

LES MODES D'ACTION DES ANTIPALUDIQUES INTERET DE L'ASSOCIATION ATOVAQUONE-PROGUANIL

J.E. TOUZE, L. FOURCADE, B. PRADINES, P. HOVETTE, P. PAULE, PH. HENO

Med Trop 2002; **62** : 219-224

RESUME • La compréhension des différents modes d'action cellulaires des agents antipaludiques est essentielle pour optimiser leur emploi et comprendre les mécanismes qui sont impliqués dans la résistance plasmodiale. Les cibles thérapeutiques sont essentiellement représentées par la vacuole digestive de *Plasmodium*, le système mitochondrial et l'apicoplaste qui est un organe intra cytoplasmique récemment identifié chez *Plasmodium falciparum*. Celui-ci serait le siège de nombreuses voies métaboliques essentielles à la survie du parasite. Il interviendrait aussi dans la réplication et la transcription de l'ADN. Les antipaludiques sont classés en trois groupes en fonction de leur site d'action : ceux qui agissent sur la vacuole nutritive, ceux qui bloquent la synthèse métabolique et les processus oxydatifs et les molécules qui interviennent sur les processus membranaires. La connaissance de ces différents sites d'action a permis d'identifier de nouvelles molécules « têtes de série » au développement prometteur. Dans cette attente, la stratégie antipaludique consiste actuellement à privilégier les associations d'antipaludiques (association atovaquone/proguanil, artemether/luméfántrine...) et les traitements prolongés afin de limiter l'apparition des résistances plasmodiales.

MOTS-CLES • Paludisme - Mode d'action - Résistance - Antipaludiques - Association atovaquone/proguanil.

MODES OF ACTION OF ANTIMALARIAL DRUGS. VALUE OF COMBINED ATOVAQUONE/PROGUANIL

ABSTRACT • Determining the mode of action of different antimalarial drugs at the cellular level is essential to optimizing their use and to understanding the mechanisms underlying plasmodial resistance. The main targets for antimalarial drugs in *Plasmodium falciparum* have been the food vacuole and mitochondrial system. A new target is recently discovered organelle named the apicoplast. The apicoplast is the site of a number of metabolic pathways crucial to the survival of the parasite. It may also be involved in DNA replication and transcription. Antimalarial drugs are classified into three groups according to site of action, i.e., drugs that act on the food vacuole, drugs that block metabolic synthesis and oxidative processes, and drugs that interfere with membrane processes. Knowledge of these sites of action has enabled identification of new drugs with the most promising potential for development. Current antimalarial strategies prioritize combination therapies such as atovaquone/proguanil or artemether/lumefantrine and prolonged treatments to limit the risk of inducing drug resistant *Plasmodium*.

KEY WORDS • Malaria - Mode of action - Resistance - Antimalarial drugs - Combined atovaquone/proguanil.

Nous disposons dans le traitement du paludisme de molécules anciennes qui ont rendu d'indéniables services mais dont l'efficacité a été limitée au cours des dernières décennies par l'émergence et l'extension des résistances plasmodiales. Les progrès de la biochimie et de la biologie moléculaire ont permis de mieux appréhender le mode d'action cellulaire des différentes molécules antipaludiques connues. Surtout, une meilleure connaissance du *Plasmodium* et de son comportement au sein de la cellule parasitée a permis d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et de découvrir l'activité antiplasmodiale de molécules utilisées dans d'autres affections. Face à une résistance plasmodiale en progression constante, le traitement antipaludique doit comme dans la

plupart des maladies infectieuses recourir à l'association de plusieurs molécules ayant des cibles cellulaires différentes et une synergie d'action. C'est dans cet esprit que des associations d'antipaludiques ont pu être évaluées en Afrique (association artesunate-amodiaquine par exemple) et que de nouvelles molécules comprenant deux principes actifs ont été mises sur le marché ces dernières années. L'association atovaquone-proguanil et artemether/luméfántrine en sont les meilleurs exemples.

LES CIBLES PLASMODIALES DES ANTIPALUDIQUES

Le plasmodium dispose pour son développement intraérythrocytaire d'un métabolisme et de moyens de défense spécifiques qui constituent autant de cibles aux antipaludiques. On distingue ainsi :

- la vacuole nutritive du parasite qui est le siège de la digestion de l'hémoglobine, de la cristallisation de l'hème et où l'on retrouve des moyens de défense contre le stress oxydant ;

• Travail de l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées (J.E.T., Professeur agrégé du SSA ; L.F., P.H., Ph.H., Spécialistes du SSA, B.P., Pharmacien du SSA, P.P., Assistant du SSA), Marseille, France

• Correspondance : JE TOUZE, Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, BP 46, Le Pharo, 13998, Marseille Armées, France
• e-mail : jetouze@aol.com

- un cytoplasme comportant deux organites essentiels : (i) le système mitochondrial où se déroulent le transfert d'électrons et les processus enzymatiques indispensables à la glycolyse et à la production d'énergie; (ii) l'apicoplaste qui est un reliquat d'un ancien chloroplaste. Il est le siège de nombreux processus cellulaires et de voies de synthèse comme la réplication de l'ADN, la transcription, la translocation. Il intervient aussi, comme le cytoplasme, dans le métabolisme protéique et la synthèse des acides gras (1);

- une membrane constituée de phospholipides, de canaux calciques et parasitophores. Elle est le siège d'un trafic nutritionnel et dispose de protéines kinases intervenant dans la transduction du signal.

Le métabolisme vacuolaire

La vacuole nutritive du plasmodium dispose comme tous les lysosomes des cellules eucaryotes d'un pH acide et d'enzymes telles que des hydrolases, des protéinases et des phosphatases acides.

• La digestion de l'hémoglobine

La digestion de l'hémoglobine s'effectue en quelques heures lors du cycle érythrocytaire. Elle est effectuée par des protéinases vacuolaires (aspartique protéases plasmapepsines I, II III et IV; cystéine protéases falcipaine-1,2; falcilysine). Elles assurent le clivage de l'hémoglobine, la démantelant ainsi pour une future protéolyse. Ces protéinases vacuolaires sont des cibles thérapeutiques prometteuses. Leur développement se heurte pour le moment à l'identification d'inhibiteurs spécifiques du parasite n'ayant aucun effet sur les protéinases de l'hôte.

• La cristallisation de l'hème

Les plasmodies ingèrent et dégradent l'hémoglobine pour obtenir des acides aminés indispensables à leur survie. La ferriprotoporphyrine IX (ou Béta-hématine) qui est un produit de cette dégradation est un hème oxydé qui se lie à un récepteur spécifique du parasite, en l'occurrence « la protéine liant l'hème » pour former le pigment malarique ou hémozoïne, produit non toxique. Le mécanisme de détoxification de l'hème reste encore imprécis avec l'implication possible d'une hème polymérase ou de la protéase II riche en histidine (HRPII). L'hémozoïne pourrait être aussi synthétisée par cristallisation non enzymatique.

• Le stress oxydant

Comme la plupart des microorganismes, les plasmodies sont capables de déclencher une cascade de réactions oxydatives au sein des macrophages et des polynucléaires. Elles font intervenir une peroxydase, de l'eau oxygénée et différentes enzymes dont la glucose-oxydase. Les réactions de peroxydations qui en découlent aboutissent à la production de radicaux libres (ions superoxydes, radical hydroxyl...) toxiques pour le parasite. Sous l'effet d'un stress oxydant plusieurs événements surviennent : (i) un ralentissement de la croissance parasitaire bien documenté lors des tests d'incorporation *in vitro* de l'hypoxanthine tritiée ; (ii) une peroxydation des lipides membranaires responsable d'une modification de la perméabilité membranaire avec fuite du K⁺ intracellulaire ; (iii) une formation de méthémoglobine qui

limite l'approvisionnement en acides aminés indispensables au métabolisme du Plasmodium. Pour échapper aux conséquences du stress oxydatif cellulaire, le Plasmodium infecte préférentiellement les hématies jeunes riches en enzymes détoxifiantes et dispose d'enzymes protectrices (diverses superoxydes dismutases, glutathion-réductase, catalase et glucose-6-phosphate-deshydrogénase) qui lui permettent de résister aux produits oxydants. La voie du stress oxydatif est utilisée en thérapeutique en ayant recours soit à des composés oxydoréducteurs pouvant catalyser la production d'oxydants et de radicaux libres dans l'hématie parasitée (dérivés de l'artémisisinine, naphthoquinones, primaquine, desferrioxamine), ou à des oxydants directs comme les peroxydes (2,3,4).

Les processus cytoplasmiques

• Le métabolisme des acides nucléiques

Les nucléotides constituant de l'ADN et de l'ARN prennent une part importante dans la synthèse protéique et dans de nombreux processus biochimiques de l'hôte et du parasite. Ce dernier, à l'inverse de nombreux eucaryotes est dépourvu de purine de novo. Il est tributaire de l'hôte pour son approvisionnement en précurseurs de bases puriques et est incapable de synthétiser et utiliser les bases pyrimidiques préformées. A contrario, à l'inverse des organismes eucaryotes il peut à la fois utiliser les folates exogènes et assurer leur synthèse. Cette incapacité à disposer d'une synthèse protéique suffisante est un facteur limitant au bon fonctionnement de la chaîne d'électrons mitochondriale. Celle-ci est en grande partie dépendante d'une enzyme également essentielle dans la biosynthèse des pyrimidines, la Dihydroorotate-deshydrogénase (DHODase). Dans ce métabolisme protéique, la synthèse d'ADN et d'ARN est régie par plusieurs enzymes. La DNA polymérase présente dans toutes les cellules eucaryotes, la Ribonucléotide réductase (RNase) et les Topoisomérases I et II. L'ARN polymérase qui intervient dans la régulation du cycle cellulaire assure pour sa part le maintien du superenroulement de l'ADN parasitaire. Le rôle de ces différentes enzymes est essentiel dans la différenciation cellulaire et la synthèse protéique. Elles sont pour la plupart, hormis la DNA polymérase, d'excellentes cibles thérapeutiques. On peut ainsi bloquer l'action de la RNase en utilisant des chélateurs du fer comme la desferrioxamine. Les Topoisomérases peuvent être également inhibées par des antibiotiques comme les fluoroquinolones.

• La voie des folates

Les folates et leurs métabolites sont essentiels à la synthèse des nucléotides et sont d'importants donneurs de groupements méthyles. Le tétrahydrofolate, produit de réduction du dihydrofolate par la dihydrofolate réductase (DHFR) est un coenzyme clef du métabolisme des nucléotides. Dans le modèle de *Plasmodium falciparum*, il est synthétisé de novo par le parasite et intervient dans la biosynthèse des pyrimidines et des acides aminés. Plusieurs enzymes de cette voie métabolique sont des cibles thérapeutiques connues comme la dihydroorotate synthétase

(DHPS), la DHFR, ou potentiellement telle la thymidylate synthétase (TS).

Chez *Plasmodium falciparum*, la plupart des études ont montré que la résistance aux antifoliniques passe par une inhibition de la DHFR et/ou de la DHPS (5). Dans le cas des antifoliniques, la résistance de *Plasmodium falciparum* est liée à des mutations ponctuelles sur des acides aminés précis du gène DHFR. Ceci entraîne une perte d'affinité entre l'enzyme mutée et l'antifolinique. La présence d'une seule mutation du codon 108 du gène DHFR est hautement corrélée à la résistance *in vitro* à la pyriméthamine et au cycloguanil (6). Comme pour les antifoliniques, la résistance à la sulfadoxine et aux sulfones est liée à des substitutions d'acides aminés qui modifient la conformation du site actif de la DHPS. Cinq sites de mutations ponctuelles ont été identifiés sur le gène DHPS et le codon 437 a été considéré dans des travaux récents comme le codon clé de la résistance à la sulfadoxine (7).

• Les fonctions mitochondriales

Le transport d'électrons et la synthèse protéique sont aussi essentiels que la glycolyse pour fournir de l'énergie au parasite. Ainsi, l'inhibition de la chaîne de transport des électrons entraîne un gonflement et une duplication des membranes mitochondriales. Ces perturbations cellulaires ont des conséquences directes sur la chaîne respiratoire et sur toutes les réactions dépendantes du cytochrome P-450. De telles modifications sont obtenues en thérapie antimalarique avec les amino-8 quinoléines (Primaquine) et les naphthoquinones.

• La synthèse des phospholipides

Le développement intra-érythrocytaire de *Plasmodium falciparum* s'accompagne d'une biosynthèse de phospholipides (phosphatidylcholine et éthanolamine) qui interviennent pour une grande part dans la composition de la membrane du parasite. Pour bloquer cette néogénèse membranaire, une nouvelle approche a été initiée par Vial et Coll (8). La stratégie développée concerne le blocage du transporteur de la choline qui fournit au parasite le précurseur de la phosphatidylcholine. Les synthèses chimiques déjà réalisées ont permis d'obtenir des composés ayant une activité *in vitro* supérieure ou égale à la plupart des antipaludiques courants. L'absence de résistance croisée et un index thérapeutique élevé sur le modèle primate infecté par *Plasmodium falciparum* ou *Plasmodium vivax* font de ces composés un modèle pharmacologique prometteur. Une stratégie prodrogues et l'optimisation de nouveaux composés ayant une meilleure biodisponibilité et administrables par voie orale est actuellement en cours (9).

• L'assemblage de la tubuline

La tubuline est un élément indispensable au maintien de l'architecture des parasites. Sa fabrication qui dépendrait de processus cytoplasmiques (rôle de l'apicoplaste ?) pourrait être bloquée par des agents cytotoxiques. Des données expérimentales ont ainsi montré que le Taxotère, connu pour ses propriétés anticancéreuses est capable de se lier à la tubuline polymérisée et d'inhiber la dépolymérisation des cellules cancéreuses. Une action similaire a été observée *in vitro* sur les trophozoïtes jeunes de *Plasmodium falciparum* avec une

CI50 1000 fois plus basse que celle obtenue en thérapie anticancéreuse (10). Cette voie thérapeutique n'a pas jusqu'ici connu d'autres développements.

Les fonctions membranaires

• Le trafic nutritionnel

Le plasmodium lors de son cycle érythrocytaire induit de profondes modifications de la membrane des hématies parasitées qui deviennent plus perméables, permettant au parasite de s'approvisionner plus facilement en nutriments (ions, sucres, acides aminés...). Le passage de ces divers nutriments se fait au travers de canaux parasitophores et d'un réseau tubulovésiculaire intracytoplasmique reliant la membrane du parasite à la vacuole nutritive (4, 11).

• La transduction du signal

La membrane plasmodiale est le siège de voies de phosphorylation impliquant des kinases indispensables à la transduction du signal. Ce mécanisme est nécessaire au parasite pour assurer sa croissance et pour qu'il exprime son pouvoir pathogène. Ces voies impliquent des protéines-kinases plasmodiales qui interviennent dans les voies de phosphorylation. Les protéines kinases sont difficiles à purifier et le blocage de leurs gènes codants est pour le moment difficile (10). Grâce aux techniques de microarrays récemment mises en place au sein des génomes, il est possible d'identifier les gènes plasmodiaux impliqués dans la transduction du signal. Plusieurs familles de protéines-kinases dépendantes du calcium et deux gènes ont déjà été identifiés (12, 13). D'autres ont depuis été impliquées dans la transduction du signal (PfCPK, PfCPK2, CDK, PKA, Pfnek-1) (14-16). Ces avancées ouvrent la voie à la synthèse de protéines recombinantes susceptibles de bloquer la transduction du signal et de limiter les effets pathogènes de *Plasmodium falciparum* sur la cellule hôte.

• Le transport membranaire et la résistance aux antipaludiques

Les similitudes constatées entre la résistance des cellules néoplasiques aux molécules cytostatiques et la résistance de *Plasmodium falciparum* à la chloroquine ont permis de mettre en exergue le rôle des canaux calciques membranaires et de protéines impliquées dans l'efflux médicamenteux (17). Dans le modèle plasmodial, l'efflux de la chloroquine et des autres quinoléines antipaludiques protège le parasite de toute modification du pH vacuolaire (18). Ce processus est médié par des P-glycoprotéines transmembranaires avec trois molécules candidates : le Pgh1 (produit d'expression du gène *pfmdr1*), le cg2 et le cg10 qui seraient propres à *Plasmodium falciparum* (19). Les mutations du gène *pfmdr1* expliqueraient la résistance *in vitro* aux amino-alcools (quinine, méfloquine, halofantrine). La protéine Pgh1 partage des motifs communs avec les protéines de transport membranaire appartenant à la famille ABC (ATP Binding Cassette). Ces protéines entreraient au travers des canaux calciques transmembranaires un efflux des antipaludiques de la vacuole nutritive du para-

site (19, 20). Ce mécanisme d'efflux actif des drogues et de régulation du pH vacuolaire au cours du cycle érythrocytaire peut être supprimé *in vitro* en bloquant les canaux calciques par des inhibiteurs spécifiques (Vérapamil) ou en modulant l'efflux vacuolaire par d'autres molécules comme les antidépresseurs tricycliques (desipramine, amitriptyline), les phénothiazines (chlorpromazine) et des antihistaminiques de classe I (cyproheptadine, chlorpheniramine) (2, 21).

MODES D'ACTION DES PRINCIPAUX ANTIPALUDIQUES

Les principaux antipaludiques peuvent être classés en fonction de leur mode d'action en deux catégories :

- les schizonticides sanguins. Ce groupe comprend toutes les molécules ayant un noyau quinoléique : les amino-4-quinoléines, les aminoalcools (quinine, méfloquine, halofantine), les bases de Mannich (amodiaquine, pyronandine) et les dérivés de l'artémisinine dont le site d'action principal est la vacuole nutritive acide du plasmodium.

- les inhibiteurs des acides nucléiques regroupant les antifolates, les bloqueurs mitochondriaux dont les naphtoquinones (atovaquone en particulier) et les amino-8-quinoléines agissant principalement sur les stades pré-érythrocytaires.

Les schizonticides

• Les dérivés quinoléiques

Les antipaludiques contenant un noyau quinoléine se répartissent en deux groupes : les quinoléiques de type 1 représentés essentiellement par les amino-4-quinoléines (chloroquine et amodiaquine) et les quinoléiques de type 2 représentés par les aryl-amino-alcools (quinine, halofantine et méfloquine). Les quinoléiques de type 1 sont des bases faibles, diprotoniques et hydrophiliques à pH neutre (la chloroquine a un $Pka = 8,1$ et un $pH = 10,2$). *A contrario*, les quinoléiques de type 2 sont des bases plus faibles et sont liposolubles à pH neutre. Toutes ces molécules s'accumulent dans la vacuole des plasmodies et modifient le pH vacuolaire qui est maintenu acide à l'état basal par une pompe à protons ATP-dépendante. Les molécules protonées sont 100 à 1000 fois plus diffusibles que les formes non protonées, ce qui explique la facile accumulation intravacuolaire des amino-4-quinoléines et des principaux amino-alcools. La modification du pH induite par ces différentes quinoléines perturbe le métabolisme vacuolaire qui devient inapte à digérer l'hémoglobine et à cristalliser l'hème (action lisosomotrope). Il convient de souligner ici la différence de pH vacuolaire entre les souches sensibles et chloroquino-résistantes. Ces dernières ont un pH très acide dont la neutralisation est plus difficile. Le passage passif du milieu extérieur vers l'intérieur du parasite pourrait être facilité par un transporteur membranaire comme Pgh-1 ou PfCRT (19). A l'inverse de la chloroquine, les amino-alcools qui sont pour la plupart monoprotoniques s'accumulent plus lentement au sein de la vacuole.

• Les dérivés de l'artémisinine

Tous les dérivés de l'artémisinine qu'ils soient extraits de plantes ou semi-synthétiques (artésunate, dihydroartémisinine, artémether, arté-éther) sont actifs quelque soit le stade du cycle schizontonique et sont, de fait, utilisés dans le paludisme non compliqué et dans les formes graves du paludisme. Leur mode d'action est incomplètement élucidé. Il est probable que le site actif de ces composés soit le pont endopéroxyde de la molécule. Celui-ci faciliterait la libération de radicaux libres de l'oxygène qui sont toxiques pour le Plasmodium (23). La spécificité d'action des dérivés de l'artémisinine serait liée à la formation d'un complexe artémisinine-hème au sein de la vacuole nutritive du parasite. Ce complexe libérerait des radicaux libres qui sont toxiques pour les constituants cellulaires. Les dérivés de l'artémisinine agirait ainsi à la fois comme activateur du stress oxydatif et comme inhibiteur de la digestion de l'hémoglobine et de la cristallisation de l'hème dans la vacuole parasitaire (24). Ils seraient sur ce plan proche des amino-4-quinoléines et des amino-alcools dont ils diffèrent par un niveau très élevé de chimiosensibilité. En effet, hormis quelques cas isolés de diminution de sensibilité *in vitro* (25), aucun cas de résistance *in vivo* n'a pour le moment été documenté avec cette classe d'antipaludiques.

Les inhibiteurs des acides nucléiques

• Les antimétabolites

Les antimétaboliques sont répartis en deux groupes :

- les antifoliques (sulfamides et sulfones) qui agissent en inhibant la dihydroptéroate synthétase qui produit l'acide folique ;

- les antifoliniques (proguanil, pyriméthamine, quinazolines) qui inhibent la DHFR qui intervient dans la production d'acide folique. L'inhibition de la DHFR bloque la transformation du dihydrofolate en tétrahydrofolate qui est un cofacteur essentiel dans la biosynthèse du thymidilate, des bases puriques et de nombreux acides aminés. Ces molécules sont actives à des degrés divers sur les stades hépatiques et érythrocytaires du cycle plasmodial (26). Ces deux familles d'antimétabolites lorsqu'elles sont associées en thérapeutique agissent séquentiellement sur la même voie métabolique du parasite, ce qui permet en théorie de retarder l'apparition des résistances.

• Les naphtoquinones et l'association atovaquone-proguanil

L'atovaquone est une hydro naphtoquinone active sur de nombreux protozoaires dont *Pneumocystis carinii*. Elle est utilisée en thérapeutique antipaludique en association avec le proguanil. L'atovaquone seule est un inhibiteur puissant des fonctions mitochondriales en bloquant la chaîne de transfert d'électrons au niveau de son enzyme clé, la dihydroorotate deshydrogénase. L'inhibition de la DHODase empêche la biosynthèse de l'orotate et toutes les étapes biochimiques qui suivent, entraînant ainsi une inhibition de la fabrication des bases pyrimidiques (27, 28). L'atovaquone inhibe aussi la chaîne respiratoire mitochondriale en inter-

venant au niveau du complexe cytochrome bc1 en se substituant à l'ubiquinone, principale quinone de *Plasmodium* (29). Ce mécanisme d'action original a malheureusement peu d'impact thérapeutique lorsque l'atovaquone est utilisée isolément, car le *Plasmodium* développe rapidement des mécanismes de résistance (30). Lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec un antimétabolite comme le proguanil on observe une intéressante synergie d'action grâce à une inhibition séquentielle de la synthèse des pyrimidines. Cette synergie d'action n'est observée qu'avec le proguanil et non avec les autres antimétabolites comme la pyriméthamine ou le cycloguanil qui est le métabolite actif du proguanil. Le proguanil n'agit pas, comme on pourrait le penser, sur la DHFR. En combinaison avec l'atovaquone, il modifierait le potentiel transmembranaire de la mitochondrie. En thérapeutique antipaludique, toutes les études expérimentales et les nombreux essais cliniques ont montré l'efficacité antipaludique de l'association atovaquone-proguanil aussi bien en traitement curatif que prophylactique (31-33). Avec une posologie de 1 000 mg d'atovaquone et de 400 mg de proguanil délivrée en trois jours, une guérison clinique et une cure parasitaire est obtenue dans près de 99 % des cas traités (31, 32). Une originalité de l'association atovaquone-proguanil par rapport aux autres antipaludiques serait sa possible action sur les stades hépatocytaires de *Plasmodium falciparum*. Dans une étude comparative versus placebo menée chez 16 volontaires soumis à un challenge plasmodial et traité pendant 7 jours, aucune parasitémie n'a été détectée après l'arrêt de la chimioprophylaxie (34). Ces résultats permettent l'arrêt de la chimioprophylaxie par atovaquone-proguanil sept jours après le retour de la zone d'endémie, alors que la durée actuellement recommandée avec les autres antipaludiques est de quatre semaines.

• Les antibiotiques

Certains antibiotiques comme les tétracyclines (doxycycline), les macrolides (érythromycine, azithromycine, clindamycine), la ciprofloxacine et la rifampicine ont une activité *in vitro* et *in vivo* sur les souches plasmodiales. Ils agissent tous sur l'apicoplaste de *Plasmodium falciparum*. Toutes ces molécules interviennent sur la voie des acides nucléiques et modifient la synthèse protéique apicoplastique en agissant sur les ribosomes 70 S (1).

CONCLUSION

Avec le développement de la chimie combinatoire, l'identification de nouvelles molécules « têtes de série » issues du criblage de chimiothèques et les progrès considérables obtenus au cours des deux dernières années dans le séquençage du génome plasmodial, de nouvelles potentialités thérapeutiques ont été entrevues. Mais un « gap » important reste à combler entre l'identification d'une molécule candidate, et toutes les étapes précliniques (optimisation, développement de prodrogues, pharmacotoxicité...) indispensables au développement d'un antipaludique utilisable sur le terrain. Une telle recherche est longue, coûteuse

et ne peut aboutir sans une large implication de l'industrie. Dans cette attente, il convient pour le moment de mieux utiliser les molécules existantes, d'optimiser leur biodisponibilité et recourir comme dans toutes les maladies infectieuses graves aux associations de molécules synergiques et aux traitements prolongés. Ce choix, s'il avait été réalisé plus tôt, aurait certainement limité le développement des résistances plasmodiales qui est l'enjeu majeur de la lutte antipaludique actuelle.

REFERENCES

- 1 - RALPH SA, D'OMBRAIN MC, MCFADDEN GI - The apicoplast as an antimalarial target. *Drug Resistance Updates* 2001; **4** : 145-151.
- 2 - BASCO LK, RUGGIERI C, LE BRAS J - Molécules antipaludiques: Mécanismes d'action; Mécanismes de Résistance; Relations Structure-Activité des Schizonticides Sanguins. Masson ed, Paris, Milan, Barcelone, 1994, 1 vol, pp 1-364.
- 3 - OLLIARO P, YUTHAVONG Y - An overview of chemotherapeutic targets for antimalarial drug discovery. *Pharmacol Ther* 1999; **81** : 91-110.
- 4 - OLLIARO P - Mode of action and mechanisms of resistance for antimalarial drugs. *Pharmacol Ther* 2001; **89** : 207-219.
- 5 - WANG P, READ M, SIMS PF, HYDE JE - Sulfadoxine resistance in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* is determined by mutations in dihydropteroate synthetase and an additional factor associated with folate utilization. *Mol Microbiol* 1997; **23** : 979-986.
- 6 - PARZY D, DOERIG C, PRADINES B *et Coll* - Proguanil resistance in *Plasmodium falciparum* African isolates : assessment by mutation specific polymerase chain reaction and *in vitro* susceptibility testing. *Am J Trop Med Hyg* 1997; **58** : 354-357.
- 7 - WANG P, LEE CS, BAYOUMI R *et Coll* - Resistance to antifolates in *Plasmodium falciparum*, monitored by sequence analysis of dihydropteroate synthetase and dihydrofolate reductase alleles in a large number of field samples of diverse origins. *Mol Biochem Parasitol* 1997; **8** : 161-177.
- 8 - VIAL H - Recent developments and rationale towards new strategies for malarial chemotherapy. *Parasite* 1996; **3** : 3-23.
- 9 - CALAS M, ANCELIN ML, CORDINA G *et Coll* - Antimalarial activity of compounds interfering with *Plasmodium falciparum* phospholipid metabolism: comparison between mono- and bisquaternary ammonium salts. *J Med Chem* 2000; **43** : 505-516.
- 10 - POUVELLE B, FARLEY PJ, LONG CA, TARASHI TF - Taxol arrests the development of blood stage *Plasmodium falciparum in vitro* and *Plasmodium chabaudi adami* in malaria infected mice. *J Clin Invest* 1994; **94** : 413-417.
- 11 - GERO AM, KIRK K - Nutrient transport pathways in *Plasmodium* infected erythrocytes : what and where are they? *Parasitol Today* 1994; **10** : 395-399.
- 12 - DOERIG CD - Signal transduction in malaria parasites *Parasitol Today* 1997; **13** : 307-313.
- 13 - FARBER PM, GRAESER R, FRANKLIN RM, KAPPES B - Molecular cloning and characterization of a second calcium-dependent protein kinase of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 1997; **87** : 211-216.
- 14 - DOERIG C, BOCCACCIO I, PARZY D - Regulation of differentiation in *Plasmodium falciparum* : a role for cydin-dependent and mitogen-activated protein kinases ? *South African J Sci* 1998; **94** : 289-291.
- 15 - DORIN D, LE ROCH K, SALLICANCRO P *et Coll* - pfnc1-1, a NIMA-related kinase from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Eur J Biochem* 2001; **268** : 2600-2608.

- 16 - SYIN C, PARZY D, TRAINCART F *et Coll* - The H89 cAMP-dependent protein kinase inhibitor blocks *Plasmodium falciparum* development in infected erythrocytes. *Eur J Biochem* 2001; **268** : 4842-4849.
- 17 - BRAY PG, WARD SA - A comparison of the phenomology and genetics of multidrug resistance in cancer cells and quinoline resistance in *Plasmodium falciparum*. *Pharmacol Ther* 1998; **77** : 1-28.
- 18 - KROGSTAD DJ, SCHLESINGER PH, GLUZMAN IY - Antimalarial increase vesicle pH in *Plasmodium falciparum*. *J Cell Biol* 1985; **101** : 2302-2309.
- 19 - FIDOCK DA, NOMURA T, COOPER RA *et Coll* - Allelic modifications of the *cg2* and *cg1* genes do not alter the chloroquine response of drug-resistant *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 2000; **110** : 1-10.
- 20 - FIDOCK DA, NOMURA T, TALLEY AK *et Coll* - Mutations in the *P. falciparum* digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. *Mol Cell* 2000; **6** : 861-871.
- 21 - HYDE SC - Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport. *Nature* 1990; **346** : 362-365.
- 22 - PRADINES B, ALBERT S, HOUDOIN C *et Coll* - *In vitro* increase in chloroquine-accumulation induced by dihydroethano and etheroanthracene derivatives in *Plasmodium falciparum* erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46** : 2061-2068.
- 23 - MESHNICK SR, YANG YZ, LIMA V *et Coll* - Iron-dependent free radical generation from the antimalarial agent artemisinin (qinghaosu). *Antimicrob Agents Chemother* 1993; **37** : 1108-1114.
- 24 - MESHNICK SR - Artemisinin antimalarials : mechanisms of action and resistance. *Med Trop* 1999; **58 Suppl. 3** : 13-17.
- 25 - DAS B, JENA RK, SWAIN KP, PARIDA P - Emerging resistance of *Plasmodium falciparum* to artemisinin and related compounds. *J Ass Physicians India* 2000; **48** : 443-444.
- 26 - WARHUST DC - Antimalarial discovery : development of inhibitors of dihydrofolate reductase active in drug resistance. *Drug Discov Today* 1999; **3** : 538-546.
- 27 - HUDSON AT - Atovaquone- a novel broad spectrum anti-infective drug. *Parasitol Today* 1993; **9** : 66-68.
- 28 - VAIDYA AB - Mitochondrial physiology as a target for atovaquone and other antimalarials. In « SHERMAN IW - Malaria : Parasite Biology, Pathogenesis and Protection ». ASM Press ed, Washington, 1998, pp 355-368.
- 29 - SYAFRUDDIN D, SIEREGAR JE, MARZUKI S - Mutations in the cytochrome b gene of *Plasmodium berghei* conferring resistance to atovaquone. *Mol Biochem Parasitol* 1999; **104** : 185-194.
- 30 - VAIDYA AB, LASHGARI MS, POLOGE LG, MORRISSEY J - Structural features of Plasmodium cytochrome b that may underlie susceptibility to 8-aminoquinolines and hydroxynaphthoquinones. *Mol Biochem Parasitol* 1993; **58** : 33-42.
- 31 - LOOAREESUWAN S, VIRAVAN C, WEBSTER HK *et Coll* - Clinical studies of atovaquone, alone or in combination with other antimalarial drugs, for treatment of acute uncomplicated malaria in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **54** : 62-66.
- 32 - LOOAREESUWAN S, CHULAY JD, CANFIELD CJ, HUTCHINSON DB - Malarone (atovaquone and proguanil hydrochloride) : a review of its clinical development for treatment of malaria. Malarone Clinical Trials Study Group. *Am J Trop Med Hyg* 1999; **60** : 533-541.
- 33 - OVERBOSCH D, SCHILTHUIS H, BIENZLE U *et Coll* - Atovaquone-proguanil versus mefloquine for malaria prophylaxis in nonimmune travelers: results from a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis* 2001; **33** : 1015-1021.
- 34 - BERMAN JD, NIELSEN R, CHULAY JD *et Coll* - Causal prophylactic efficacy of atovaquone-proguanil (Malarone) in a human challenge model. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; **95** : 429-432.