



Les « trioxaquinines »

Nouvelles molécules antipaludiques comportant un squelette trioxane lié à une 4-aminoquinoléine

Odile Dechy-Cabaret*, doctorante, Françoise Benoit-Vical*, chargée de recherche INSERM, Anne Robert*, chargée de recherche CNRS et Bernard Meunier*, directeur de recherche CNRS

Summary Preparation and antimalarial activities of « trioxaquinines », new modular molecules with a trioxane skeleton linked to a 4-aminoquinoline

Trioxaquinines are new antimalarial drugs which combine two active fragments (an aminoquinoline and a trioxane) with independent modes of action covalently linked within a single molecule. This strategy, which can be characterized as a « covalent bitherapy », allowed us to obtain modular molecules with high antimalarial activity *in vitro* either on chloroquine sensitive or on chloroquine resistant *Plasmodium falciparum* strains.

Mots-clés Aminoquinoléine, malaria, paludisme, peroxyde, trioxaquine.

Key-words Aminoquinoline, drug research, malaria, peroxide, trioxaquine.

Le paludisme (malaria en anglais) est la troisième cause infectieuse de mortalité au monde, après la tuberculose et le SIDA. Elle cause 1 à 2,5 millions de morts par an [1]. La chloroquine (CQ), qui a endigué le paludisme pendant 40 ans à partir de 1945, est devenue inefficace dans de nombreuses régions du fait du développement de souches de *Plasmodium falciparum* résistantes, le parasite responsable des formes mortelles. Les principales zones de résistance à la chloroquine et aux autres antipaludiques classiques (Afrique, en particulier Afrique de l'Est, Sud-Est Asiatique, Amérique Centrale) s'étendent de façon continue et inquiétante. Par ailleurs, la résistance des moustiques anophèles, vecteurs de la maladie, à divers insecticides, ainsi que le réchauffement de la Terre sont susceptibles d'accroître l'extension des zones endémiques [2].

La méthode la plus efficace pour lutter contre la chimiorésistance est d'associer plusieurs molécules actives possédant des modes d'action indépendants, de façon à limiter les risques d'émergence de formes résistantes. Cette méthode, utilisée initialement pour la chimiothérapie antituberculeuse, fut ensuite développée pour le traitement des cancers et, plus récemment, du SIDA. Pour faire reculer le paludisme, **il est actuellement impératif de mettre au point de nouvelles familles de médicaments et d'adopter systématiquement une poly-chimiothérapie** [2]. Pour des raisons évidentes, ces nouveaux composés doivent être bon marché et actifs par voie orale.



Figure 1 - Les trioxaquinines, molécules bimodales.

Nos études sur le mécanisme d'action d'antipaludiques de la famille de l'artémisinine [3] nous ont conduit à imaginer et à synthétiser de nouvelles molécules bimodales comportant un motif trioxane, qui est responsable de l'activité de l'artémisinine, lié de façon covalente à un résidu 4-aminoquinoléine présent dans la chloroquine (*figure 1*) [4]. Ces molécules, qui sont modulaires, associent un fragment peroxyde capable d'agir comme agent alkylant [3, 5], à un résidu aminoquinoléine connu pour pénétrer efficacement dans les érythrocytes infectés [6]. **Ces molécules appelées « trioxaquinines » peuvent être considérées comme deux médicaments associés en une molécule unique, en quelque sorte une « bithérapie covalente ».** Cette méthode diminue très fortement les risques d'apparition de résistances. Par ailleurs, il a été observé *in vitro* que les antipaludiques peroxydiques n'entraînent pas facilement de résistance ; de plus, la résistance est réversée dès que l'on cesse la pression de sélection [7].

La cible pharmacologique des trioxaquinines est l'hème libéré lors de la digestion de l'hémoglobine par les parasites dans les érythrocytes infectés. Nous avons préparé une série de trioxaquinines selon un schéma de synthèse convergente simple (*figure 2*). Ces composés doivent être bon marché,

* Laboratoire de chimie de coordination du CNRS, 205, route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4.
Tél. : 05 61 33 31 56. Fax : 05 61 55 30 03. E-mail : bmeunier@lcc-toulouse.fr



RECHERCHE

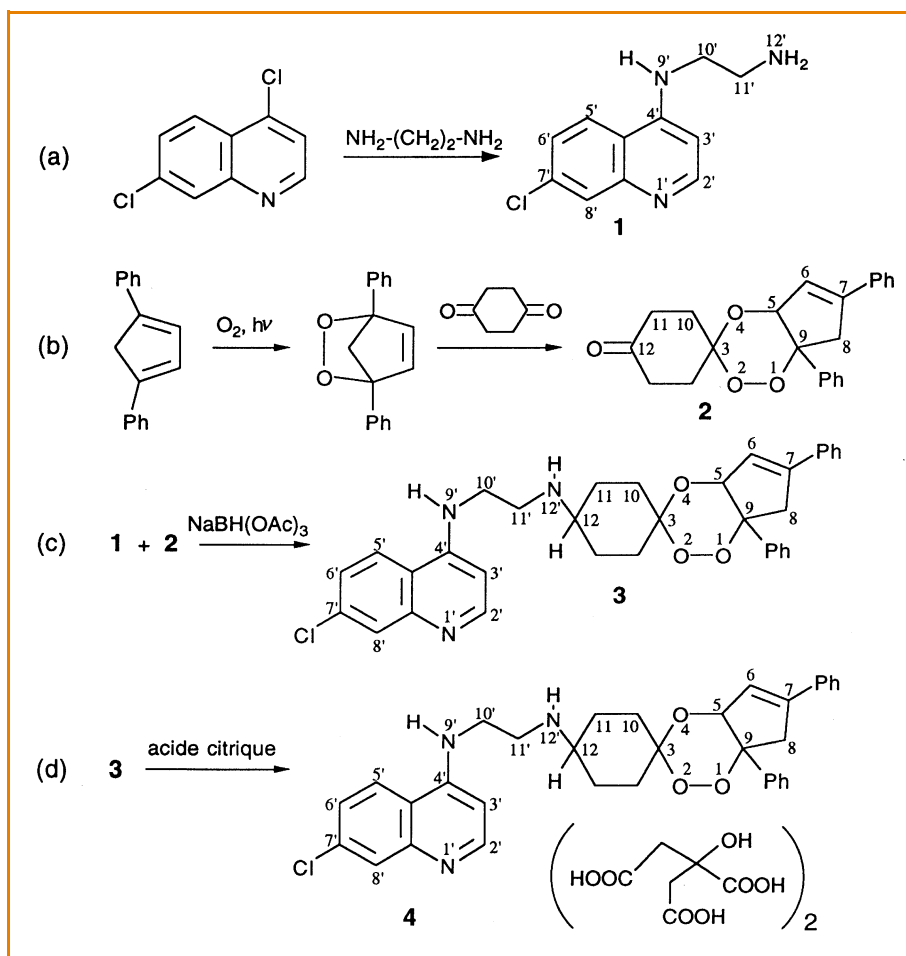


Figure 2 - Méthode de synthèse convergente des trioxaquinones.

donc synthétisés avec de bons rendements à partir de réactifs facilement accessibles.

Par exemple, pour obtenir la trioxaquinone **4**, une première étape consiste à condenser la 4,7-dichloroquinoléine avec le 1,2-diaminoéthane pour donner l'aminoquinoléine **1** (étape a). Le trioxane-cétone **2** est obtenu par réaction de la 1,4-cyclohexanedione avec l'endopéroxyde produit par photooxygénation du 1,4-diphénylcyclopent-1,3-diène (étape b). L'amination réductrice de la cétone **2** par l'amine primaire de l'aminoquinoléine **1** produit la trioxaquinone **3** avec un bon rendement (étape c, composé **DU-1101**). Pour augmenter la solubilité de ce composé, nous avons préparé une série de sels, comme le dicitrate **4** (étape d) (composé **DU-1102**).

Activité biologique des trioxaquinones sur différentes souches de *Plasmodium falciparum*

Plusieurs trioxaquinones (structures sur la figure 3) ont été testées sur des souches de *P. falciparum* : une souche nigériane chloroquino-sensible, ainsi que les souches FcB1 (chloroquino-résistante)

et FcM29 (fortement chloroquino-résistante) (tableau I). Au stade actuel de l'étude, nous avons testé le mélange des stéréoisomères de chaque trioxaquinone. La concentration capable de réduire la parasitémie de 50 % en 72 h (concentration inhibitrice 50 = CI₅₀) a été déterminée sur des globules rouges humains infectés (tableau I) [8-9]. Toutes les valeurs de CI₅₀ obtenues dans ces premiers essais sont comprises entre 2 et 80 nM, c'est-à-dire que les trioxaquinones sont efficaces à la

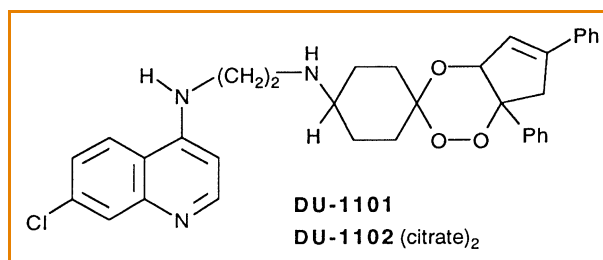


Figure 3 - Structures des trioxaquinones testées contre *Plasmodium falciparum*.



Tableau I - Valeurs de CI_{50} à 72 h (nM), pour **DU-1101** et **DU-1102** sur trois souches différentes de *Plasmodium falciparum*.

	FcB1-Colombia (CQR) ^[a]	FcM29-Cameroon (CQR+) ^[a]	Nigeriane (CQS) ^[a]
DU-1101	9	18	2
DU-1102 (n = 2, dicitrate)	21	n.d. ^[b]	8
Chloroquine diphosphate^[c]	116	155	19

^[a]CQR = souche résistante à la chloroquine (CQ), CQR+ = souche très résistante à la chloroquine, CQS = souche sensible à la chloroquine. ^[b]Non déterminé. ^[c]Donné pour comparaison.

fois sur la souche chloroquino-sensible et sur les souches chloroquino-résistantes. Ce résultat met en évidence l'intérêt des molécules bimodales. La trioxaquine-citrate **DU-1102**, et son analogue sous forme base **DU-1101**, sont plus actives que la chloroquine sur toutes les souches (CI_{50} de 9 nM pour **DU-1101**, 21 nM pour **DU-1102** et 116 nM pour la chloroquine sur la souche résistante FcB1). Elles sont également plus actives que chacun des fragments qui les composent, ce qui justifie le lien covalent entre aminoquinoléine **1** et trioxane-cétone **2**. La trioxaquine **DU-1102** est également active (CI_{50} = 43 nM) sur des isolats humains de *P. falciparum* résistants à la chloroquine et/ou à la pyriméthamine [10]. Ces études effectuées au Cameroun montrent que l'activité observée sur des souches de laboratoire est conservée sur des souches de terrain.

Les trioxaquines présentent en outre l'intérêt d'être modulaires : le trioxane et ses substituants, le bras de jonction, le motif aminoquinoléine lui-même, peuvent être adaptés ou modifiés pour augmenter

l'efficacité de ces composés. Dans cet esprit, toute une famille de trioxaquines a été synthétisée. L'une d'elles est active par voie orale chez la souris à la dose efficace 50 (DE_{50} = dose éliminant 50 % de la parasitémie) de 18 $\mu\text{mol/kg}$, ce qui est inférieur à la dose efficace 50 de l'artémisinine (30 $\mu\text{mol/kg}$).

Les premiers résultats sont donc très prometteurs, et les études d'activité biologique des trioxaquines chez l'animal sont en cours. Une nouvelle société, Palumed SA, a été créée à Toulouse afin de prendre en charge le développement préclinique de cette nouvelle classe de composés antipaludiques brevetée par le CNRS.

Références

- [1] a) Newton P., White N., *Annu. Rev. Med.*, **1999**, *50*, p. 179 ; b) Bradley T., University of Leicester, <http://www-micro.msb.le.ac.uk/224/Bradley/Bradley.html>.
- [2] White N.J., Nosten F., Looareesuwan S., Watkins W.M., Marsh K., Snow R.W., Kokwaro G., Ouma J., Hien T.T., Molyneux M.E., Traylor T.E., Newbold C.I., Ruebush T.K., Danis M., Greenwood B.M., Anderson R.M., Olliaro P., *Lancet*, **1999**, *353*, p. 1965.
- [3] a) Robert A., Meunier B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, p. 5968 ; b) Robert A., Meunier B., *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, p. 1287 ; c) Cazelles J., Robert A., Meunier B., *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, p. 6776 ; d) Robert A., Cazelles J., Meunier B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, sous presse (juin 2001).
- [4] a) Dechy-Cabaret O., Benoit-Vical F., Robert A., Meunier B., brevet français n° 0004422, 6 avril 2000 (extensions internationales en cours) ; b) Dechy-Cabaret O., Benoit-Vical F., Robert A., Meunier B., *ChemBioChem*, **2000**, *4*, p. 281.
- [5] a) Meshnick S.R., Taylor T.E., Kamchonwongpaisan S., *Microbiol. Rev.*, **1996**, *60*, p. 301 ; b) Cummings J.N., Wang D., Park S.B., Shapiro T.A., Posner G.H., *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, p. 952 ; c) Vroman J.A., Alvim-Gaston M., Avery M.A., *Curr. Pharmaceutical Design*, **1999**, *5*, p. 101.
- [6] Egan T.J., Marques H.M., *Coord. Chem. Rev.*, **1999**, *190-192*, p. 493.
- [7] Peters W., Robinson B.L., *Ann. Trop. Med. Parasit.*, **1999**, *93*, p. 325.
- [8] Trager W., Jensen J., *Science*, **1976**, *193*, p. 673.
- [9] Benoit F., Valentin A., Pelissier Y., Diafouka F., Marion C., Kone-Bamba D., Kone M., Mallié M., Yapou A., Bastide J.-M., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1995**, *54*, p. 67.
- [10] Basco L.K., Dechy-Cabaret O., Ndounga M., Meche F.S., Robert A., Meunier B., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, *45*, p. 1886.