 <p>3-nitrophényl</p>
O	 <p>4-nitrophényl</p>

Tableau 21: Radicaux des conjugués 06. (67)

IV.4 Relation structure-activité

IV.4.1 Le pharmacophore de la CQ : 4-amino-7-chloroquinoléine (voir chapitre IV : Titre II)

IV.4.2 Le pharmacophore du chalcone

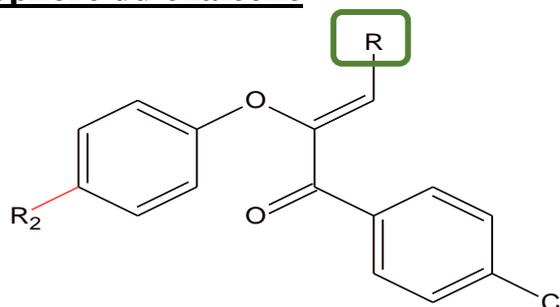


Figure 83: Structure chimique du pharmacophore de chalcone. (67)

Les études sur la RSA des hybrides 06 (A-O) (Tableau 21) ont démontré une dépendance d'activité sur la nature, le nombre et la position des substitutions qui se trouvent sur le cycle phényle (R) (Figure 83). (68)

- Le composé **F** constituant de trois groupes méthoxy en position 2, 3, et 4 du phényle (Tableau 21) est plus actif que le composé **H** qui possède les trois groupes méthoxy en position 3, 4, et 5 (Tableau 21), ce qui suggère que l'effet stérique joue un rôle crucial dans l'activité antipaludique de ces hybrides. (67)
- La présence de groupes donneurs d'électrons (-OCH₃) sur le phényle (composés : **D, F, G, H**) (Tableau 21) ont montré une amélioration d'activité. Le remplacement de ces derniers par des groupes attracteurs d'électrons (-Cl, -NO₂) a réduit l'activité à l'exception de fluor (composé **J**) (Tableau 21) où l'activité a été jugé comparable à celle des composés avec des groupes libérant d'électron, tandis que l'incorporation d'un atome supplémentaire de fluor (composé **L**) (Tableau 21) a conduit à la réduction de l'activité antipaludéenne. (67;68)

- Le changement de la position du groupement nitro (NO₂) qui se trouve en méta du phényle (composé **N**) (Tableau 21), vers la position para (composé **O**) (Tableau 21) a conduit à une forte chute d'activité. (67)

IV.4.3 Le lieu

Il s'agit d'une liaison imine (C=N).

L'hybride est plus actif que son lieu est sous une structure acyclique avec un nombre de carbone réduit en 2 et 3 atomes.

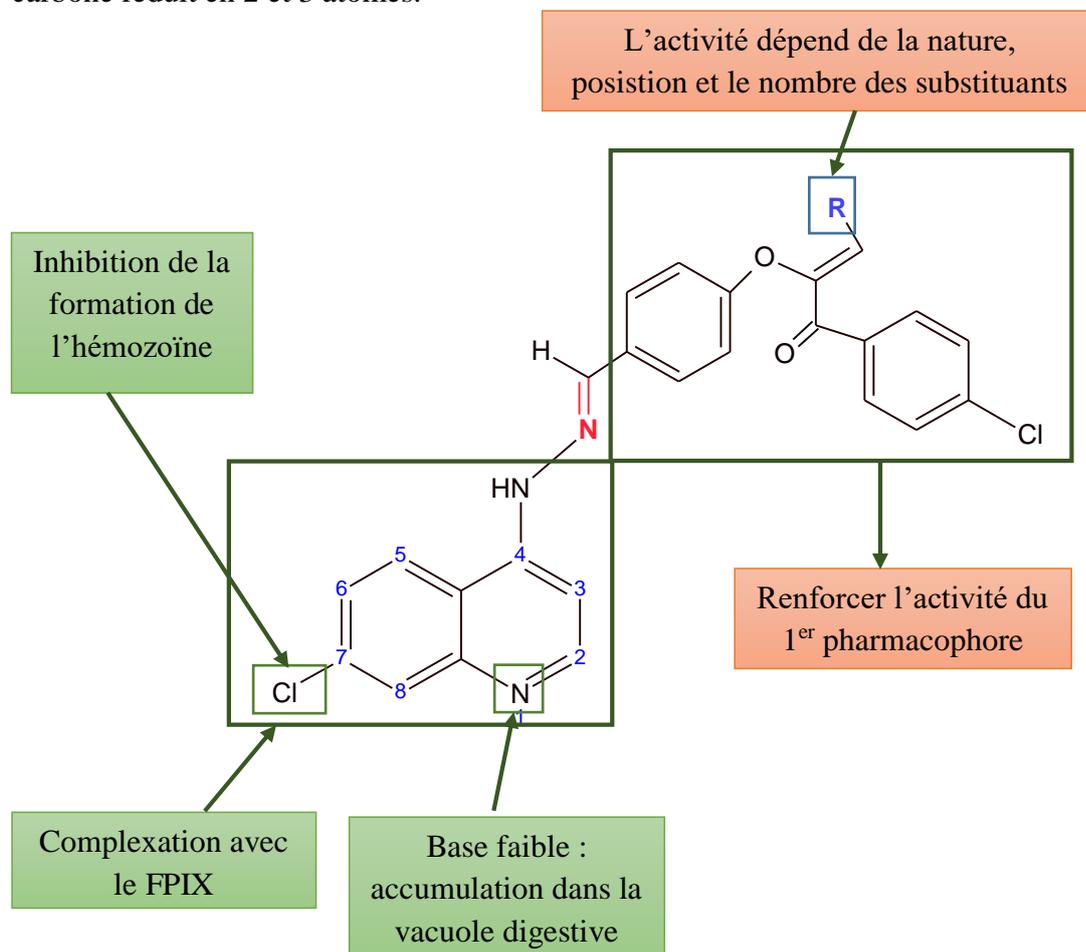


Figure 84: Relation structure activité de l'hybride 4-aminoquinoléine-chalcone. (67,68)

IV.5 Mécanisme d'action

L'action des hybrides 4-aminoquinoléines-chalcones est basée sur l'hypothèse que leur mécanisme d'action correspond à celui de la CQ. (67)

IV.5.1 4-amino-7-chloroquinoléine (voir le chapitre IV-II)

Son activité est renforcée par la présence du deuxième pharmacophore du chalcone, qui lui-même exerce sa propre activité autant qu'inhibiteur de la formation de la β -hématine. (67)

CHAPITRE IV Etude de certains MH antipaludiques à base de quinoléines

Après 72 h, 100 µl de tampon de lyse contenant 2 concentrations de SYBR Green-I ont été ajoutées à chaque puits et incubés pendant une heure à 37 ° C.

Les plaques ont été examinées par puit à des longueurs d'ondes (485 ± 20 nm et 530 ± 20 nm) d'excitation et d'émission respectivement en utilisant le lecteur de microplaques à fluorescence (BioTek, FLX800).

Les résultats (Tableau 22) ont été obtenus par analyse de régression des courbes doses-réponses. La chloroquine a été utilisée comme médicament de référence standard. (67)

Les composés	CI ₅₀ (nM)	
	3D7 CQS	K1 CQR
06	36,70	125,87
A	78,77	110,20
B	111,68	97,87
C	48,09	96,91
D	250,41	125,19
E	84,03	97,77
F	123,50	82,93
G	90,49	89,50
H	95,31	122,61
I	57,30	114,70
J	29,06	102,07
K	144,69	199,49
L	138,81	170,22
M	295,42	Non actif
N	128,12	314,86
O	>500	Non actif
CQ	7,68	463

Tableau 22: Etude d'efficacité des hybrides 4-aminoquinoléine-chalcone in vitro. (67)

La plupart des hybrides ont montré une activité antipaludique plus efficace (CI₅₀ basse) (Tableau 22) par rapport à la chloroquine CQ contre la souche K1 CQR. (67)

Parmi les 16 conjugués testés, les hybrides **B, C, E, F** et **G** ont présenté une CI₅₀ comprise entre 80 et 100 nM, alors que le **A, D, H** et **J** ont montré une CI₅₀ entre 100 et 130nM. L'hybride

F s'est révélé le plus puissant contre la souche K1 CQR avec une $CI_{50} = 82.93$ nM, il était presque six fois plus puissant que la CQ (Tableau 22). (67)

IV.6.2 Etude de l'inhibition de la formation de β -hématine (in vivo)

Des souris suisses mâles pesant entre 15 et 20 g ont été inoculées avec 10^5 globules rouges infectés par *P. yoelii*. Le sang de l'animal infecté à taux de parasitémie élevé (40-50%) a été recueilli par ponction cardiaque dans un tampon à 2% de citrate et puis centrifugé à 5 000 tr / min pendant 10 min à 4°C, pour sédimenter les érythrocytes et éliminer le plasma et la couche leucocytaire.

Le culot a été lavé deux fois avec une solution tampon phosphate saline suivis d'une centrifugation pendant 15min à 4°C pour récupérer le parasite

Le mélange réactionnel contient : 100 mM de tampon d'acétate de sodium, pH (5,1), 50 μ l d'extrait parasitaire, 100 μ l d'hémine comme substrat et 1 à 20 mg de drogue dans un volume total de 1 mL. Le tube de contrôle contient tous les réactifs sauf le médicament.

Le mélange réactionnel en triple exemplaire a été incubé à 37 ° C pendant 16h dans un agitateur rotatif. La réaction a été arrêtée par centrifugation à 10 000 tr / min pendant 10 min à 30°C.

Le culot a été mis en suspension dans un tampon de Tris-HCl 100 mM pH (7,4) contenant 2,5% de SDS. Le culot obtenu après centrifugation a été lavé trois fois avec de l'eau distillée pour éliminer l'hémine libre attachée à la β -hematin. Le culot contenant l'hémozoïne a été solubilisé dans 50 litres (50L) de NaOH 2N et le volume a été complété à 1 ml avec du l'eau distillée.

Les résultats (Tableau 23) ont été obtenus par analyse de régression des courbes doses-réponses. (67, 68)

Le composé	CI_{50} (μg/ml)
06	16,4
A	5,66
B	5,58
C	1,76
D	2,50
E	3,46
F	3,52

G	10,6
H	10,8
I	3,74
J	15,6
K	8,38
L	Non déterminé
M	5,91
N	5,72
O	12,8
CQ	3,75

Les données sont la moyenne de trois expériences différentes en triple exemplaire.

Tableau 23: Etude de l'inhibition de la formation de β -hématine. (67,68)

Les composés **E** et **F** contenant un groupe diméthoxy et triméthoxy respectivement sur le cycle phényle (tableau 21), ainsi que le composé **I** avec un cycle furane (tableau 21) ont montré une inhibition plus remarquable (3,46 ; 3,52 ; 3,74 $\mu\text{g/ml}$) que celle de la CQ (3,75 $\mu\text{g/ml}$).

Ces derniers ont été analysés pour la dégradation de l'hémine induite par le peroxyde d'hydrogène. (67)

IV.6.3 Mesure de la dégradation d'hémine induite par le peroxyde d'hydrogène

La dégradation de l'hémine induite par le peroxyde d'hydrogène a également été évaluée en présence/absence de composés en utilisant le procédé de Loria et al avec quelques modifications.

L'inhibition a été contrôlée dans une plaque ELISA à 96 puits avec un volume réactionnel total de 200 μl pour chaque puits contenant : 25 μl d'hémine (dans du NaOH 0,1 N), 180 mg d'albumine de sérum bovin (dans du tampon d'acétate de sodium 0,2 M pH 5.1), 20 mM de H_2O_2 et 20 μM de chloroquine/composé. Les plaques ont été incubées pendant 10 min à température ambiante.

La réaction de peroxydation a été déclenchée par l'addition de H_2O_2 et suivie par mesure de la diminution d'absorption au niveau de la bande de Soret (405 nm) après 30 min

CHAPITRE IV Etude de certains MH antipaludiques à base de quinoléines

d'incubation à température ambiante, des groupes témoins (eau distillée au lieu de H₂O₂) ont également été inclus dans chaque expérience.

Les résultats (Tableau 24) ont été exprimés en pourcentage d'hémine restée dans le mélange réactionnel. (67)

Le composé	Pourcentage % d'hémine restante
témoin	43
CQ	56
E	59
F	63
I	53

Les données sont la moyenne de trois expériences différentes en triple exemplaire.

Tableau 24: Etude de l'inhibition de la dégradation d'hémine par le peroxyde d'hydrogène.

(67)

Ces résultats confirment que le composé F est le plus actif.

IV.7 Toxicité

La cytotoxicité des composés (06 : A-O) a été effectuée sur une lignée cellulaire Vero (C1008 ; fibroblaste rénal du singe) selon la méthode de Mosmann (1983) (un test colorimétrique rapide pour les essais de la croissance et la survie cellulaires appliqué aux tests de prolifération et de cytotoxicités) avec certaines modifications.

Les cellules ont été incubées pendant 72 h avec différentes dilutions de drogues en présence de sel de tétrazolium MTT pour la détection de la cytotoxicité et cela par la numérotation des cellules vivantes.

Une concentration cytotoxique de 50 % (CC₅₀) a été déterminée à l'aide d'une analyse de régression des courbes doses-réponses. L'indice de sélectivité (IS) (Tableau 25) a été calculé comme suit : $IS = CC_{50}/CI_{50}$. (67)

Le composé	IS
06	800,36
A	2364,07
B	1624,96
C	2050,61
D	668,89
E	1442,69

F	837,293
G	727,88
H	970,21
I	962,25
J	6199,63
K	1210,36
L	1040,86
M	559,50
N	1341,02
O	Non déterminé
CQ	30612

Tableau 25: Etude de la cytotoxicité in vitro des composés. (67)

Parmi tous les hybrides (**A-O**) (Tableau 21), le composé **J** qui est le plus efficace contre la souche 3D7 CQS a montré un bon indice de sélectivité (SI=6199,63) en le comparant avec les autres conjugués. Alors que le composé le plus puissant (**F**) contre la souche K1 CQR avec une $CI_{50}=82,93nM$ (Tableau 22) possède un IS= 837,293.

Le reste des conjugués ont présenté des valeurs d'IS comprises entre 387 et 2364.

Les hybrides dont la valeur d'indice de sélectivité (IS) est supérieure à 50 sont généralement considérés comme sûrs.

Ces constatations font que ces hybrides méritent d'être poursuivis comme candidats prometteurs. (67)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La stratégie des médicaments hybrides est un moyen extrêmement puissant pour résoudre les différents problèmes rencontrés avec les molécules déjà existantes, en particulier celui lié à l'émergence de la résistance des agents pathogènes à ces dernières.

Les pharmacophores des médicaments antipaludiques hybrides sont en mesure de conserver les principales caractéristiques de leurs molécules mères, en plus ils se comportent comme de nouvelles entités moléculaires avec leurs propres paramètres physico-chimiques et biologiques (l'activité, la biodisponibilité, la pharmacocinétique, ...) qui sont différents de ceux de chacun des composés individuels.

Dans notre présent travail, on s'est intéressée à l'étude des MH antipaludiques à base de quinoléines parmi lesquelles l'hybride DHA-Q (classe 01) qui a démontré le rôle crucial du pharmacophore 1,2,4-trioxane, cependant son utilisation est limitée par la disponibilité commerciale de l'artémisinine car elle est un produit naturel. Pour cela, les scientifiques se sont engagés dans des recherches approfondies pour la synthèse des peroxydes afin de trouver des molécules structurellement simplifiée avec une meilleure biodisponibilité et un faible coût de production.

La progression du développement des hybrides à base de peroxyde complètement synthétique a conduit à la découverte de plusieurs conjugués avec une activité antipaludique remarquable. Le Trioxaquine PA1103 (classe 02) a été sélectionné comme un candidat-médicament mais malheureusement son développement a été arrêté en 2010 en raison d'un manque de soutien financier.

En parallèle, les chercheurs se sont intéressés à la conception des MH possédant un pharmacophore qui agit par l'inversion de la chloroquino-résistance tel que le désipramine qui était le point de départ de la classe 4-aminoquinoléine-agent d'inversion (classe 03).

Enfin, l'hybride 4-aminoquinoléine-chalcone (classe 04) a été explorée au cours des dernières années et s'est avéré un exemple d'un hybride antipaludique efficace avec plusieurs mécanismes d'action.

Le développement continu des MH antipaludiques de différentes classes chimiques va donner à l'avenir de puissants antipaludéens capables de surmonter le problème de pharmacorésistance et ainsi améliorer la prise en charge de cette maladie, dans l'espoir de l'éradiquer complètement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Mbugua Njogu and Kelly Chibale .Current and future strategy for improving drug discovery efficiency. Attrition in the Pharmaceutical industry. (2016)
- (2) Bernard Meunier .Les molécules hybrides comme stratégie de création de nouveaux agents anti-infectieux (Hybrid molécules as strategy for the design of new anti-infective agents). Comptes Rendus Chimie Volume 14, n° 4 (avril 2011).pages 400-405.
- (3) Isa Hassan Abu-Bakar Pharmaceutical Biotechnology by Pharm. Sam Higginbottom institute of agriculture, faculty of health science, department of pharmaceutical science. Technology and science.(12 Févr. 2016)
- (4) Professeur pascale cohen, professeur marc leborgne ispb-pharmacie université lyon i. Pharmacien polytechnicien de la santé. Sciences chimiques versus sciences biologiques?
- (5) Rita capela, Ghislain g. Cabal, Philip j. Rosenthal, Jiri gut, maria m. Mota, rui moreira, francisca lopes, and miguel prude. Design and evaluation of primaquine-artemisinin hybrids as a multistage antimalarial strategy. Antimicrobial agents and chemotherapy vol. 55, no. 10. (oct 2011)
- (6) Michael decker .julius Maximilian University of würzburg, würzburg, germany. Introduction. Design of hybrid molecules for drug development. (2017).
- (7) Shalki Choudhary, Pankaj Kumar Singh, Himanshu Verma, Harpreet Singh, and Om Silakari.Success stories of natural product-based hybrid molecules for multi-factorial diseases. European Journal of Medicinal Chemistry. (2018)
- (8) J.J. Walsh¹, and A. Bell. School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Panoz Institute and Department of Microbiology, School of Genetics & Microbiology, Moyne Institute of Preventive Medicine, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland. Hybrid Drugs for Malaria. Current Pharmaceutical Design. (2009). pages 2970-2985
- (9) Bernard Meunier. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action- Dream or Reality. Accounts of Chemical Research Volume 41 issue 1 (2008)
- (10) Luciana Scotti, Francisco J.B. Mendonça-Junior and Marcus T. Scotti.Hybrid Compounds as multitarget Agents in Medicinal Chemistry Part I. Current Topics in Medicinal Chemistry Volume 17, Issue 8 (2017)
- (11) Melanie Lödige and Luisa Hirsch Institute of Organic Chemistry, University of Wurzburg, Am Hubland, Germany. Design and Synthesis of Novel Hybrid Molecules against Malaria .International Journal of Medicinal Chemistry Volume (2015)
- (12) Drishti Agarwal, Rinkoo D. Gupta, and Satish K. Awasthi.Are Antimalarial Hybrid Molecules a Close Reality or a Distant Dream? Antimicrobial agents and chemotherapy Volum 61. (2017 May)
- (13) Francis W. Muregi and Akira Ishih.Next-Generation Antimalarial Drugs: Hybrid Molecules as a New Strategy in Drug Design. DRUG DEVELOPMENT RESEARCH 71 (2010).pages20–32
- (14) Saadeh HA, Mubarak MS.Hybrid Drugs as Potential Combatants against Drug-Resistant Microbes: A Review. Current Topics in Medicinal Chemistry Volume 17, Issue 8 (2017)
- (15) Mohammad Irfan, Shadab Alam, Nikhat Manzoor, Mohammad Abid. Effect of quinoline based 1,2,3-triazole and its structural analogues on growth and virulence attributes of Candida albicans (April 21, 2017)
- (16) <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques>

- (17) Varvara Pokrovskaya & Timor Baasov Technion. Dual-acting hybrid antibiotics: a promising strategy to combat bacterial resistance. *Expert Opinion on Drug Discovery* Volume 5- Issue 9. (2010)
- (18) M.Wéry .Trypanosomoses africaines, Maladie du sommeil. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 8-504-A-20 Maladies infectieuses
- (19) Peter mbugua njogu, John okombo, Kelly Chibale .university of Nairobi, nairobi, kenya university of cape town, cape town, south africa. Chapitre 4. designed hybrid compounds for tropical parasitic diseases. *Design of hybrid molecules for drug development* (2017)
- (20) Sanofi-Aventis + OMS: alliance pour les maladies tropicales négligées
- (21) Colette Dissous, Arnaud Ahier et Thavy Long. Un nouvel espoir dans le traitement de la schistosomiase. *Med Sci (Paris)* Volume 25, Number 1 (Janvier 2009). pages 24-26
- (22) Peter Olumese. Myth or reality? *Epidemiology and surveillance: changing the global picture of malaria. Acta Tropica* 95 (2005) .pages 265–269
- (23) <https://www.who.int/>
- (24) Paludisme : Association Francaise des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) (2014). Université Médicale Virtuelle Francophone
- (25) <http://umvf.omsk-osma.ru/campus-parasitologie-mycologie/>
- (26) M. Richard-lenoble dominique. Effets des antipaludiques sur les stades hépatiques et les stades sexués (transmission) d’une plasmodie murine *plasmodium yoelii* .université françois –rabelais de tours école doctorale « santé, sciences, technologies» service de parasitologie - mycologie - médecine tropicale, faculté de médecine. (2011)
- (27) Jason Socrates Bardi. Scientists Develop Method to Map Spread of Malarial Drug Resistance available from https://www.scripps.edu/newsandviews/e_20021007/winzeler.html
- (28) Houriya Misbahi. Paludisme : mode d’action de la chloroquine et mécanisme de la chloroquinorésistance .Malaria: mode of action of chloroquine and mechanism of chloroquine resistance. Institut national des plantes médicinales et aromatiques, Taounate, USMBA, Fès, Maroc (2013)
- (29) Mark F. Wiser, *Biochemistry of Plasmodium*. Tulane University (February 26, 2019) available from : <https://www.tulane.edu/~wiser/malaria/fv.html#heme>
- (30) Mariette, régine salery. activité antipaludique de la girolle étudiée in vitro et in vivo. L’université paul-sabatier de toulouse. (2007)
- (31) Natascha chavain. Conception, synthèse, analyse structurale et activité antipaludique de dérivés de la ferroquine. Investigation des mécanismes d’action. Doctorat. Chimie organique et macromoléculaire université des sciences et technologies de lille. école doctorale sciences de la matière, du rayonnement et de l’environnement (2008)
- (32) Organisation mondiale de la santé, Genève, 2004, paludisme en Afrique (2003)
- (33) Hudson (1993) Wells (2011) Krafts (2012) Patil (2014)
- (34) Pelletier J, Caventou JB. “Recherches chimiques sur les Quinquinas”. *Annales de Chimie et de Physique* (1820) pages 289-365
- (35) Bernard meunier .Towards Antimalarial Hybrid Drugs. Chapitre 21. *Polypharmacology in Drug Discovery* (17 February 2012)
- (36) Giovanni Garavito. Etude pharmacologique expérimentale de l’activité antipaludique d’un composé de synthèse: le chlorure de méthylthionium. *Pharmacologie*. Université Paul Sabatier - Toulouse III, (2007). Français, pages 39-40.
- (37) Gentilini m. *médecine tropicale* 5^{ème} édition .médecine-sciences flammariion (1993)

- (38) White NJ. Antimalarial Drugs. (Mar 10, 2015) .Available from : <https://www.malariasite.com/malaria-drugs/>
- (39) Luiz c.s. Pinheiro, lívia m. Feitosa, flávia f. Da silveira and Nubian boechat. Current antimalarial therapies and advances in the development of semi-synthetic artemisinin derivatives anais da academia brasileira de ciências (annals of the Brazilian academy of sciences). (2018).
- (40) Dr d filisetti & pr l monassier .les antipaludeens. Chapitre 16 : item 99:paludisme, argumenter l'attitude thérapeutique et planifier le suivi du patient.faculté de médecine de strasbourg, module de pharmacologie clinique (janvier 2012)
- (41) Rajani Kanta Mahapatra¹, Niranjan Behera¹ & Pradeep Kumar Naik Molecular modeling and evaluation of binding mode and affinity of artemisinin-quinine hybrid and its congeners with Fe-protoporphyrin-IX as a putative receptor.Bioinformation : discovery at the interface of physical and biologic
- (42) Boumbéwendin gérard josias yameogo. Nano-assemblages à base de cyclodextrines modifiées chargés d'artémisinine pour le traitement du paludisme grave l'université de grenoble et l'universite d'ouagadougou (23 mars 2012)
- (43) Boure p., ng.van, ph.taugoudeau et anh, le paludisme .ed. Smith kline beecham sb (1993) page 2l sciences. Volume8. (2012)
- (44) Xhamla Nqoro, Naki Tobeka and Blessing A. Aderibigbe.Quinoline-Based Hybrid Compounds with Antimalarial Activity.Department of Chemistry, University of Fort Hare, Alice Campus, Alice 5700, Eastern Cape, South Africa (2017).
- (45) Shikha S. Chauhan, Moni Sharma, and Prem M. S. Chauhan Trioxaquinines: hybrid molecules for the treatment of malaria Division of Medicinal and Process Chemistry, Central Drug Research Institute, CSIR, Luck now) Drug News & Perspective (2014) pages :632-646
- (46) Stéphanie Vandekerckhove and Matthias D'hooghe SynBioC Research Group, Quinoline-based antimalarial hybrid compounds Department of Sustainable Organic Chemistry and Technology, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, B-9000 Ghent, Belgium
- (47) Sunny Manohar, Diwan S Rawat, Mohit Tripathi.4-aminoquinoline Based Molecular Hybrids as antimalarials.Article in Current Topics in medicinal chemistry. (July 2014)
- (48) Rudi Oliveira a, Daniela Miranda a, Joana Magalhães a, Rita Capela a, Maria J. Perry a, Paul M. O'Neill b, Rui Moreira a, Francisca LopesFrom hybrid compounds to targeted drug delivery in antimalarial therapy. Bioorganic & Medicinal Chemistry
- (49) John J. Walsh, David Coughlan, Nicola Heneghan, Caroline Gaynor and Angus Bell .A novel artemisinin–quinine hybrid with potent antimalarial activity. School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Panoz Institute, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland)
- (50) Frederic Cosledana Laurent Fraisseb, Alain Pelletb, Francois Guillouc, Benjamin Mordmullerd, Peter G. Kremsnerd, Alicia Morenof, Dominique Mazierfgh, Jean-Pierre Maffrandb, and Bernard Meuniera .PNAS : Selection of a trioxaquine as an antimalarial drug candidate (2008)
- (51) Ahmed-Mehdi Benididir. Recherche de composés à activité antiplasmodiale à partir de la biodiversité malgache. Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Page 226.
- (52) W.Peters and WHG.Richards.Antimalarial Drug II: Current Antimalarial and New Drug Developments(1984)

- (53) Anne Robert .Le fer de l'hème : cible pour la chimiothérapie des parasites hématophages « Le fer dans tous ses états : passé, présent et futur », Paris, 3-4 Laboratoire de chimie de coordination du CNRS, Toulouse. (décembre 2015)
- (54) Rachel D. Slack, Alexander M. Jacobine and Gary H. Posner Antimalarial peroxides: advances in drug discovery and design MedChemComm Issue 3, (2012)
- (55) Terentev, Dmitry A. Borisov, Vera A. Vil and Valery M. Dembitsky .Beilstein. Synthesis of five- and six-membered cyclic organicperoxides: Key transformations intoperoxide ring-retaining productsAlexander O. J. Org. Chem. (2014)
- (56) Vladimir V. Kouznetsov, Alicia Gomez-Barrio .Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation.
- (57) <http://lasersprint.com/palumed/spip.php?article1>
- (58) Carver, Peggy L.With ,Meunier, Bernard et al M Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic.(2019)
- (59) Bernard Meunier, and Anne Robert. Heme as trigger and target for trioxane containing antimalarial drugs. Accounts of chemical research palumed, 3 rue de l'industrie, z. I. Vic, 31320 castanet-tolosan, France, and laboratoire de chimie de coordination du cnrs, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France (also the address of b.m. From 1979 to 2006)
- (60) Steven J. Burgess, Audrey Selzer, Jane Xu Kelly, Martin J. Smilkstein, Michael K. Riscoe, and David H. Peyton .A Chloroquine-like Molecule Designed to Reverse Resistance in Plasmodium falciparum. J. Med. Chem. (2006), 49, 5623-5625.
- (61) Drug Resistance Updates Volume 9 issue 4-5 2006 Donnelly A. van Schalkwyk; Timothy J. Egan - Quinoline-resistance reversing agents for the malaria parasite Plasmodium.
- (62) Marshall Hunter .Chapter 6 항우울약물 Antidepressants.
- (63) Egan et al. (2000); Madrid et al. (2006)Hocart et al. (2011) Peyton et al.2012
- (64) Apurba K. Bhattacharjee, Dennis E. Kyle, Jonathan L, Vennerstrom, and Wilbur K. Milhous. A 3D QSAR Pharmacophore Model and Quantum Chemical Structure-Activity Analysis of Chloroquine (CQ)-Resistance Reversal. J. Chem. Inf. Comput. Sci .Pages:1212-1220. (2002)
- (65) Antimicrob. Agents Chemother Simplified Reversed Chloroquines to Overcome Malaria Resistance to Quinoline-based Drugs Bornface Gunsaru, Steven J Burgess, David H Peyton and authorsBioorganic & Medicinal Chemistry Letters Volume 21, Issue 1, 1 January 2011, Pages 250-254
- (66) Simeon Andrews,Steven J. Burgess,Deborah Skaalrud, Jane Xu Kelly,and David H. Peyton.Reversed Chloroquine Molecules as a Strategy to Overcome Resistance in Malaria. J Med Chem.Pages: 916–919. (2011 Jan 28)
- (67) Koneni V. Sashidhara , Srinivasa Rao Avula , Gopala Reddy Palnati , Shiv Vardan Singh , Kumkum Srivastava , Sunil K. Puri , J. K. Synthesis and in vitro evaluation of new chloroquine-chalcone hybrids against chloroquine-resistant strain of Plasmodium falciparum. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. Saxena.journal homepage.(2012)
- (68) Lan and Vipran Kumar, Raghu Raj, Kirkwood M .4-Aminoquinoline-Hybridization en Route Towards the Development of Rationally Designed Antimalarial Agents.Article in RSC Advances.

- (69) A.V. Pandey, N. Singh, B.L. Tekwani, S.K. Puri, V.S. Chauhan, Assay of b-hematin formation by malaria parasite. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. An International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Aruna Asaf Ali Marg, New Delhi 110 067, India Central Drug Research Institute, Lucknow 226 001, India. (1999) pages 203–207

Résumé

Le paludisme est une parasitose due à l'infection des érythrocytes par un protozoaire hématophage du genre « Plasmodium ».

Le développement des souches résistantes aux antipaludéens existants, l'insuffisance de l'offre de médicaments par rapport à la demande, et la mauvaise observance contribuent à la gravité de cette pathologie ce qui a motivé l'exploration de nouvelles thérapies telle que la stratégie des médicaments hybrides.

Les médicaments hybrides antipaludiques sont des drogues obtenus par une liaison covalente entre deux pharmacophores (ou plus), possèdent donc un double mode d'action.

Ces nouvelles molécules antipaludiques sont actives sur les souches résistantes aux drogues classiques et sont donc un espoir pour le traitement futur du Paludisme.

Mots clés : Paludisme, médicaments hybrides, antipaludiques, pharmacophores, double mode d'action.

Abstract

Malaria is an infection of red blood cells caused by protozoan of the genus "Plasmodium".

The development of resistive strains toward antimalarial existing drugs, the insufficiency of drugs compare to demand, and the bad survey contribute to the severity of this pathology which has urged to explore new therapies such as Hybrid Drugs Strategy.

The hybrid antimalarial drugs are a kind of drugs obtained through a covalent bond linking two (or more) pharmacophores and using a dual-action mode.

Those new antimalarial molecules are sensitive toward usual drugs resistant strains and are then, a perspective of future cure of Malaria.

Keywords: Malaria, hybrid drugs, antimalarial, pharmacophore, dual-action mode.