

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2010

THESE N°: 66

Etude in vitro de l'activite antiplasmodiale
d'un biflavonoïde (lanaroflavone)
et de ses analogues de synthese

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. SERI Okya Gisèle

Née le 24 Avril 1983 à Divo

Pour l'Obtention du Doctorat en
Pharmacie

MOTS CLES: Paludisme – Plasmodium falciparum – Antipaludique – Camptosperma panamense.

JURY

Mme. W. EL MELLOUKI

Professeur de Parasitologie

Mr. Y. BENSOUA

Professeur de Pharmacie Galénique

Mr. M. BENKIRANE

Professeur d'Hématologie

Mr. B. E. LMIMOUNI

Professeur Agrégé de Parasitologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Docteur Ahdemalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen :	Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et Etudiantines	Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général :	Monsieur El Hassan AHOLLAT

PROFESSEURS :

Décembre 1967

1. Pr. TOUNSI Abdelkader Pathologie Chirurgicale

Février, Septembre, Décembre 1973

2. Pr. ARCHANE My Idriss* Pathologie Médicale
3. Pr. BENOMAR Mohammed Cardiologie
4. Pr. CHAOUI Abdellatif Gynécologie Obstétrique
5. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

6. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Février 1977

7. Pr. AGOUMI Abdelaziz Parasitologie
8. Pr. BENKIRANE ép. AGOUMI Najia Hématologie
9. Pr. EL BIED ép. IMANI Farida Radiologie

Février Mars et Novembre 1978

10. Pr. ARHARBI Mohamed Cardiologie
11. Pr. SLAOUI Ahdemalek Anesthésie Réanimation

Mars 1979

12. Pr. LAMDOUAR ép. BOUAZZAOUI Naima Pédiatrie

Mars, Avril et Septembre 1980

13. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
14. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

15. Pr. BENOMAR Said* Anatomie Pathologique
16. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
17. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie

18. Pr. HAMMANI Ahmed*
19. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
20. Pr. SBIHI Ahmed
21. Pr. TAOBANE Hamid*

Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

22. Pr. ABROUQ Ali*
23. Pr. BENOMAR M'hammed
24. Pr. BENSOUA Mohamed
25. Pr. BENOSMAN Abdellatif
26. Pr. CHBICHEB Abdelkrim
27. Pr. JIDAL Bouchaib*
28. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Biophysique
Chirurgie Maxillo-faciale
Physiologie

Novembre 1983

29. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
30. Pr. BALAFREJ Amina
31. Pr. BELLAKHDAR Fouad
32. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
33. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

34. Pr. BOUCETTA Mohamed*
35. Pr. EL OUEDDARI Brahim El Khalil
36. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
37. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
38. Pr. NAJI M'Barek *
39. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

40. Pr. BENJELLOUN Halima
41. Pr. BENSALIM Younes
42. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
43. Pr. IHRAI Hssain *
44. Pr. IRAQI Ghali
45. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

46. Pr. AJANA Ali
47. Pr. AMMAR Fanid
48. Pr. CHAHED OUAZZANI ép.TAOBANE Houria
49. Pr. EL FASSY FIIHRI Mohamed Taoufiq
50. Pr. EL HAITEM Naïma
51. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
52. Pr. EL YAACOUBI Moradh
53. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
54. Pr. LACHKAR Hassan

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne

55. Pr. OHAYON Victor*
56. Pr. YAHYA OUI Mohamed

Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

57. Pr. BENHMAMOUCHE Mohamed Najib
58. Pr. DAFIRI Rachida
59. Pr. FAIK Mohamed
60. Pr. FIKRI BEN BRAHIM Nouredine
61. Pr. HERMAS Mohamed
62. Pr. TOULOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

63. Pr. ABIR ép. KHALIL Saadia
64. Pr. ACHOUR Ahmed*
65. Pr. ADNAOUI Mohamed
66. Pr. AOUNI Mohamed
67. Pr. AZENDOUR BENACEUR*
68. Pr. BENAMEUR Mohamed*
69. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
70. Pr. CHAD Bouziane
71. Pr. CHKOFF Rachid
72. Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH
73. Pr. HACHIM Mohammed*
74. Pr. HACHIMI Mohamed
75. Pr. KHARBACH Aïcha
76. Pr. MANSOURI Fatima
77. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
78. Pr. SEDRATI Omar*
79. Pr. TAZI Saoud Anas
80. Pr. TERHZZAZ Abdellah*

Cardiologie
Chirurgicale
Médecine Interne
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Dermatologie
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie

Février Avril Juillet et Décembre 1991

81. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
82. Pr. ATMANI Mohamed*
83. Pr. AZZOUZI Abderrahim
84. Pr. BAYAHIA ép. HASSAM Rabéa
85. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
86. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
87. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdelatif
88. Pr. BENSOUDA Yahia
89. Pr. BERRAHO Amina
90. Pr. BEZZAD Rachid
91. Pr. CHABRAOUI Layachi
92. Pr. CHANA El Houssaine*
93. Pr. CHERRAH Yahia
94. Pr. CHOKAIRI Omar
95. Pr. FAJRI Ahmed*
96. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
97. Pr. KHATTAB Mohamed
98. Pr. NEJMI Maati
99. Pr. OUAALINE Mohammed*

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Ophtalmologie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène

100. Pr. SOULAYMANI ép. BENCHEIKH Rachida
101. Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

102. Pr. AHALLAT Mohamed
103. Pr. BENOUDA Amina
104. Pr. BENSOUDA Adil
105. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
106. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
107. Pr. CHAKIR Noureddine
108. Pr. CHRAIBI Chafiq
109. Pr. DAUDI Rajae
110. Pr. DEHAYNI Mohamed*
111. Pr. EL HADDOURY Mohamed
112. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
113. Pr. FELLAT Rokaya
114. Pr. GHAFIR Driss*
115. Pr. JIDDANE Mohamed

Chirurgie Générale
Microbiologie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie

116. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
117. Pr. TAGHY Ahmed
118. Pr. ZOUHDI Mimoun

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

119. Pr. AGNAOU Lahcen
120. Pr. AL BAROUDI Saad
121. Pr. ARJI Moha*
122. Pr. BENCHERIFA Fatiha
123. Pr. BENJAAFAR Nouredine
124. Pr. BENJELLOUN Samir
125. Pr. BENRAIS Nozha
126. Pr. BOUNASSE Mohammed*
127. Pr. CAOUI Malika
128. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
129. Pr. EL AMRANI ép. AHALLAT Sabah
130. Pr. EL AOUD Rajae
131. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
132. Pr. EL HASSANI My Rachid
133. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
134. Pr. EL KIRAT Abdelmjid*
135. Pr. ERROUGANI Abdelkader
136. Pr. ESSAKALI Malika
137. Pr. ETTAYEBI Fouad
138. Pr. HADRI Larbi*
139. Pr. HDA Ali*
140. Pr. HASSAM Badredine
141. Pr. IFRINE Lahssan
142. Pr. JELTHI Ahmed
143. Pr. MAHFOUD Mustapha
144. Pr. MOUDENE Ahmed*
145. Pr. MOSSEDDAQ Rachid*
146. Pr. OULBACHA Said
147. Pr. RHRAB Brahim

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Pédiatrie
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métabolique
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Neurologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

148. Pr. SENOUCI ép. BELKHADIR Karima
149. Pr. SLAOUI Anas

Dermatologie
Chirurgie Cardio-vasculaire

Mars 1994

150. Pr. ABBAR Mohamed*
151. Pr. ABDELHAK M'barek
152. Pr. BELAIDI Halima
153. Pr. BARHMI Rida Slimane
154. Pr. BENTAHILA Abdelali
155. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
156. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
157. Pr. CHAMI Ilham
158. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
159. Pr. EL ABBADI Najia
160. Pr. HANINE Ahmed*
161. Pr. JALIL Abdelouahed
162. Pr. LAKHDAR Amina
163. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie - Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie -Obstétrique
Traumatologie -Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

164. Pr. ABOUQUAL Redouane
165. Pr. AMRAOUI Mohamed
166. Pr. BAIDADA Abdelaziz
167. Pr. BARGACH Samir

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique

168. Pr. BELLAHNECH Zakaria
 169. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
 170. Pr. BENZAOUZ Mustapha
 171. Pr. CHAARI Jilali*
 172. Pr. DIMOU M'barek*
 173. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
 174. Pr. EL MESNAOUI Abbas
 175. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
 176. Pr. FERHATI Driss
 177. Pr. HASSOUNI Fadil
 178. Pr. HDA Abdelhamid*
 179. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
 180. Pr. IBRAHIMY Wafaa
 182. Pr. BENOMAR ALI
 183. Pr. BOUGTAB Abdesslam
 184. Pr. ER RIHANI Hassan
 185. Pr. EZZAITOUNI Fatima
 186. Pr. KABBAJ Najat
 187. Pr. LAZRAK Khalid (M)
 188. Pr. OUTIFA Mohamed*

Urologie
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Cardiologie
 Urologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Chirurgie Générale
 Oncologie Médicale
 Néphrologie
 Radiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique

Décembre 1996

189. Pr. AMIL Touriya*
 190. Pr. BELKACEM Rachid
 191. Pr. BELMAHI Amin
 192. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
 193. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
 194. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
 195. Pr. GAMRA Lamiae
 196. Pr. GAOUZI Ahmed
 197. Pr. MAHFOUDI M'barek*
 198. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
 199. Pr. MOHAMMADI Mohamed
 200. Pr. MOULINE Soumaya
 201. Pr. OUADGHIRI Mohamed
 202. Pr. OUZEDDOUN Naima
 203. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
 Chirurgie Pédiatrie
 Chirurgie réparatrice et plastique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Parasitologie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumo-phtisiologie
 Traumatologie – Orthopédie
 Néphrologie
 Cardiologie

Novembre 1997

204. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
 205. Pr. BEN AMAR Abdeselem
 206. Pr. BEN SLIMANE Lounis
 207. Pr. BIROUK Nazha
 208. Pr. BOULAICH Mohamed
 209. Pr. CHAOUIR Souad*
 210. Pr. DERRAZ Said
 211. Pr. ERREIMI Naima
 212. Pr. FELLAT Nadia
 213. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
 214. Pr. HAIMEUR Charki*
 215. Pr. KADDOURI Noureddine
 216. Pr. KANOUNI NAWAL
 217. Pr. KOUTANI Abdellatif
 218. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
 219. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
 220. Pr. NAZZI M'barek*
 221. Pr. OUAHABI Hamid*
 222. Pr. SAFI Lahcen*
 223. Pr. TAOUFIQ Jallal

Gynécologie – Obstétrique
 Chirurgie Générale
 Urologie
 Neurologie
 O.RL.
 Radiologie
 Neurochirurgie
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Radiologie
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie – Pédiatrique
 Physiologie
 Urologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Neurologie
 Anesthésie Réanimation
 Psychiatrie

224. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

225. Pr. BENKIRANE Majid*

Hématologie

226. Pr. KHATOURI Ali*

Cardiologie

227. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Anatomie Pathologique

Novembre 1998

228. Pr. AFIFI RAJAA

Gastro - Entérologie

229. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*

Pneumo-phtisiologie

230. Pr. ALOUANE Mohammed*

Oto- Rhino- Laryngologie

231. Pr. LACHKAR Azouz

Urologie

232. Pr. LAHLOU Abdou

Traumatologie Orthopédie

233. Pr. MAFTAH Mohamed*

Neurochirurgie

234. Pr. MAHASSINI Najat

Anatomie Pathologique

235. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Pédiatrie

236. Pr. MANSOURI Abdelaziz*

Neurochirurgie

237. Pr. NASSIH Mohamed*

Stomatologie Et Chirurgie Maxillo Faciale

238. Pr. RIMANI Mouna

Anatomie Pathologique

239. Pr. ROUMI Abdelhadi

Neurologie

Janvier 2000

240. Pr. ABID Ahmed*

Pneumo-phtisiologie

241. Pr. AIT OUMAR Hassan

Pédiatrie

242. Pr. BENCHERIF My Zahid

Ophtalmologie

243. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd

Pédiatrie

244. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie

245. Pr. CHAOUI Zineb

Ophtalmologie

246. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer

Chirurgie Générale

247. Pr. ECHARRAB El Mahjoub

Chirurgie Générale

248. Pr. EL FTOUH Mustapha

Pneumo-phtisiologie

249. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*

Neurochirurgie

250. Pr. EL OTMANYAzzedine

Chirurgie Générale

251. Pr. GHANNAM Rachid

Cardiologie

252. Pr. HAMMANI Lahcen

Radiologie

253. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim

Anesthésie-Réanimation

254. Pr. ISMAILI Hassane*

Traumatologie Orthopédie

255. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss

Gastro-Entérologie

256. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*

Anesthésie-Réanimation

257. Pr. TACHINANTE Rajae

Anesthésie-Réanimation

258. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Médecine Interne

Novembre 2000

259. Pr. AIDI Saadia

Neurologie

260. Pr. AIT OURHROUIL Mohamed

Dermatologie

261. Pr. AJANA Fatima Zohra

Gastro-Entérologie

262. Pr. BENAMR Said

Chirurgie Générale

263. Pr. BENCHEKROUN Nabiha

Ophtalmologie

264. Pr. BOUSSELMANE Nabile*

Traumatologie Orthopédie

265. Pr. BOUTALEB Najib*

Neurologie

266. Pr. CHERTI Mohammed

Cardiologie

267. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma

Anesthésie-Réanimation

268. Pr. EL HASSANI Amine

Pédiatrie

269. Pr. EL IDGHIRI Hassan

Oto-Rhino-Laryngologie

270. Pr. EL KHADER Khalid

Urologie

271. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*

Rhumatologie

272. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan

Endocrinologie et Maladies Métaboliques

273. Pr. HSSAIDA Rachid*

Anesthésie-Réanimation

274. Pr. MANSOURI Aziz

Radiothérapie

275. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia

Ophtalmologie

276. Pr. RZIN Abdelkader*
277. Pr. SEFIANI Abdelaziz
278. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

PROFESSEURS AGREGES :

Décembre 2001

279. Pr. ABABOU Adil
280. Pr. AOUAD Aicha
281. Pr. BALKHI Hicham*
282. Pr. BELMEKKI Mohammed
283. Pr. BENABDELJLIL Maria
284. Pr. BENAMAR Loubna
285. Pr. BENAMOR Jouda
286. Pr. BENELBARHDADI Imane
287. Pr. BENNANI Rajae
288. Pr. BENOUACHANE Thami
289. Pr. BENYOUSSEF Khalil
290. Pr. BERRADA Rachid
291. Pr. BEZZA Ahmed*
292. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
293. Pr. BOUHOUCHE Rachida
294. Pr. BOUMDIN El Hassane*
295. Pr. CHAT Latifa
296. Pr. CHELLAOUI Mounia
297. Pr. DAALI Mustapha*
298. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
299. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
300. Pr. EL HIJRI Ahmed
301. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
302. Pr. EL MADHI Tarik
303. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
304. Pr. EL OUNANI Mohamed
305. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
306. Pr. ETTAIR Said
307. Pr. GAZZAZ Miloudi*
308. Pr. GOURINDA Hassan
309. Pr. HRORA Abdelmalek
310. Pr. KABBAJ Saad
311. Pr. KABIRI EL Hassane*
312. Pr. LAMRANI Moulay Omar
313. Pr. LEKEHAL Brahim
314. Pr. MAHASSIN Fattouma*
315. Pr. MEDARHRI Jalil
316. Pr. MIKDAME Mohammed*
317. Pr. MOHSINE Raouf
318. Pr. NABIL Samira
319. Pr. NOUINI Yassine
320. Pr. OUALIM Zouhir*
321. Pr. SABBAH Farid
322. Pr. SEFIANI Yasser
323. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
324. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie
Urologie

Décembre 2002

325. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
326. Pr. AMEUR Ahmed*
327. Pr. AMRI Rachida
328. Pr. AOURARH Aziz*
329. Pr. BAMOU Youssef *
330. Pr. BELGHITI Laila

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Gynécologie Obstétrique

331. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 332. Pr. BENBOUAZZA Karima
 333. Pr. BENZEKRI Laila
 334. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 335. Pr. BERADY Samy*
 336. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 337. Pr. BICHA Mohamed Zakarya
 338. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 339. Pr. CHKIRATE Bouchra
 340. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 341. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
 342. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 343. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 344. Pr. EL MANSARI Omar*
 345. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 346. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 347. Pr. HADDOUR Leila
 348. Pr. HAJJI Zakia
 349. Pr. IKEN Ali
 350. Pr. ISMAEL Farid
 351. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 352. Pr. KRIOULE Yamina
 353. Pr. LAGHMARI Mina
 354. Pr. MABROUK Hfid*
 355. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 356. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 357. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 358. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 359. Pr. OUIJILAL Abdelilah
 360. Pr. RACHID Khalid *
 361. Pr. RAISS Mohamed
 362. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 363. Pr. RHOU Hakima
 364. Pr. RKIOUAK Fouad*
 365. Pr. SIAH Samir *
 366. Pr. THIMOU Amal
 367. Pr. ZENTAR Aziz*
 368. Pr. ZRARA Ibtisam*

Janvier 2004

369. Pr. ABDELLAH El Hassan
 370. Pr. AMRANI Mariam
 371. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 372. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 373. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 374. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 375. Pr. BOULAADAS Malik
 376. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 377. Pr. CHERRADI Nadia
 378. Pr. EL FENNI Jamal*
 379. Pr. EL HANCI Zaki
 380. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 381. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 382. Pr. HACHI Hafid
 383. Pr. JABOUIRIK Fatima
 384. Pr. KARMANE Abdelouahed
 385. Pr. KHABOUZE Samira
 386. Pr. KHARMAZ Mohamed
 387. Pr. LEZREK Mohammed*
 388. Pr. MOUGHIL Said

Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro – Enterologie
 Médecine Interne
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Néphrologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

389. Pr. NAOUMI Asmae*
 390. Pr. SAADI Nozha
 391. Pr. SASSENOU Ismail*
 392. Pr. TARIB Abdelilah*
 393. Pr. TIJAMI Fouad
 394. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

395. Pr. ABBASSI Abdelah
 396. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 397. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 398. Pr. ALLALI fadoua
 399. Pr. AMAR Yamama
 400. Pr. AMAZOUZI Abdellah
 401. Pr. AZIZ Nouredine*
 402. Pr. BAHIRI Rachid
 403. Pr. BARAKAT Amina
 404. Pr. BENHALIMA Hanane
 405. Pr. BENHARBIT Mohamed
 406. Pr. BENYASS Aatif
 407. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 408. Pr. BOUKALATA Salwa
 409. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 410. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 411. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
 412. Pr. HAJJI Leila
 413. Pr. HESSISSEN Leila
 414. Pr. JIDAL Mohamed*
 415. Pr. KARIM Abdelouahed
 416. Pr. KENDOUCI Mohamed*
 417. Pr. LAAROUSSI Mohamed
 418. Pr. LYACOUBI Mohammed
 419. Pr. NIAMANE Radouane*
 420. Pr. RAGALA Abdelhak
 421. Pr. REGRAGUI Asmaa
 422. Pr. SBIHI Souad
 423. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
 424. Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Chirurgie Cardio Vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anatomie Pathologique
 Histo Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

Avril 2006

425. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 426. Pr. AFIFI Yasser
 427. Pr. AKJOUJ Saïd*
 428. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 429. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 430. Pr. BENCHEIKH Razika
 431. Pr. BIYI Abdelhamid*
 432. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 433. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 434. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 435. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 436. Pr. DOGHMI Nawal
 437. Pr. ESSAMRI Wafaa
 438. Pr. FELLAT Btissam
 439. Pr. FAROUDY Mamoun
 440. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 441. Pr. HARMOUCHE Hicham
 442. Pr. HNAFI Sidi Mohamed*
 443. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 444. Pr. JROUNDI Laila

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie – Pédiatrique
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie

- 445. Pr. KARMOUNI Tariq
- 446. Pr. KILI Amina
- 447. Pr. KISRA Hassan
- 448. Pr. KISRA Mounir
- 449. Pr. KHARCHAFI Aziz*
- 450. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
- 451. Pr. MANSOURI Hamid*
- 452. Pr. NAZIH Naoual
- 453. Pr; OUANASS Abderrazzak
- 454. Pr. SAFI Soumaya*
- 455. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
- 456. Pr. SEFIANI Sana
- 457. Pr. SOUALHI Mouna
- 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo-Phtisiologie
 Pneumo-Phtisiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

- 1. Pr. ALAMI OUHABI Naima
- 2. Pr. ALAOUI KATIM
- 3. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
- 4. Pr. ANSAR M'hammed
- 5. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
- 6. Pr. BOURJOUANE Mohamed
- 7. Pr. DRAOUI Mustapha
- 8. Pr. EL GUESSABI Lahcen
- 9. Pr. ETTAIB Abdelkader
- 10. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
- 11. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
- 12. Pr. REDHA Ahlam
- 13. Pr. TELLAL Saida*
- 14. Pr. TOUATI Driss
- 15. Pr. ZELLOU Amina

Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie – Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique
 Biochimie
 Biochimie
 Pharmacognosie
 Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

Dédicaces

*À Dieu le Père Tout-Puissant,
celui qui est toujours présent dans ma vie. Seigneur je ne sais comment
te dire merci de ton amour, ton soutien et ta présence dans ma vie, que
la gloire te soit rendue.*

A ma grande sœur Thérèse Catherine

*Théthy me voici au terme de mes études de pharmacie et
malheureuse tu n'es pas présente à mes cotés. Si tu savais à quel point je
suis triste de voir ta chaise vide.*

*Je te dédie mon travail pour tout l'amour que tu m'as apporté. Tu
as toujours été présente dans la vie. Tu me manques tellement si tu
savais.*

*Saches je t aime et je t aimerais toute ma vie. Reposes en paix aux
cotés de notre seigneur.*

À mes parents,

Papa, SERI GOHORO ANTOINE

Je ne sais comment de dire merci et exprimer l'estime, Le respect et l'amour que je te porte. Tu n'a pas douté de moi et m'a soutenu durant toutes ces années. Que ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma gratitude. Que Dieu le tout puissant puisse te bénir, t'accorder une longue vie Pleine de bonheur et de satisfaction.

Je t'aime mon petit papa.

Maman, AMESSAN SANDE AGNES

Ma petite maman je ne sais quoi te dire si ce n'est que je t'aime. Je te suis reconnaissance pour tous ce que tu as fait et de ce que je suis aujourd'hui. Par ce travail je t'exprime mon infinie gratitude et mon amour. Puisse Dieu te garder longtemps auprès de nous et d'accord de belles années pleines de joies et de satisfactions.

Je t'aime ma petite maman

A mes frères, Carole, Christiane, Guillaume, Raphael, Serge, Stéphane, Pierre, Yolande, je vous adore et vous remercie pour vos prières et votre soutien.

A Yolande Seri, je te dédie spécialement ce travail. Tu es la personne qui m'a tenue la main pendant toutes ces années d'études. Tu as été présente dans les bons et les mauvais moments de ma vie. Ce travail est le fruit de tes efforts. Vois en cela ma grande reconnaissance et l'amour profond que j'ai pour toi.

A Pierre Seri, je te dédie ce travail pour ton soutien et ton amour qui ont contribué à ma réussite. Je t'aime petit frère.

A mes belles sœurs et beaux frères et mes petits amours. Vous faite partie de ma famille je vous dédie e travail en signe de remerciement.

Dédicace spéciale à Mr Bah Mamadou S. et Mr Bilé. Vous êtes des personnes spéciales et formidables. Je ne sais comment vous dire merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Voyez en cette dédicace l'expression de mon profond respect et ma profonde reconnaissance.

A toute la famille Seri.

Que notre Seigneur vous accorde réussite, santé et prospérité

A frères de cœur Marie P, yani, Joseph, caroline, Christiane, Prisca, Noella, Jessica, Idrissa, Alban Gildas, Christian, Francis, Yannik, Magalie, pour votre présence et votre sympathie. Ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance, mon amour et mon amitié sincère.

A mes amis (es), confrères et promotionnaires mes collègues, de la faculté sans qui les choses ne seraient pas pareilles aujourd'hui.

A tous ceux qui de près ou de loin m'ont aidé à l'aboutissement de ce travail, vous avez tous une place de choix dans mon cœur.

Remerciements

A notre maître et président de jury

*Madame le Professeur El Mellouki Wafae,
Pr de parasitologie*

Chez pole des laboratoires à l'H.M.I.M.V de Rabat

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en
acceptant la présidence de mon jury de thèse. Veuillez croire en
notre profond respect et admiration.*

Soyez assuré de notre vive reconnaissance.

A notre maître et rapporteur de thèse

Monsieur le Professeur YAHIA BENSOUDA

*Professeur agrégé de Pharmacie Galénique Chef du département
de Pharmacie Galénique Industrielle et Chef du service de la
Pharmacie de l'Hôpital des spécialités de Rabat.*

*Je vous témoigne ma reconnaissance pour votre encadrement
tout au long de ce travail. Votre aide, vos conseils, votre
compréhension et votre confiance ont été précieux pour le bon
déroulement des travaux. Vous être un encadrant exemplaire et
je garderais toujours en mémoire votre savoir faire.*

*Veillez trouver ici Monsieur, l'expression de mon profond
respect.*

*A notre maître et juge de thèse
Monsieur le professeur Majid Benkirane,
Professeur Hématologie,
Directeur de l'UFR Hématologie*

Chez service du CTS l'H.M.I.M.V de Rabat

*Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous
faites en siégeant parmi notre jury de thèse. Nous vous sommes
très reconnaissants de la spontanéité et de l'amabilité avec
lesquelles vous avez accepté de juger ce travail.*

Veillez croire Monsieur

*En l'assurance de notre grande estime et notre sincère
reconnaissance.*

A notre Maître et Juge de Thèse

Monsieur le Professeur LMimouni Badreddine

Chef de service de parasitologie-mycologie à l'H.M.I.M.V de

Rabat

*C'est Un Grand Plaisir Pour Nous De Vous avoir dans mon jury
de Thèse.*

Nous vous prions de trouver ici l'expression de notre profond

Respect et de notre gratitude.

A Pr Candolfi Ermano

*Chef de service de l'Institut de parasitologie de pathologie
tropical de Strasbourg.*

*Pour m'avoir accueillie généreusement au sein de votre équipe et
m'avez beaucoup transmis, aussi bien dans le domaine
scientifique que humain.*

Votre m'avez accordé votre confiance et votre temps.

Je tiens à vous exprimer mes sincères remerciements.

Au Dr Sylvie Perrotey

*Département de parasitologie de la faculté de pharmacie de
Strasbourg.*

*Pour m'avoir transmis sa passion du travail en laboratoire, ses
explications, sa disponibilité et sa compréhension.*

Au Dr Catherine Vonthron S.

*Du département de pharmacognosie de la faculté de pharmacie
de Strasbourg.*

*Pour m'avoir fait confiance en permettant de tester ses
échantillons.*

Pour la sympathie et la disponibilité dont elle fait preuve.

A tout le personnel du laboratoire de parasitologie de l'IPPIS,

Pour son aide et l'ambiance chaleureuse et motivante qui y règne.

Table des matières

INTRODUCTION	1
Partie théorique	
Chapitre I : Généralités sur le paludisme	
I-EPIDEMIOLOGIE.....	4
I-1 Répartition géographique	4
I-2 Facteurs épidémiologiques	7
II. PHYSIOPATHOLOGIE.....	9
II-1 Le cycle de vie du Plasmodium	9
II-1-1 Chez l'anophèle : multiplication sexuée	10
II-1-2 Chez l'homme : La reproduction asexuée ou schizogonie.....	10
II-1-2-1 Phase hépatique	10
II-1-2-2 Phase érythrocytaire	10
II-2 Le métabolisme de Plasmodium falciparum.....	11
II-2-1 Le métabolisme des carbohydrates	11
II-2-2 Le métabolisme des lipides	11
II-2-3 Le métabolisme des protéines et des acides aminés.....	11
II-2-4 Le métabolisme des acides nucléiques	12
II-3 Clinique.....	12
II-3-1 Le paludisme asymptotique.....	12
II-3-2 Le paludisme maladie.....	12
II-3-3 Accès palustre simple	12
II-3-4 L'accès palustre grave	13
II-4 Diagnostic du paludisme.....	13
II-4-1 Diagnostic clinique.....	13

II-4-2 Diagnostic parasitologique	14
II-4-2-1 Examens microscopique.....	14
II-4-2-2 Tests de diagnostic rapide.....	15
II-4-2-3 Autres examens complémentaires	15
Chapitre II: Traitement	
I-MECANISME D'ACTION ET CLASSIFICATIONS DES ANTIPALUDIQUES	16
II- LES ANTIPALUDIQUES	19
II-1 Les schizonticides	19
II-2 Les gamétocytocides	26
II-3 Les antimétaboliques	27
II-3-1 Les antifolates	27
II-3-2 Les autres antimétaboliques.....	28
III- RESISTANCE AUX ANTIPALUDIQUES.....	29
Partie pratique	
I-MATERIELS ET METHODES	32
I-1 Description du lieu de travail.....	32
I-1-1 Présentation de L'IPPTS	32
I-1-2 Organigramme de l'IPPTS	33
I-2 description des molécules à tester	34
I-2-1 Lanaroflavone	34
I-2-2 Les analogues structuraux de la lanaroflavone	35
I-3 Essais thérapeutiques.....	37
I-3-1 La culture de Plasmodium falciparum	37
I-3-1-1 Souche plasmodiale	37
I-3-1-2 Préparation des hématies	37
I-3-1-3 Milieu de Culture Malaria	38
I-3-1-4 Mise en culture du parasite	38
I-3-1-5 Coloration des frottis	39

I-3-1-6 Congélation.....	39
I-4 Evaluation de la l'activité antiplasmodiale des molécules	40
I-4-1 Evaluation de la toxicité des molécule.....	40
I-4-1-1 Etude de l'activité hémolytique.....	40
I-4-1-2 Etude de la toxicité hépatique.....	40
I-5 Mesure de l'activité antimalarique des molécules.....	42
I-5-1 Lecture des frottis.....	43
I-5-2 Mesure de la Pldh.....	44
I-5-2-1 Détermination de la CI 50.....	45
II-RESULTATS.....	45
II-1 Test d'hémolyse	45
II-2 Toxicité hépatique	48
II-3 Evaluation de l'activité antipaludique	48
II-3-1 L'évolution de la parasitémie	49
II-3-2 La mesure de la Pldh	50
III-ANALYSE ET DISCUSSION	52
III-1 Analyse	52
III-2 Discussion.....	53
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	55
BIBLIOGRAPHIE.....	56
RESUME	65

Liste des abréviations

ACT : Artémisinine

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ATP : Adenosine Triphosphate

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%

CSHPF : Conseil Supérieur d'Hygiène

Publique de France

CSP : Circumsporozoite protein

DMEM : Dulbecco's Modified Eagle
Medium

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent
Assay

HRP2 : l'Histidine-Rich Protein II

IPPT : Institut de Parasitologie et de
Pathologie Tropical de Strasbourg.

IS : Index de Sélectivité

LANARO : Lanaroflavone

MCM : Milieu Culture Malarie

MTT : 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-
diphenyltetrazolium bromide

OMS : Organisation Mondiale de la
Santé

pLDH : Plasmodium Lactate
Déshydrogénase

PBS : Phosphate Buffer Saline

PCR : Polymérase Chain Réaction

Q.B.C : Test Quantitatif Buffy Coat

RPMI : Roswell Park Memorial
Institute

SDS : Sodium Dodécyl-sulfate

TDR : Test de Diagnostic Rapide

WHO : World Health Organization

Liste des figures

Figure 1 : Carte de répartition géographique du paludisme OMS, 2008.....	6
Figure 2 : Zones de transmission des quatre espèces de Plasmodium humains, P. falciparum, P. malariae, P. ovale et P. vivax	6
Figure 3 : Cycle de vie de Plasmodium falciparum	9
Figure 4 : Représentation schématique de la section d'un mérozoïte de Plasmodium falciparum et des ultrastructures de la cellule	17
Figure 5 : Effets des antipaludiques sur le développement du parasite Plasmodium falciparum (WHO 2006).....	18
Figure 6 : Résistance aux antipaludiques de P. falciparum d'après les études dans les sites sentinelles WHO 2005.....	30
Figure 7 : Photo des Feuilles de C. panamense	34
Figure 8 : Photo d'un Candle jar (Source: IPPTS).....	38
Figure 9 : Photos des Bac de coloration des frottis (gauche) et frottis coloré (droite) (source IPPTS)	39
Figure 10 (a) : Représentation des résultats du test d'hémolyse de la lanaroflavone	45
Figure 10(b) : Représentation des résultats du test d'hémolyse de A1	46
Figure 10 (c) : Représentation des résultats du test d'hémolyse de A2.....	47
Figure 11 : Représentation des résultats de cytotoxicité des molécules.....	48
Figure 12 : Courbe de d'activité et calcul de CI50 de la molécule A2 par le logiciel icestimator	50
Figure 12 : Courbe de d'activité et calcul de CI50 de la molécule A2 par le logiciel icestimator.....	50

Liste des tableaux

<u>Tableau I</u> : Répartition régionales des cas de P. falciparum et non P. falciparum.....	7
<u>Tableau II</u> : Evolution de la parasitémie en fonction des concentrations des échantillons.....	49
<u>Tableau III</u> : Tableau récapitulatif des différents résultats obtenus.....	51

INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie parasitaire endémo-épidémique provoquée par des protozoaires du genre *Plasmodium*. Il existe quatre espèces pathogènes pour l'Homme : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Récemment, une nouvelle espèce a été mise en évidence chez l'Homme, *Plasmodium knowlesi*, parasite simien du sud-est asiatique [1]. Le paludisme est l'un des fléaux les plus importants de la planète. Il est causé par la piquûre de moustique femelle du genre *Anopheles* et touche environ 40% de la population mondiale vivant en zone tropicale. D'après les estimations récentes de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2008 [2] entre 300 et 500 millions de nouveaux cas de paludisme sont constatés chaque année dans le monde. Le paludisme fait chaque année près d'un million de morts, pour la plupart des enfants africains de moins de cinq ans : un décès toutes les trente secondes en moyenne. Ces décès sont dus en majorité à l'espèce *Plasmodium falciparum*, responsable des accès graves et de neuropaludisme.

Le 15 décembre 2009, l'OMS a rendu public son rapport 2009 [3] sur le paludisme dans le monde et notait :

- Une augmentation conséquente du coût financier de cette pathologie. Il est passé de 0,3 milliard US\$ en 2003 à 1,7 milliard US\$ en 2009.
- Le recours aux multithérapies incluant l'artémisinine (ACT) a augmenté mais il reste encore faible. Dans 11 des 13 Etats africains ayant été sondés, moins de 15% des enfants ont pu bénéficier de ces traitements.
- Entre 2000 et 2008, sur les 108 pays où le paludisme est présent, un tiers des Etats (9 en Afrique et 29 dans le reste du monde) annoncent une baisse de l'ordre de 50% des cas de paludisme. Parmi les 10 pays qui ont établi un programme national de lutte contre le paludisme, 6 sont entrés en phase d'élimination.
- Si les points précédents sont globalement encourageants, le rapport fait aussi état de deux points qui pourraient devenir préoccupants : l'apparition de résistances du parasite aux traitements antipaludéens et la résistance des moustiques aux insecticides. L'OMS préconise

l'abandon des monothérapies à l'artémisinine auxquelles ont encore recours beaucoup d'Etats car elles favoriseraient l'apparition de ces résistances.

- Aucun vaccin n'est aujourd'hui disponible.

La chloroquine reste la molécule de référence dans le traitement antimalarique. Mais depuis plusieurs années, la résistance de plusieurs souches de *Plasmodium* à cette dernière ainsi qu'aux autres traitements tels que les alcaloïdes, les sulfonamides et les diaminopyrimidines est très importante. Il devient donc urgent de disposer de nouvelles molécules efficaces. Dans ce cadre, nous nous sommes proposé d'évaluer l'activité antiplasmodiale *in vitro* de nouvelles molécules : la Lanaroflavone et ses analogues structuraux. C'est un biflavonoïde dont l'activité antiplasmodiale n'a été démontrée que sur la souche multirésistante K1 [4]. Notre travail consistera à déterminer l'activité antiplasmodiale *in vitro* de ces molécules sur une souche chloroquinorésistante (7G8). Cette étude préliminaire s'inscrit dans la recherche de nouvelles drogues visant à accroître l'arsenal thérapeutique afin de permettre la distribution à grande échelle d'antimalariques.

Afin de permettre une meilleure compréhension, notre travail sera divisé en deux grandes parties.

La première partie est théorique. Elle consistera à se familiariser à la pathologie, son mode de transmission et son traitement.

La seconde partie est pratique et sera consacrée au travail personnel réalisé. Dans cette partie, il sera développé la méthodologie employée, les résultats obtenus, la discussion et enfin la conclusion.

Partie théorique

Le paludisme est l'une des affections les plus anciennes et les mieux connues de l'humanité, mais elle demeure l'une des plus mortelles. La mortalité importante de cette pathologie est due à la capacité du parasite à déjouer constamment les mécanismes de défense de l'hôte et à développer facilement des résistances aux molécules actives utilisées. Leurs incidences et la mortalité qu'elles infligent aux populations font de la recherche de nouveaux médicaments une priorité. Avant de songer à développer un quelconque traitement, il est important de bien connaître sa cible. Dans cette partie, nous allons faire un rappel sur le paludisme, son vecteur et les molécules les plus utilisées pour son traitement.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE PALUDISME

I-EPIDEMIOLOGIE

Le paludisme est la maladie parasitaire transmissible la plus répandue dans le monde. C'est l'une des maladies infectieuses les plus graves qui sévissent dans les régions tropicales et subtropicales.

I-1 Répartition géographique

Le paludisme est un véritable problème de santé publique pour plus de 100 pays représentant un total de 2,4 milliards de personnes. Ces pays sont essentiellement des pays en développement situés en Afrique, Asie et Amérique latine (Figure 1). L'Afrique est le continent le plus touché avec 300 à 500 millions de personnes contaminées [2].

Les 4 espèces de *Plasmodium* les plus connues infestant l'Homme sont réparties de manière inégale dans le monde (Figure 2) :

-*P. falciparum* est l'espèce la plus pathogène et malheureusement la plus répandue : elle se trouve dans toute la ceinture tropicale (Afrique noire, Madagascar, Amérique, Asie du Sud-Est), sévit toute l'année, résiste aux traitements classiques et a une prévalence forte.

-*P. vivax* est moins intensément réparti et se trouve en zones tropicale et subtropicale, mais pas en Afrique noire.

-*P. ovale* se trouve quasi exclusivement en Afrique noire.

-*P. malariae* quant à lui est de plus en plus rare. Il se trouve dans des pays tropicaux à tempérés, avec une prévalence et une exigence thermique faibles.

Le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) signale chaque année les changements de groupe des pays d'endémie. Le Mali, le Burkina-Faso, la Mauritanie, le Niger et le Tchad ont été classés récemment dans les pays du groupe III [5]. On estime que 2 à 3 milliards d'individus sont exposés au risque d'infection soit 40 % de la population mondiale. La plupart des cas cliniques sont dus à *P. falciparum* et *P. vivax*. 660 millions de cas cliniques sont ainsi recensés chaque année. Le paludisme tue plus d'un million de personnes chaque année, et concerne majoritairement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. Environ 60 % des cas dans le monde et plus de 80 % des décès par paludisme se produisent en Afrique subsaharienne. *P. falciparum* est responsable de la grande majorité des infections dans cette région et de 18% des décès d'enfants de moins de 5 ans. Le paludisme est aussi une cause fréquente d'anémie chez la femme enceinte et chez le nouveau-né de faible poids, de naissance prématurée et de mortalité infantile. Dans les pays d'endémie africains, il est à l'origine de 25 à 35 % des consultations ambulatoires, de 20 à 45 % des hospitalisations et de 15 à 35 % des décès à l'hôpital, faisant ainsi peser une lourde charge sur des systèmes de santé déjà fragiles [6].

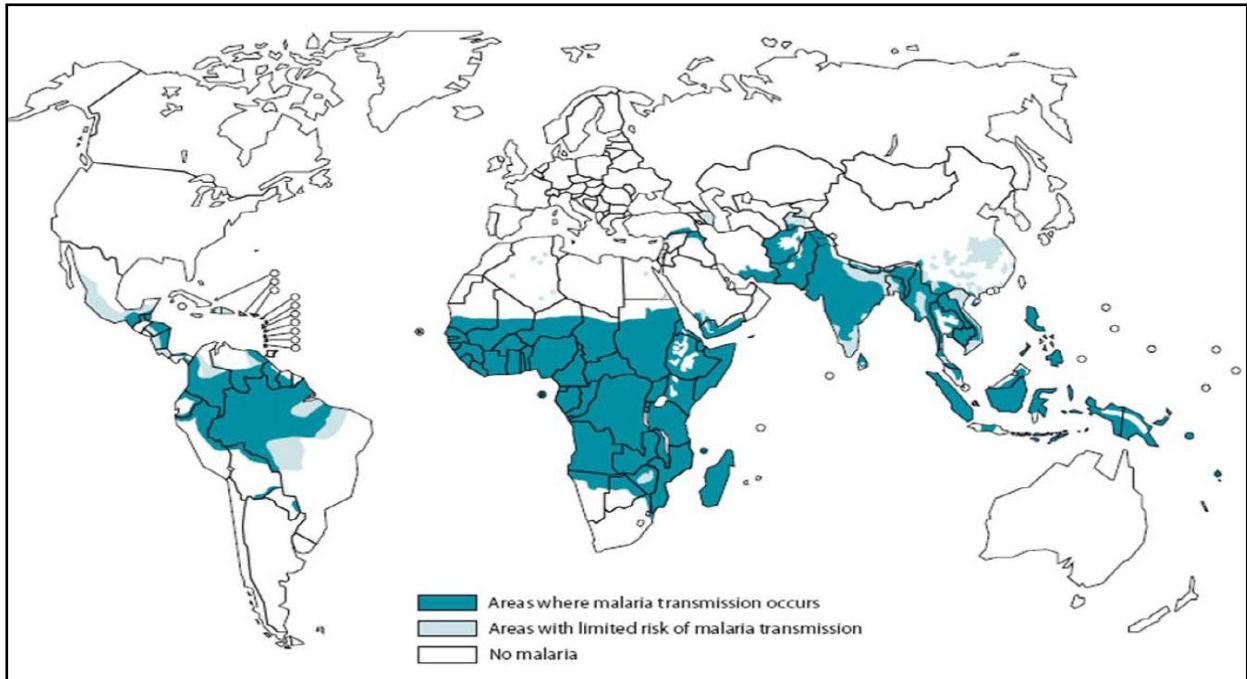


Figure 1 : Carte de répartition géographique du paludisme OMS, 2008 [7].

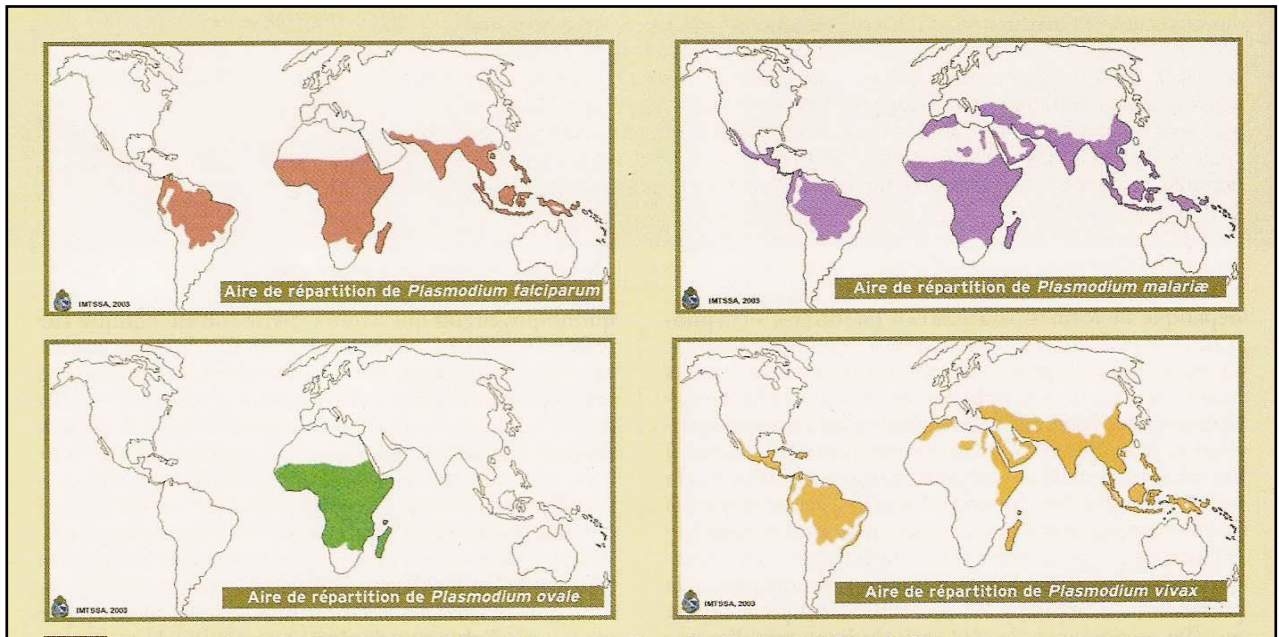


Figure 2 : Zones de transmission des quatre espèces de *Plasmodium* humains, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax* [8].

Tableau I : Répartition régionale des cas de *P. falciparum* et non *P. falciparum*.

Région	<i>P. falciparum</i>	Non <i>P. falciparum</i>
Afrique	98%	2%
Amériques	29%	71%
Méditerranée orientale	76%	24%
Europe	2%	98%
Asie du Sud Est-Pacifique	56%	44%
Pacifique occidental	67%	33%

Source: Rapport mondial sur le paludisme 2008. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2008 [9].

I-2 Facteurs épidémiologiques

Les schémas de transmission et de morbidité varient énormément selon les régions. Ces variations tiennent aux différences entre les parasites et les moustiques vecteurs, aux conditions écologiques qui influent sur la transmission et à des facteurs économiques comme la pauvreté et l'accès à des soins et à des services de prévention efficaces. On peut citer 3 facteurs épidémiologiques importants :

- **La focalisation vectorielle**

Elle est liée à l'existence de sites larvaires. Les anophèles pondent dans les eaux douces de surface et vivent à proximité de leur lieu de naissance (< 300 m). Pour chaque production d'œufs (100 ou plus), tous les 2 à 3 jours, la femelle doit prendre un repas sanguin qui est indispensable pour la maturation des œufs. En période de température élevée, le potentiel reproductif est considérable. La femelle anophèle doit cependant effectuer 4 ou 5 cycles de production d'œufs avant de devenir infectante. Son espérance de vie (variable selon les conditions notamment climatiques) est de 3 à 12 semaines. Il existe de nombreuses

espèces vectrices. On compte une soixantaine d'espèces différentes de moustiques responsables de la transmission du parasite à l'Homme. En Afrique, les espèces impliquées sont : *Anopheles gambiae* la plus connue et également *Anopheles funestus*, dont le rôle dans l'épidémiologie du paludisme semble avoir été sous-évalué jusqu'ici. En Asie, on peut citer *A. stephensi*, *A. farauti*, *A. sinensis*, *A. telleranus* et *A. minimus*. En Amérique, quatre espèces sont principalement impliquées : *A. albimanus*, *A. quadrimaculatus*, *A. darlingi* et *A. freeborni*. D'autres espèces d'anophèles peuvent héberger le *Plasmodium* : elles ne piquent pas l'Homme, mais d'autres mammifères (singes, rongeurs, oiseaux) et ne sont donc pas impliquées dans la transmission du paludisme humain.

- **Le réservoir du parasite : l'Homme**

Il existe une spécificité très étroite entre le parasite et l'Homme. Pour être impaludée, la population doit être réceptive à l'infection. Les individus les plus vulnérables sont ceux n'ayant jamais été infectés à savoir les enfants et les sujets provenant de zones indemnes. En zone d'endémie, il existe un développement d'un état de prémunition ou immunité acquise relative : les individus sont partiellement protégés contre le paludisme.

- **Les conditions climatiques**

Les conditions climatiques sont importantes pour la répartition géographique du vecteur et du parasite. Le développement du parasite nécessite des conditions climatiques précises de température, d'altitude (< 1500 m en Afrique) et de précipitations qui sont variables selon l'espèce : il faut une température élevée et constante pendant 10 à 20 jours pour que le cycle puisse s'effectuer dans l'insecte. D'où la notion de stabilité du paludisme.

On distingue :

- Le paludisme instable : transmission brève, brève vie de l'anophèle, peu de prémunition, forte mortalité à tout âge.
- Le paludisme stable : transmission prolongée, prémunition rapide mais mortalité infantile importante. Il existe dans toute l'Afrique intertropicale.

II. PHYSIOPATHOLOGIE

II-1 Le cycle de vie du *Plasmodium*

Le *Plasmodium falciparum* est un parasite intracellulaire obligatoire des vertébrés, appartenant à l'embranchement des Apicomplexa et à la classe des Sporozoaires. Son cycle de développement fait intervenir 2 hôtes : un hôte intermédiaire (l'Homme) où s'effectue une multiplication asexuée et un hôte définitif (l'anophèle femelle) où a lieu la reproduction sexuée. Chez l'Homme, on distingue deux phases de multiplication : la phase hépatique et la phase sanguine. (Figure 3).

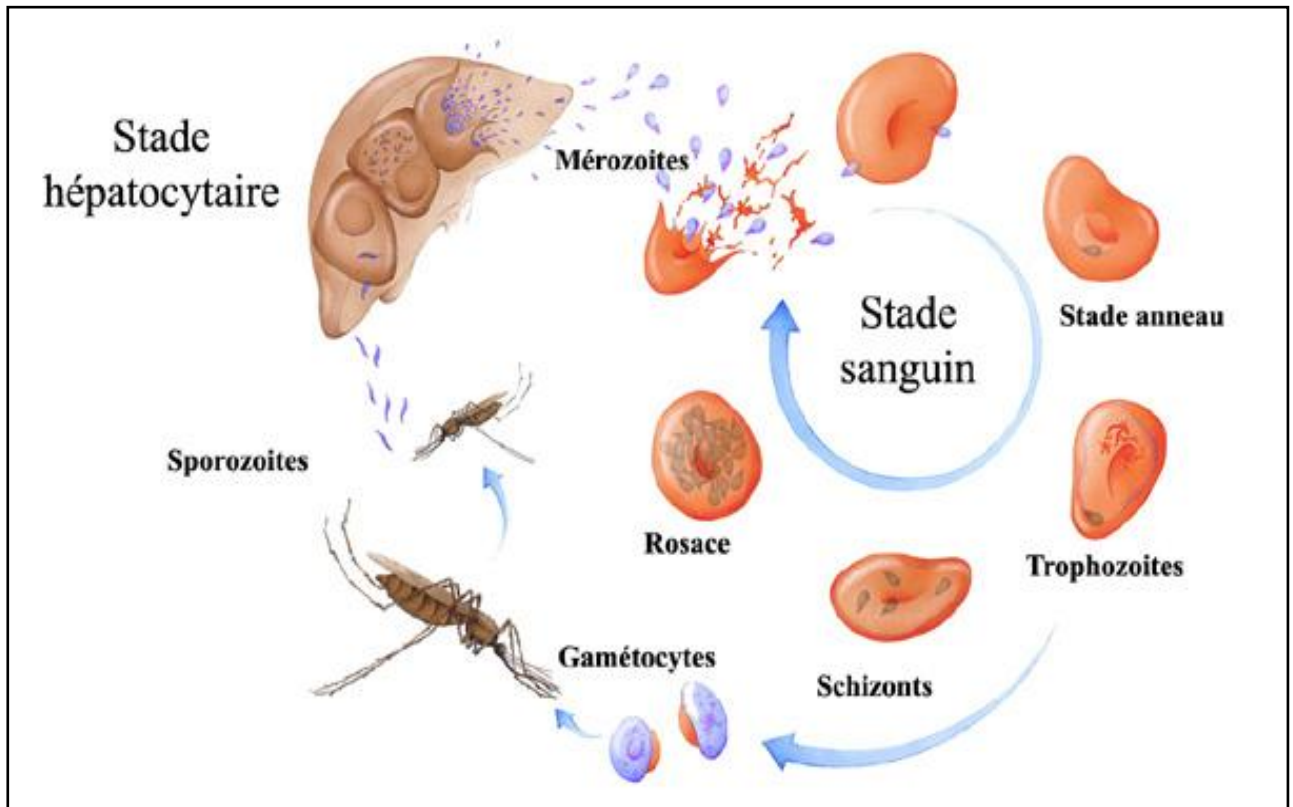


Figure 3 : Cycle de vie de *Plasmodium falciparum*

(www.pasteur.fr/recherche/unites/ImmStr/recherches/recherches-new-malaria.html).

II-1-1 Chez l'anophèle : multiplication sexuée (gamogonie et sporogonie)

L'anophèle s'infecte lors d'un repas sanguin pris sur un individu infecté. Il ingère des gamétocytes à potentiel sexuel, mâle ou femelle. Parvenus dans l'estomac du moustique, ils s'y transforment en gamètes mâles et femelles. La fécondation aboutit à la formation d'un œuf mobile (ookinète) qui s'implante sous la paroi stomacale en formant un œuf immobile : l'oocyste, à l'intérieur duquel s'individualisent des sporozoïtes. Les sporozoïtes libérés dans l'hémolymph de l'insecte s'accumulent dans les glandes salivaires. Ces formes infestantes sont injectées via la salive lors de la piqûre.

II-1-2 Chez l'homme : La reproduction asexuée ou schizogonie

II-1-2-1 Phase hépatique

Chez l'homme, les sporozoïtes envahissent le foie en moins de 30 minutes grâce à une interaction spécifique entre la protéine majeure de surface du parasite : la Circumsporozoite Protein ou CSP [10] et un récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique de l'hépatocyte. Les sporozoïtes entrent alors dans une phase de prolifération intracellulaire qui repousse en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multinucléée appelée schizonte ou « corps bleu ». Après l'éclatement de l'hépatocyte, plusieurs dizaines de milliers de mérozoïtes sont libérés dans la circulation. Cette phase de multiplication est asymptomatique et dure une vingtaine de jours.

II-1-2-2 Phase érythrocytaire

Les parasites amorcent un cycle sanguin asexué en pénétrant dans les hématies. Les mérozoïtes se différencient alors en trophozoïtes intra-érythrocytaires qui se nourrissent d'hémoglobine et la transforment en pigment : l'hémozoïne. Ces trophozoïtes se divisent en formant des schizontes plurinuclés et pigmentés appelés rosaces qui redonnent des mérozoïtes. Leur libération dans le plasma par la lyse du globule rouge détermine l'accès palustre (frissons, fièvre, sueur). Ils réinfestent de nouvelles hématies. La durée totale du

cycle intra-érythrocytaire est de 48 heures pour *Plasmodium falciparum*. Après plusieurs cycles, des trophozoïtes se transforment en stades sexués, les gamétocytes, qui doivent achever leur développement chez le moustique où ils vont entamer une reproduction sexuée à l'origine des sporozoïtes.

II-2 Le métabolisme de *Plasmodium falciparum*

II-2-1 Le métabolisme des carbohydrates

Comme tous les parasites intracellulaires, le *Plasmodium* dépend du glucose comme principale source d'énergie. Après la pénétration du parasite dans l'hématie, la consommation du glucose peut être multipliée par 100 [11]. Son utilisation n'est pas très efficace et conduit à l'accumulation de lactate d'où une réduction du pH interne. L'acide lactique doit être éliminé par le parasite. Toutes les enzymes de la voie de la glycolyse ont été identifiées et sont différentes de celles de l'hôte.

II-2-2 Le métabolisme des lipides

Le *Plasmodium* n'a pas la possibilité de synthétiser les lipides, les acides gras et stérols qui lui sont fournis par le milieu (hématies et sérum).

II-2-3 Le métabolisme des protéines et des acides aminés

Le parasite se procure les acides aminés soit par digestion des protéines érythrocytaires (hydrolyse de l'hémoglobine), soit à partir du pool d'acides aminés libres du plasma. L'hémoglobine est hydrolysée en acides aminés par une série de protéases parasitaires. Jusqu'à 65% du contenu de l'hémoglobine peut être digéré par le parasite mais seulement 16% est incorporé dans les protéines parasitaires [12]. La digestion de l'hémoglobine est une cible d'action majeure des antimalariques comme la chloroquine. Les 7 acides aminés sont essentiels en culture *in vitro* du parasite : la méthionine, la glutamine, l'acide glutamique, la cystéine, l'isoleucine, la proline, la tyrosine.

II-2-4 Le métabolisme des acides nucléiques

En raison de son développement rapide par schizogonie (un mérozoïte pouvant produire de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes en 48 heures), le parasite doit posséder des mécanismes efficaces pour la synthèse des acides nucléiques. Ceci implique l'accès à une source de précurseurs des acides nucléiques. L'érythrocyte ne peut pas fournir de pyrimidines et le parasite doit les synthétiser *de novo*. Il possède toutes les enzymes nécessaires pour la synthèse de l'UMP à partir de la glutamine, de l'ATP et du CO₂. En revanche, il n'est pas capable de réaliser la synthèse des purines. Il les importe du plasma à partir de transporteurs. Le chemin préférentiel pour leur récupération passe par un intermédiaire : l'hypoxanthine [13].

II-3 Clinique

On distingue plusieurs formes cliniques du paludisme selon la symptomatologie de la maladie.

II-3-1 Le paludisme asymptomatique

Le paludisme asymptomatique se définit comme étant l'absence de manifestations cliniques chez un sujet présentant des formes asexuées du parasite à l'examen du sang périphérique. De tels sujets sont dits porteurs sains et constituent un important réservoir de virus en zone d'endémie. Ce portage asymptomatique peut évoluer vers un paludisme simple ou grave.

II-3-2 Le paludisme maladie

La maladie est caractérisée par l'existence dans le sang de l'individu de formes asexuées de plasmodium et accompagnée de signes cliniques (fièvre, frisson, courbature).

II-3-3 Accès palustre simple.

Les accès palustres simples peuvent à tout moment évoluer vers la forme grave ; d'où l'importance de leur diagnostic et de leur traitement précoce. Ils apparaissent après une incubation brève de 7 à 15 jours suivant la piqûre infectante [14]. La maladie est caractérisée par l'existence dans le sang de l'individu de formes asexuées et de signes cliniques.

II-3-4 L'accès palustre grave

Selon l'OMS, le paludisme grave se définit par la présence de formes asexuées de *P. falciparum* à l'examen microscopique du sang périphérique, associée à une ou plusieurs des manifestations suivantes [15] : neuropaludisme (Coma de stade II ou plus), crises convulsives, anémie grave, insuffisance rénale, œdème pulmonaire, hypoglycémie, collapsus circulatoire, hémorragie diffuse, hémoglobinurie massive, acidose sanguine.

II-4 Diagnostic du paludisme

Le diagnostic du paludisme doit être rapide et précis afin d'assurer une prise en charge efficace de la maladie et réduire le recours inutile aux antipaludiques. Une grande sensibilité du diagnostic est importante dans toutes les situations, en particulier pour les groupes de population les plus vulnérables comme les jeunes enfants, chez lesquels la maladie peut être rapidement mortelle. Ce diagnostic est basé sur des critères cliniques (diagnostic clinique), complétés par la détection des hématozoaires dans le sang (diagnostic parasitologique ou de confirmation).

II-4-1 Diagnostic clinique

Les signes et symptômes de l'accès palustre ne sont pas spécifiques. Celui-ci est diagnostiqué cliniquement, par la présence d'une fièvre ou d'antécédents de fièvre. Les recommandations 2009 de l'OMS [16] stipulent que dans les zones où le risque de paludisme est faible, le diagnostic clinique d'un cas de paludisme simple doit être basé sur le degré

d'exposition au paludisme et une notion de fièvre au cours des 3 jours précédents sans autre signe associé.

Dans les zones où le risque palustre est élevé, le diagnostic clinique doit être basé sur une notion de fièvre au cours des 24 heures précédentes et/ou sur la présence d'une anémie, pour laquelle la pâleur palmaire semble être le signe le plus fiable chez le jeune enfant.

II-4-2 Diagnostic parasitologique

Les deux méthodes validées pour le diagnostic parasitologique sont : l'examen au microscope optique et les tests de diagnostic rapide (TDR). L'examen microscopique (frottis sanguin et goutte épaisse) a l'avantage d'être peu coûteux, très sensible et très spécifique. Il permet le diagnostic des espèces. Les TDR qui servent à la détection des antigènes parasitaires sont généralement plus coûteux, mais permettent d'avoir le diagnostic de confirmation.

Les résultats du diagnostic parasitologique doivent être disponibles rapidement (moins de 2 heures) après la consultation du patient. A défaut, il devra être traité sur la base d'un diagnostic clinique.

II-4-2-1 Examens microscopiques

➤ La goutte épaisse

Elle constitue l'examen de référence. Sa réalisation consiste à prélever une goutte de sang sur une lame porte-objet. Le prélèvement est séché puis coloré, sans fixation préalable, à l'aide d'une solution aqueuse de Giemsa qui aura une double action : déshémoglobination et coloration. Après la coloration, seuls resteront sur la lame les leucocytes et les parasites éventuels. La numération consiste à déterminer la densité parasitaire avec un seuil de détection de l'ordre de 10 - 20 parasites par microlitre. Cependant elle reste peu efficace dans le diagnostic d'espèce.

➤ **Le frottis sanguin**

C'est l'étalement mince d'une goutte de sang prélevée au doigt sur une lame de verre. L'examen se fait après une coloration au Giemsa. Il permet de différencier les espèces plasmodiales éventuellement présentes. Le frottis permet de déceler des parasitemies de l'ordre de 200 parasites par microlitre. L'identification d'une espèce plasmodiale donnée nécessite cependant la bonne connaissance de ses caractères morphologiques. Le frottis sanguin permet donc un diagnostic d'espèce. La numération se fait en comptant le nombre d'hématies parasitées.

II-4-2-2 Tests de diagnostic rapide (TDR)

Le principe des tests de diagnostic rapide est de détecter une protéine spécifique de *Plasmodium* par des anticorps monoclonaux spécifiques de ces antigènes et de forte affinité. La majeure partie d'entre eux repose sur la reconnaissance de l'Histidine-Rich Protein II (HRP2) qui est une glycoprotéine de *P. falciparum* exposée à la surface du globule rouge parasité et, en même temps, sécrétée par le parasite intracellulaire. Cependant, il existe des tests basés sur la détection de pLDH (plasmodium lactate déshydrogénase) produite par les hématies parasitées et détectée par ELISA.

II-4-2-3 Autres examens complémentaires

➤ **Test quantitatif buffy coat (Q.B.C)** [17]

Le sang est recueilli dans un tube capillaire contenant de l'acridine. Après centrifugation, les espèces plasmodiales se concentrent à l'interface culot-plasma et leurs noyaux sont colorés en rouge à la lumière U.V. L'acridine orange permet de détecter les parasites mais ne détermine pas l'espèce plasmodiale, ni la densité parasitaire.

➤ **La Polymérase Chain Réaction (PCR)**

La Polymérase Chain Réaction (PCR) est une technique dont le principe est basé sur des réactions de polymérisation en chaîne d'ADN, aboutissant ainsi à une amplification élective de la chaîne d'ADN [18]. La PCR est une méthode essentiellement qualitative, son coût ne permet pas son utilisation en pratique médicale courante. Elle reste une technique de référence.

CHAPITRE II : TRAITEMENT

La lutte contre le paludisme fait intervenir deux paramètres : la lutte contre le vecteur par les insecticides, par utilisation des moustiquaires imprégnés.

Il existe un nombre important de molécules antipaludiques. Cependant, les résistances développées par le parasite sont à la base de l'inactivité d'un grand nombre d'entre elles. Pour remédier à cela, l'OMS conseille l'utilisation des molécules en bithérapie et développe constamment de nouvelles stratégies de lutte contre cette pathologie.

I-Mécanisme d'action et classifications des antipaludiques.

Les médicaments antipaludiques disponibles actuellement sont de structures diverses, avec des mécanismes d'action variés. On peut proposer une classification des antipaludiques existants selon différents critères :

- La forme parasitaire touchée : les formes asexuées (schizonticides) ou sexuées (gamétocytocides) ;
- Le site d'action : dans le globule rouge (érythrocytaire) ou dans les cellules hépatiques (tissulaire) ;
- Le mécanisme d'action : au niveau du métabolisme (antimétabolites) du parasite.
- Le groupe chimique de molécules auquel il appartient : amino-4-quinoléines, aminoalcools, antifolates (antifoliques et antifoliniques), antibiotiques, analogues de l'ubiquinone, amino-8-quinoléines

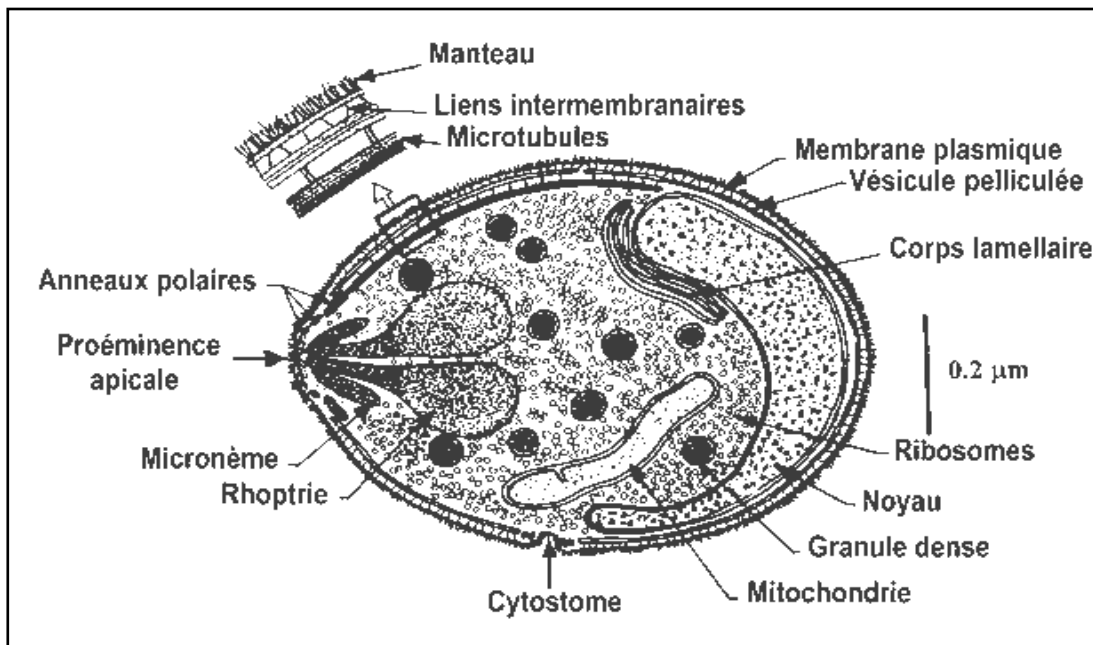


Figure 4 : Représentation schématique de la section d'un mérozoïte de *Plasmodium falciparum* et des ultrastructures de la cellule. (ebischoff.free.fr/Palu/JPG/Figure3.GIF).

Le parasite dispose, pour son développement intra-érythrocytaire, d'un métabolisme et de moyens de défense spécifiques qui constituent autant de cibles d'action des antimalariques. Nous distinguons :

- La vacuole nutritive du parasite qui est le siège de la digestion de l'hémoglobine conduisant à la formation du pigment malarique ou hémozoïne.
- Le cytoplasme comportant les mitochondries et l'apicoplaste qui sont nécessaires à la biosynthèse des acides nucléiques
- Une membrane plasmique, siège du trafic nutritionnel.

Les principaux antimalariques actuels peuvent être classés selon leur mode d'action en plusieurs catégories (figure 5) :

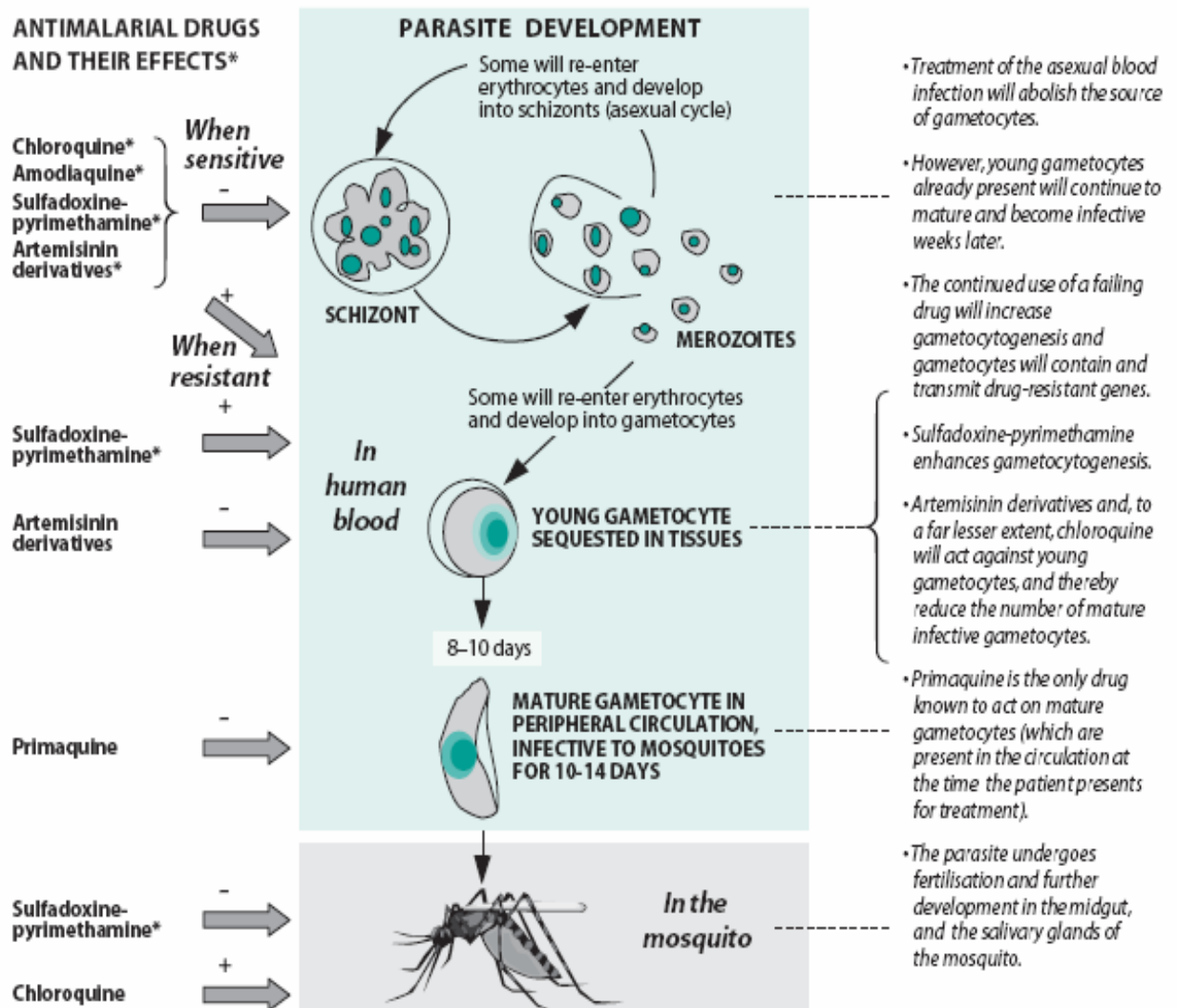


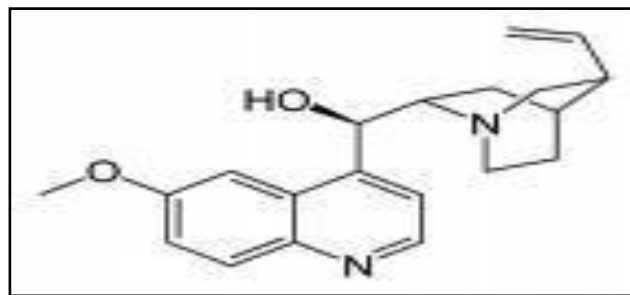
Figure 5: Effets des antipaludiques sur le développement du parasite *Plasmodium falciparum* (WHO 2006) [19].

II- LES ANTIPALUDIQUES

II-1 Schizonticides

Les schizonticides sont les molécules les plus utilisées. Ces molécules interfèrent avec l'utilisation de l'hémoglobine dans la vacuole. Les schizonticides sont utilisés dans l'accès palustre et peuvent avoir une action prophylactique. Les principales molécules dans cette famille d'antipaludiques sont : la quinine, la chloroquine, méfloquine, l'artémisinine et ses dérivés.

➤ Quinine



Poids moléculaire : 324,4

La quinine est un alcaloïde extrait de l'écorce du *Cinchona* (quinquina). Elle agit principalement sur les trophozoïtes mûrs. Comme les autres antipaludiques ayant la même structure, la quinine tue également les stades sexués de *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*, mais pas les gamétocytes parvenus à maturité de *P. falciparum*.

Pharmacocinétique

La quinine est rapidement et presque complètement absorbée au niveau des voies digestives et le pic des concentrations plasmatiques survient 1 à 3 heures après administration orale [20]. Elle est utilisée en intraveineuse en cas de paludisme grave [21;22]. Elle est fortement liée aux protéines plasmatiques, principalement à l'alpha 1- glycoprotéine [23;24]. La quinine est largement distribuée dans tout l'organisme, y compris dans le liquide céphalorachidien, le lait maternel et le placenta [25]. Elle est entièrement métabolisée dans le

foie par l'intermédiaire de l'iso-enzyme CYP3A4 du cytochrome P450, et l'élimination des métabolites est principalement rénale [26;27]. La 3-hydroxyquinine, qui est le métabolite initial, est responsable d'environ 10% de l'activité antimalarique de la quinine, mais peut s'accumuler en cas d'insuffisance rénale [28].

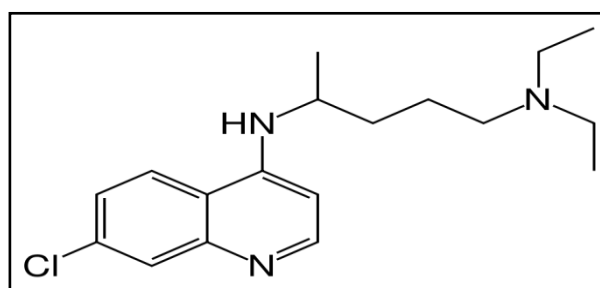
Toxicité

L'administration de quinine provoque régulièrement un complexe de symptômes connu sous le nom de cinchonisme, caractérisé par une altération de l'audition des aigus, des céphalées, des nausées, des vertiges et une dysphorie, parfois accompagnés de troubles de la vision [29]. Les réactions d'hypersensibilité à la quinine vont de l'urticaire, du bronchospasme, au syndrome hémolytique et urémique engageant le pronostic vital. Le surdosage de quinine peut être à l'origine d'une toxicité oculaire et d'une cardiotoxicité souvent mortelle [30].

Interactions médicamenteuses

Elles concernent les molécules suivantes : les anti-arythmiques, les antihistaminiques, les antipsychotiques, la cimétidine et la rifampicine [31].

➤ **Chloroquine**



Poids moléculaire : 436,0

La chloroquine est une amino-4-quinoléine qui a été employée à grande échelle pour le traitement et la prévention du paludisme. Une résistance largement répandue l'a désormais rendue presque inutilisable contre les infestations à *P. falciparum* dans la plupart des régions du monde. Néanmoins, elle reste extrêmement efficace pour le traitement des infestations à

P. vivax, *P. ovale* et *P. malariae*. Comme pour les autres amino-4-quinoléine, elle ne permet pas d'obtenir une cure radicale. La chloroquine interfère avec la détoxification de l'hème par l'hématozoaire [32;33].

Pharmacocinétique

La chloroquine est rapidement et presque complètement absorbée à partir des voies digestives lorsqu'elle est administrée par voie orale. L'absorption est très rapide à la suite d'une administration intramusculaire et sous-cutanée [34;35]. Elle est très largement distribuée dans les tissus de l'organisme, le placenta et le lait maternel. Près de 60% de la chloroquine se fixent aux protéines plasmatiques. Son élimination est rénale. La chloroquine est métabolisée dans le foie, principalement en monodesethylchloroquine, qui a la même activité contre *P. falciparum*.

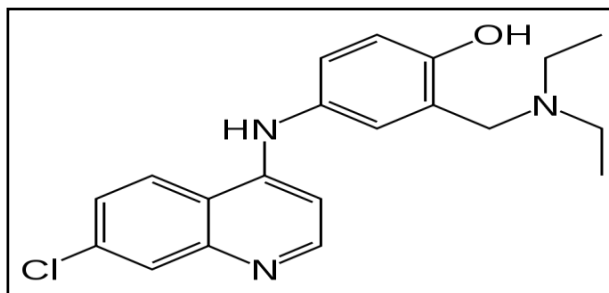
Toxicité

La chloroquine a une très faible marge de sécurité et est très dangereuse lorsqu'elle est surdosée. Dans la pratique, les principaux effets indésirables qui en limitent l'utilisation sont son goût désagréable et le prurit qu'elle provoque [36]. Parmi les autres effets secondaires moins fréquents, on peut citer : les céphalées, diverses éruptions cutanées et des troubles gastro-intestinaux (les nausées, les vomissements et les diarrhées). On observe souvent une toxicité pour le système nerveux central entraînant des convulsions et des troubles mentaux.

Interactions médicamenteuses

Elles concernent l'hlofantrine, la méfloquine et les médicaments qui allongent l'espace QT.

➤ **Amodiaquine**



Poids moléculaire : 355,9

L'amodiaquine est une amino-4-quinoléine (base de Mannich) dont le mode d'action est analogue à celui de la chloroquine. Elle est efficace contre certaines souches de *P. falciparum* chloroquinorésistances, même s'il existe une résistance croisée [37].

Pharmacocinétique

Le chlorhydrate d'amodiaquine est rapidement absorbé au niveau des voies digestives. Il est rapidement métabolisé dans le foie en desethylamodiaquine, son métabolite actif qui assure presque complètement l'effet antipaludique et a une élimination rénale [38].

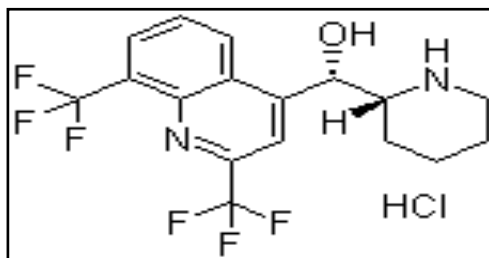
Toxicité

Les effets indésirables de l'amodiaquine sont semblables à ceux de la chloroquine. Elle est associée à un risque plus élevé d'agranulocytose et dans une moindre mesure, d'hépatite lorsqu'elle est utilisée pour la prophylaxie [39].

Interactions médicamenteuses

Eviter d'associer l'amodiaquine à des médicaments hépatotoxiques ou susceptibles d'entraîner une agranulocytose [40].

➤ **Méfloquine**



Poids moléculaire 378,3

La méfloquine est une 4-quinoléine-méthanol. C'est un antipaludique majeur dont le rapport bénéfice/risque est moins favorable que la chloroquine, mais qui est actif sur toutes les souches y compris celles chloroquinorésistantes [41].

Pharmacocinétique

Elle est assez bien absorbée au niveau des voies digestives, mais il y a une variation interindividuelle marquée dans la durée nécessaire pour obtenir le pic des concentrations plasmatiques. L'administration en deux prises d'une dose de 25 mg/kg en 6 à 24 heures d'intervalle, augmente l'absorption et améliore la tolérabilité [42]. Sa fixation aux protéines plasmatiques Elle est métabolisée dans le foie et principalement excrétée dans la bile et les selles.

Toxicité

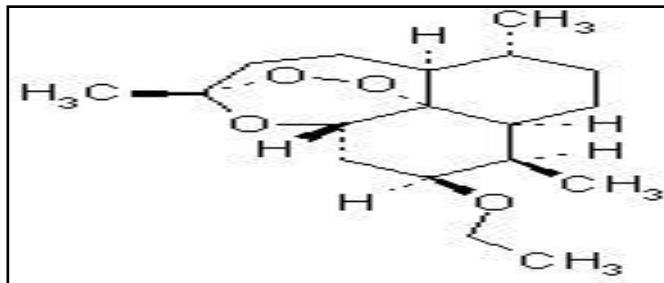
Des effets indésirables mineurs sont fréquents. On rencontre le plus souvent des troubles digestifs, des céphalées, des vertiges, des troubles du sommeil. Dans les cas graves, on peut observer des troubles neuropsychiatriques (convulsions, encéphalopathie, psychose) [43;44] et des effets cardio-vasculaires : hypotension orthostatique, bradycardie et rarement, hypertension, tachycardie.

Interactions médicamenteuses

Elles concernent les molécules suivantes : les bêtabloquants, les inhibiteurs calciques, l'amiodarone, la digoxine, les antidépresseurs, la quinine, la chloroquine, l'ampicilline, la tétracycline et la métoclopramide.

➤ Artémisinine et ses dérivés.

❖ Artémisinine



Poids moléculaire : 282,3

L'artémisinine, également connue sous le nom de qinghaosu, est une lactone sesquiterpène extraite des feuilles d'*Artemisia annua* (armoise). C'est un schizontocide sanguin puissant et d'action rapide, actif contre toutes les espèces de *Plasmodium*.

Dans le paludisme à *P. falciparum*, l'artémisinine tue également les gamétocytes qui ne sont sensibles qu'à la primaquine. L'artémisinine a désormais largement laissé la place à la dihydroartémisinine plus puissante et à ses dérivés, l'artémether, l'artémotil et l'artésunate.

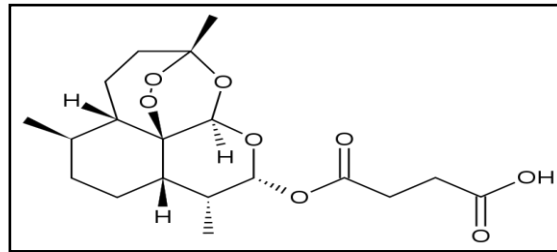
Pharmacocinétique

Suite à une administration orale et rectale, le pic des concentrations plasmatiques est obtenu au bout de 3 heures et 11 heures respectivement [45]. C'est un inducteur puissant de son propre métabolisme. Sa demi-vie d'élimination est d'environ 1 heure [46].

Toxicité

L'artémisinine et ses dérivés sont bien tolérés [47 ; 48]. On observe souvent des troubles bénins à savoir : des troubles gastro-intestinaux, des vertiges, une neutropénie. Le seul effet indésirable potentiellement grave rapporté avec cette classe de médicaments est une réaction d'hypersensibilité de type 1 chez environ 1 malade sur 3000 [49].

❖ Artésunate



Poids moléculaire : 384,4

L'artésunate est le sel sodique de l'hemisuccinate d'artémisinine, un ester. Il est soluble dans l'eau mais peu stable en solution aqueuse à pH neutre ou acide. L'artésunate peut être administré par voie orale, rectale, intramusculaire ou intraveineuse.

Pharmacocinétique

L'artésunate est rapidement absorbé, les pics de concentrations plasmatiques survenant au bout de 1h30mn et 2h30mn après administration orale, rectale et intramusculaire, respectivement [50 ; 51]. Il est presque entièrement métabolisé en dihydroartémisinine, qui est son métabolite actif [52]. Son élimination est très rapide. Elle n'est active que sous sa forme métabolisée (demi-vie d'environ 45 minutes) [53].

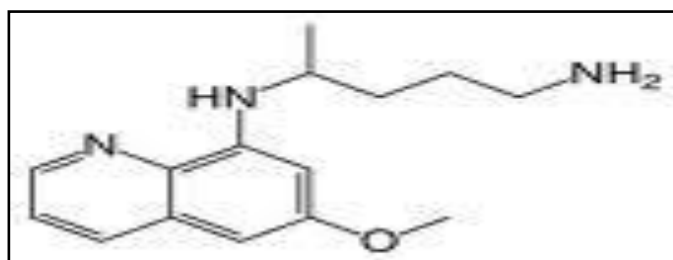
Toxicité

Identique à celle de l'artémisinine.

II-2 Les gamétocytocides

Les gamétocytocides ont une action sur les gamétocytes. Cette famille est composée des amino-8-quinoléines dont le représentant est la primaquine.

➤ Primaquine



Poids moléculaire : 259,4

La primaquine est une amino-8-quinoléine efficace contre les formes intrahépatiques de tous les types d'hématozoaires. Elle est utilisée pour obtenir une cure radicale en cas d'accès à *P. vivax* et *P. ovale* [54]. La primaquine est également gamétocytocides contre *P. falciparum* et est active contre les stades sanguins de *P. vivax* (et a une certaine activité contre les stades asexués de *P. falciparum*).

Pharmacocinétique

Elle est facilement absorbée au niveau des voies digestives. Le pic des concentrations plasmatiques survient 1 à 2 heures après administration, puis diminue avec une demi-vie d'élimination rapportée d'environ 3 à 6 heures. La primaquine est largement distribuée dans les tissus de l'organisme. Elle est rapidement métabolisée dans le foie. Son principal métabolite est la carboxyprimaquine, qui peut s'accumuler dans le plasma lors d'administrations répétées [37].

Toxicité

Les effets indésirables les plus importants sont les suivants : une anémie hémolytique chez les sujets présentant un déficit en G6PD, d'autres défauts de la voie des pentoses phosphates du métabolisme du glucose dans les érythrocytes, ou d'autres types d'hémoglobinopathies [37].

Interactions médicamenteuses

On prendra soin d'éviter les médicaments susceptibles d'accroître le risque d'hémolyse ou de dépression médullaire osseuse.

II-3 Les antimétaboliques

Les antimétabolites regroupent les molécules qui agissent au niveau du métabolisme du parasite. On distingue les antifolates, d'autres antimétabolites, tels que les analogues de l'ubiquinone ou des antimétabolites non spécifiques comme les antibiotiques.

II-3-1 Les antifolates [55-59]

Les antifolates sont des molécules agissant sur le métabolisme de l'acide folique. La métabolisation de l'acide folique du parasite aboutit à la formation des bases puriques et pyrimidiques et donc de l'ADN. Sous l'action de la dihydroptérate synthétase (DHPS) l'hydroxydiméthyl-dihydroptérine est diphosphorylée, permettant l'addition d'une molécule d'acide para-amino-benzoïque (PABA) pour former l'acide dihydroptéroïque, puis d'une unité d'acide glutamique (L-Glu) pour former l'acide dihydrofolique (FH₂). FH₂ est alors réduit sous l'action de la dihydrofolate réductase (DHFR) en acide tétrahydrofolique (FH₄), molécule qui est à la base de la synthèse d'ADN. Selon qu'ils agissent au niveau de la DHPS ou de la DHFR, on distingue les antifoliques des antifoliniques.

La sulfadoxine représente le chef de file des antifoliques tandis que les antifoliniques sont représentés principalement par la pyriméthamine et le proguanil.

II-3-2 Les autres antimétaboliques

Les antibiotiques comme les cyclines (doxycycline, tétracycline) et la clindamycine ont une activité antipaludique en agissant sur le métabolisme du parasite. La doxycycline est réservée à des cas bien précis du traitement de prophylaxie, où il y a des souches de *P. falciparum* multirésistantes. Elle est contre-indiquée avant l'âge de 8 ans, déconseillée chez la femme enceinte. La *clindamycine*, lincosamide inhibe la synthèse de protéines par un mécanisme similaire à celui des macrolides.

III- RESISTANCE AUX ANTIPALUDIQUES

La résistance est apparue contre toutes les classes d'antipaludiques à l'exception, jusqu'à présent, des dérivés de l'artémisinine. Cette résistance a augmenté la charge de morbidité mondiale due au paludisme et constitue une menace importante pour la lutte antipaludique. L'utilisation très répandue et sans discernement des antipaludiques en est la cause. La résistance peut être évitée ou son apparition différée considérablement en associant deux molécules de mécanisme d'action complémentaire et à pharmacocinétiques différentes. La résistance de *P. falciparum* à la chloroquine est principalement due à la pression médicamenteuse à grande échelle qui a entraîné des mutations au niveau des gènes de transporteurs parasites (PfCRT, PfMDR) qui ont pour conséquence une diminution de la concentration de chloroquine dans la vacuole digestive (son site d'action). Les événements génétiques qui confèrent la résistance aux drogues antipaludiques sont spontanés et rares. On pense qu'ils sont indépendants de la drogue. L'année 2009 a vu se confirmer la possibilité d'échecs des traitements curatifs par l'association atovaquone-proguanil recommandée comme traitement de première ligne chez l'adulte. Cela fait de l'association artheméther-luméfantrine, une alternative de premier choix [60].

D'autres associations médicamenteuses existent, notamment celles impliquant les dérivés de l'artémisinine. Celles faisant l'objet d'études récentes sont : Pyronaridine-Artésunate; Pipéraquline-Dihydroartémisinine- Triméthoprime; Artécom-Primaquine; Artéméther-Benflumetol.

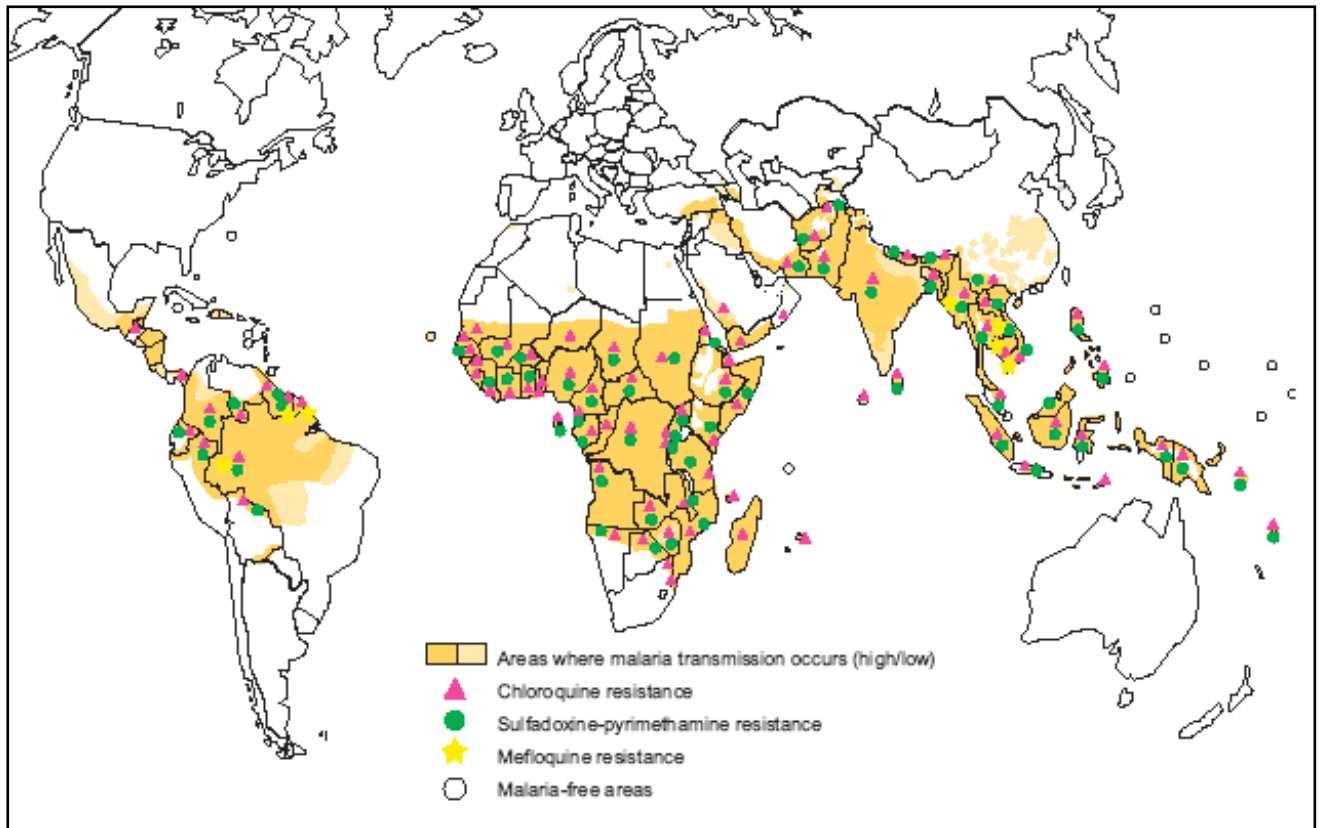


Figure 6 : Résistance aux antipaludiques de *P. falciparum* d'après les études dans les sites sentinelles WHO 2005 [61].

Partie pratique

I-MATERIELS ET METHODES

Nous passerons en revue notre laboratoire d'accueil, la méthodologie ainsi que le matériel utilisés pour réaliser notre travail.

I- 1 Description du lieu de travail

Notre travail a été effectué au sein de la section recherche de l'Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale de Strasbourg (IPPTS) de Septembre 2009 à Mai 2010.

I-1-1 Présentation de L'IPPTS (Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale de Strasbourg)

L'IPPTS est un institut ayant 3 missions :

- Diagnostic
- Enseignement
- Recherche

Il abrite différents secteurs d'activités qui se caractérisent par :

- Un haut niveau de savoir faire en analyses de biologie médicale
- Un panel biologie de techniques biologiques large : microbiologie, immunologie et biologie moléculaire.
- Une innovation technologique permanente liée au statut hospitalo-universitaire.

Leurs prestations reposent sur :

- Des analyses effectuées avec des techniques performantes et dans les meilleurs délais
- La capacité à fournir une assistance personnalisée par des biologistes spécialisés.
- Une démarche qualité mise en place dans tous les secteurs selon la norme ISO 15189.

Son équipe de recherche possède le statut d'Equipe d'Accueil universitaire avec pour projet l'étude de l'interaction hôte-parasite.

L'IPPTS a établi des collaborations avec des industries et des entreprises parmi lesquelles figure l'entreprise privée DiaMed (Cressier, Suisse) mise en place depuis 2000. Cette activité de Recherche et Développement concerne essentiellement le paludisme. Il s'agit de développer entre autres de nouveaux outils de diagnostic sérologique.

I-1-2 Organigramme de l'IPPT

Organigramme de l'Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale - année 2009



3 rue Koeberlé - 67000 Strasbourg ☎ 03 90 24 37 98 📠 03 90 24 38 09

(http://www-ulpmed.u-strasbg.fr/parasito_strasbourg/pdf/organigramme.pdf)

I-2 Description des molécules à tester

Les trois molécules que nous avons testées ont été fournies par le Dr Catherine Vonthron-Sénécheau de l'équipe de Pharmacognosie et Molécules Naturelles Bio-actives du Laboratoire d'Innovation Thérapeutique (UMR CNRS 7200) de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg. La Lanaroflavone, biflavonoïde extrait de plante est à la base de la synthèse des deux autres analogues structuraux.

I-2-1 Lanaroflavone

La Lanaroflavone [62] est un biflavonoïde qui a été isolé des feuilles de *Camposperma panamense* Standl. (Anacardiaceae) par chromatographies liquides successives, à partir d'un extrait méthanolique (Rendement d'extraction d'environ 5%) [4]. Il a été récemment prouvé une activité antiparasitaire de cette molécule. Elle présente une activité antiplasmodiale sur la souche *P. falciparum* K1 multirésistante (CI_{50} = 0.2 μ g/ml) et leishmanicide sur *L. donovani* (stade amastigotes) (CI_{50} = 3.9 μ g/ml). Son activité antitrypanosomiale a également été étudiée sur *Trypanosoma cruzi* mais n'a révélée aucun effet de cette molécule [4].

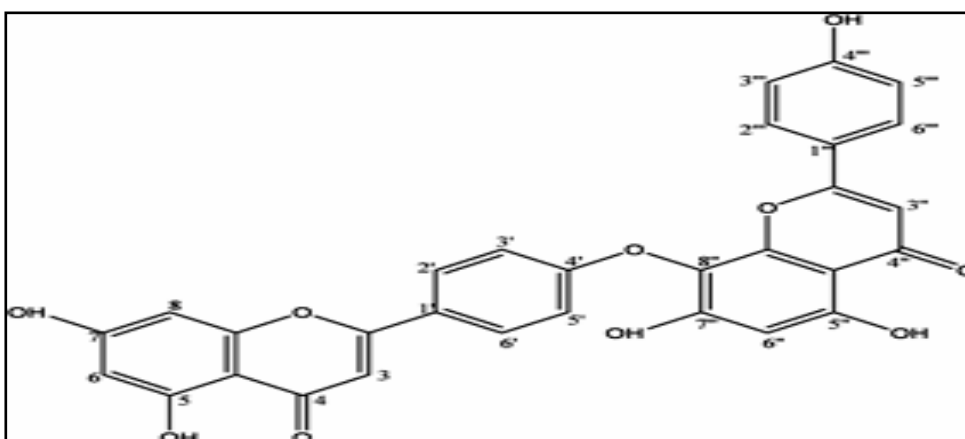
I-2-1-1 Camposperma panamense



Figure 7 : Photo des Feuilles de *C. panamense*.

Camposperma panamense Standl. (Anacardiaceae) est une plante endémique colombienne. Elle a été identifiée par le Dr Robert T. Gonzalez de l'Université de Valle [4]. Aucun usage médical n'avait été prouvé pour cette plante. Par contre, elle était suspectée avoir une activité antiprotozoaire vu son appartenance à la famille des Anacardiacées (utilisées en Amérique du sud comme antimalarique [62]).

I-2-1-2 Structure chimique de la lanaroflavone.

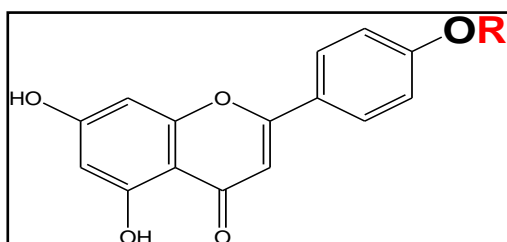
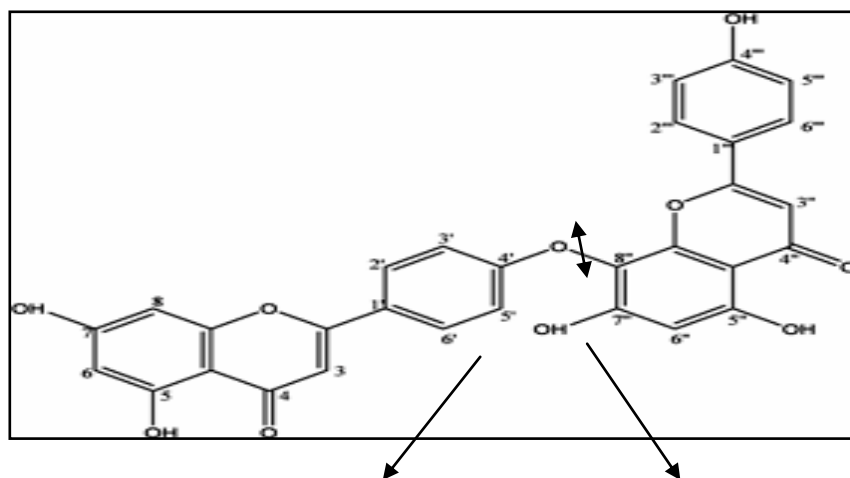


Biflavonoïde constitué de deux unités d'apigénine reliée par une liaison C-O-C. (4'', 5,5'', 7,7''-pentahydroxy-4, 8''-biflavonyl ether).

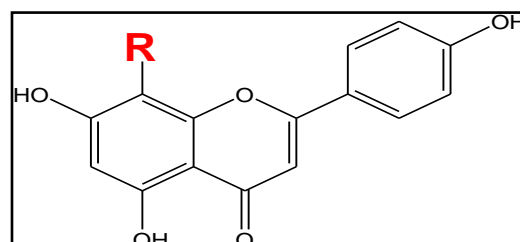
La pureté de notre molécule est de 80%.

I-2-2 Les analogues structuraux de la lanaroflavone

Les analogues que nous avons testé ont été synthétisés à partir de la structure de la lanaroflavone, après simplification. En effet, la lanaroflavone est un biflavonoïde, donc une molécule de taille importante. Dans le but d'optimiser son profil pharmacologique, il importait de simplifier sa structure et de la réduire aux seuls éléments structuraux indispensables à son activité. Les analogues structuraux sont des flavonoïdes qui ont été obtenus par synthèse chimique, soit par une O-alkylation soit par couplage catalysé au palladium (pd).



O-alkylation

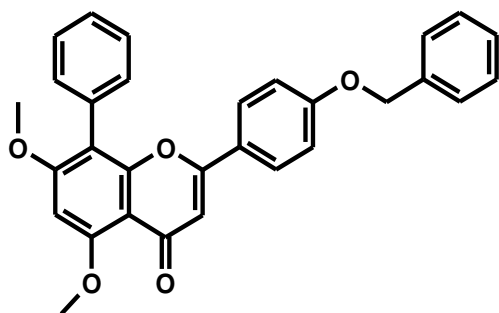


Couplage Pd

Les molécules que nous utiliserons dérivent de couplage Pd.

Analogue 1 (A1)

Analogue 2 (A2)



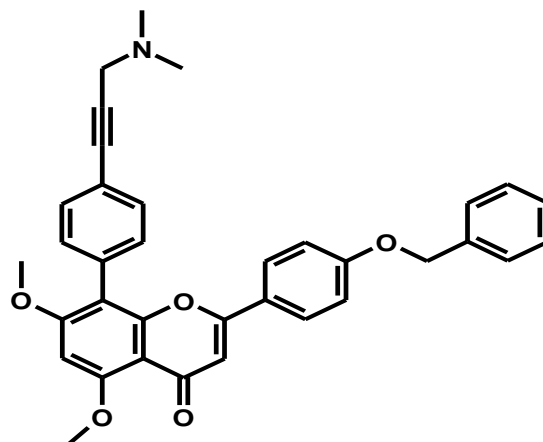
Masse moléculaire = 464.52

Formule chimique = C₃₀H₂₄O₅

Composition moléculaire = C 77.57% ;

H 5,21%

O 17,22%



Masse moléculaire = 469.54

Formule chimique = C₂₉H₂₇NO₅

Composition moléculaire = C 74.18%

H 5,80%

N 2.98%, O 17%

I-3 Les Essais thérapeutiques

L'essai thérapeutique *in vitro* nécessite une quantité suffisante de parasite. D'où la nécessité de la culture. En plus du parasite et des échantillons à tester, la maîtrise des moyens de détermination de l'activité des molécules et l'évaluation de la CI₅₀ sont indispensables.

I-3-1 La culture de *Plasmodium falciparum*

La culture du plasmodium est l'étape initiale et indispensable à la réalisation de nos essais thérapeutiques. Elle consiste en la multiplication du parasite dans les hématies qui seront utilisées pour les expériences. La culture du stade érythrocytaire de *P. falciparum in vitro* a été réalisée pour la première fois par Trager et Jensen en 1976 [63]. La dépendance du parasite pour un environnement intracellulaire étant absolue, trois facteurs sont essentiels au maintien de *Plasmodium falciparum* en culture: le milieu, les hématies et l'atmosphère de croissance.

I-3-1-1 Souche plasmodiale

Nous avons utilisé comme souche plasmodiale la 7G8 chloroquinorésistante d'origine brésilienne.

I-3-1-2 Préparation des hématies

La culture ne nécessite pas le sang total mais uniquement des hématies du groupe sanguin O + (Etablissement Français du Sang, Strasbourg, France). A la réception des poches de sang, les hématies sont additionnées de milieu de conservation (Saline Adenine Glucose Medium) afin de permettre leur conservation pendant 40 jours. Avant chaque utilisation, les hématies sont lavées avec du RPMI et l'hématocrite est ajusté à 50%. Les échantillons de sang sont conservés à 4°C pendant 7 jours maximum.

I-3-1-3 Milieu de Culture Malaria (MCM)

Le milieu synthétique utilisé est le RPMI 1640 avec glutamax. Il renferme 19 acides aminés, 11 vitamines ou cofacteurs vitaminiques, 5 anions et 4 cations. Néanmoins, cette formule ne suffit pas aux besoins du parasite. Il convient d'y ajouter 10% de sérum bovin (Perbio Science, Brebières, France) qui remplace le sérum humain (dont le coût est élevé) ainsi que plusieurs autres constituants correspondants aux besoins nutritifs du parasite : l'hypoxanthine (1 µg/mL) et le pyruvate de sodium (0,11 mg/mL). Le milieu est additionné de gentamicine (0,02 mg/mL) et tamponné à l'HEPES (Gibco, Invitrogen, Cergy Pontoise, France).

I-3-1-4 Mise en culture du parasite

La parasitémie est un facteur important pour la culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum*. Elle est contrôlée quotidiennement par coloration au May-Grünwald-Giemsa au moment du renouvellement du milieu afin de la maintenir à une valeur de 1%. L'hématocrite est maintenu à 1% (1 mL d'hématies pour 99 mL de milieu de culture). Les cellules infectées sont en couche mince dans des flasques de culture cellulaire (75 cm²) à l'intérieur d'une enceinte thermostatée à 37°C et sous une atmosphère pauvre en oxygène, telle qu'on la trouve dans une cloche à vide appelée « Candle Jar » (Figure 8).



Figure 8 : Photo d'un Candle jar (Source: IPPTS)

I-3-1-5 Coloration des frottis

Le frottis sanguin est la technique retenue pour déterminer la parasitémie. Cette technique consiste à étaler du sang sur une lame à l'aide d'une lamelle. Après avoir agité la lame pour sécher le sang, elle est fixée et colorée au May-Grünwald-Giemsa. Cette technique repose sur l'action complémentaire de deux colorants neutres et sur l'affinité des éléments cellulaires pour les colorants acides ou basiques. Le May-Grünwald, neutre, contient un colorant acide : l'éosine et un colorant basique : le bleu de méthylène. Le Giemsa, neutre, contient lui aussi de l'éosine et un colorant basique : l'azur de méthylène. Ces deux colorants sont solubilisés dans le méthanol. Leur contact avec l'eau leur donne un pouvoir colorant (Figure 9).

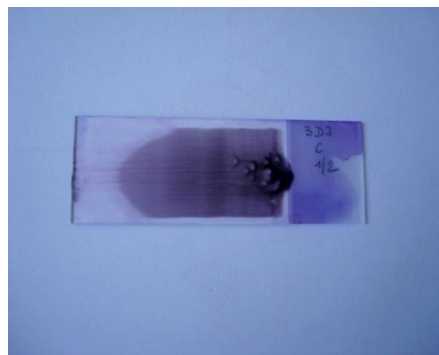


Figure 9 : Photos des Bac de coloration des frottis (gauche) et frottis coloré (droite) (*source IPPTS*).

I-3-1-6 Congélation

La congélation des parasites vivants dans l'azote liquide (-196°C) permet de maintenir un stock de plasmodium. Elle est rendue possible par l'utilisation d'agents cryoprotecteurs dont le glycérol (28%) et le diméthylsulfoxyde dans une solution isotonique (NaCl 0,65%). La durée de conservation à cette température est indéfinie.

I-4 Etude de l'activité antiplasmodiale des molécules.

L'activité antiplasmodiale des molécules a été déterminée par méthode ELISA basée sur la détection de la pLDH (plasmodium Lactate Déshydrogénase) présente dans la culture.

Afin de nous rassurer de l'innocuité des molécules testées, nous avons évalué leur toxicité sur deux types cellulaires : les hématies et les hépatocytes.

I-4-1 Etude de l'activité hémolytique

L'activité des molécules sur les hématies pourrait entrer en compétition avec leur effet global sur le parasite. Il convient donc de mesurer cette activité hémolytique. Les hématies saines sont lavées 3 fois dans du PBS stérile. Une série de dilution est réalisée et chaque solution est incubée avec une suspension d'hématies de même volume dans une microplaque de 96 puits. L'agent hémolytique utilisé est le SDS (Sodium Dodécyl-sulfate) à 5% [64]. Une solution d'hématies saines est diluée (v/v) avec du MCM et représente le témoin négatif (pas d'activité hémolytique). La plaque est incubée à 37°C pendant 40 minutes sous agitation puis centrifugée. L'absorbance des échantillons est mesurée à 438 nm [64].

I-4-1-2 Etude de la toxicité hépatique.

Cette étude a été réalisée sur des hépatocytes de lignée 1-6 de rat.

- **La culture des hépatocytes.**

Les cellules sont cultivées dans un milieu DMEM auquel on rajoute 10% de sérum de veau fœtal, la pénicilline (10UI/ml) et la streptomycine (10µg/ml).

- **Mise en culture des cellules.**

Les cellules utilisées proviennent du stock du laboratoire, conservées dans l'azote liquide. Les cellules préalablement congelées, sont décongelées rapidement dans le bain-marie, lavées avec du milieu de culture complet et centrifugées à 1200 rpm à 4°C pendant 5 min. Le culot est repris dans du milieu de culture puis transvasé dans une petite flasque de 25 ml dans un volume total de 10 ml. La flasque est placée dans un incubateur à 37° C avec 5% CO2. Les cellules sont observées au microscope en phase inverse tous les jours et les milieux changés toutes les 48 heures. Les cellules sont passées dans une grande flasque 75 ml (volume total 15 ml) lorsqu'elles sont à confluence.

- **Entretien des cultures**

Le milieu de culture est changé tous les 48 heures avec vérification de la confluence des cellules.

- **Repiquage des cellules**

Les cellules sont repiquées lorsqu'elles sont à confluence. Il faut pour ce faire, retirer le milieu de culture puis rincer les cellules avec du milieu sans sérum (PBS) afin d'éviter l'inactivation de la trypsine par le sérum. L'ajout de la trypsine (5 ml pendant environ 5min) permet de décoller les cellules. Le contact prolongé de la trypsine avec les cellules pourrait entraîner la lyse de celles-ci. Centrifuger le tout (1200 rpm, 4°C et pendant 5min) et reprendre à nouveau le culot dans du milieu de culture (3 mL). Diluer un petit volume de la culture dans du bleu Trypan pour faire le comptage des cellules en chambre de comptage KOVACS.

$\text{Nombre de cellules/mL} = \text{moyenne de cellules par champ} \times \text{dilution} \times 10^4$
--

- **Congélation**

Les cellules sont congelées à la concentration de 2×10^6 /ml du milieu de congélation composé de DMEM à 70 %, sérum de veau fœtal 20% DMSO 10%. Les cryotubes sont conservés pendant 24 heures dans une boîte de congélation à -80°C puis dans l'azote liquide.

- **Mise en évidence**

Ce test est basé sur la mesure de l'activité des déshydrogénases mitochondriales, enzymes fonctionnelles uniquement dans les cellules vivantes. Le principe de ce test est la réduction d'un sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) par une succinate déshydrogénase des cellules vivantes en formazan. La couleur du milieu passe alors du jaune au bleu-violacé. La quantité formazan mesurée est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Ce test permet d'évaluer la DL 50% (dose létale) [65]. Les hépatocytes sont incubées pendant 24 heures à 37°C dans les plaques de 24 puits dans du DMEM. Le milieu de culture est retiré et remplacé par les solutions de concentrations croissantes d'échantillons à tester durant 24 heures à 37°C . Après cette seconde incubation, retirer la solution, laver avec du PBS le tapis cellulaire afin d'éliminer le sérum car elle peut interagir avec le MTT puis rajouter une solution de MTT à 0.5mg/ml. Après 3 heures d'incubation, retirer délicatement le surnageant sans toucher aux cristaux de formazan formés. Arrêter la réaction avec un mélange éthanol/DMSO (50%). Bien dissoudre les cristaux et lire au spectrophotomètre à 570 nm [65].

I-5 Mesure de l'activité antimalarique des molécules.

L'évaluation de l'activité antimalarique nécessite une période d'incubation entre la molécule à tester et le parasite. Les méthodes d'évaluation sont nombreuses. Dans notre travail, nous avons utilisé deux méthodes : une basée sur l'évaluation de la parasitémie et une autre sur la mesure de *plasmodium* lactate deshydrogenase (pLDH).

- **Incubation**

Une culture de *Plasmodium* est incubée dans une plaque de 96 puits à une parasitémie de 0,5 à 1% et un hémocrite de 4 % avec des concentrations décroissantes d'échantillons (en triplicata) à une température de 37°C pendant 96h. On utilise deux témoins. Un témoin de croissance qui est appelé témoin positif. Il est représenté par la culture et le MCM uniquement. Le témoin d'inhibition appelé témoin négatif. Celui-ci est composé de culture à laquelle on rajoute de la chloroquine à différentes concentrations afin d'avoisiner sa CI_{50} . Les échantillons sont dilués dans du MCM. Les concentrations sont identiques pour les 3 molécules à tester et sont exprimées en $\mu\text{g/mL}$. On a dans l'ordre croissant : 0.005 $\mu\text{g/mL}$, 0.05 $\mu\text{g/mL}$, 0.1 $\mu\text{g/mL}$, 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 0.4 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$. Les concentrations de la chloroquine sont les suivantes : 50 nM, 100 nM, 120 nM, 150nM, 200 nM, 250 nM, 300 nM, 400 nM. Au terme de la période d'incubation, le surnageant de chaque puit est prélevé et dilué au 1/5 en vue de déterminer, par la lecture au spectrophotomètre, la production de pLDH par le parasite.

I-5-1 Lecture de frottis sanguin

Cette méthode est certes plus rapide mais moins précise. Elle permet de cribler des molécules à partir de l'évolution de la parasitémie. Après incubation, le surnageant servira à la détermination de la pLDH et le culot à l'évaluation de la parasitémie. L'activité d'une molécule est suspectée lorsque la parasitémie diminue pour des concentrations croissantes de la molécule. Cette méthode ne nous permet pas d'obtenir avec précision la CI_{50} mais d'identifier l'intervalle d'activité de la molécule. Elle nous permet aussi d'observer l'impact des molécules sur la structure des hématies.

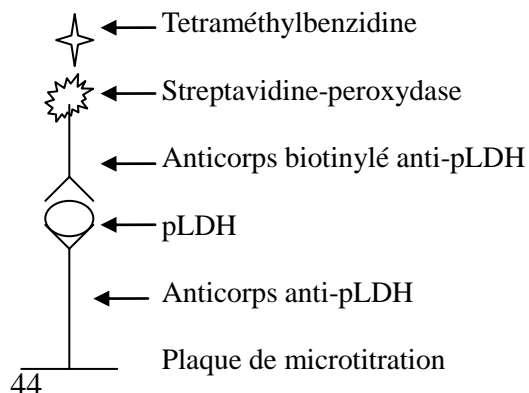
I-5-2 Mesure de la pLDH

La pLDH est mesurée en utilisant un kit ELISA commercial fourni par la société DiaMed (DiaMed ELISA Malaria Antigen test, Cressier sur Morat, Suisse). Cet antigène détecté est une enzyme intracellulaire métabolique, spécifique au *plasmodium*, présent dans les hématies parasitées [66]. Sa synthèse et son accumulation peuvent être utilisées à la fois *in vivo* et *in vitro* comme indices de viabilité parasitaire [67]. L'ELISA –Malaria test est un test immunoenzymatique est une méthode de quantification de la pLDH utilisant des anticorps monoclonaux [68].

Le protocole utilisé est décrit dans le guide du kit. Les surnageants obtenus après l'incubation, sont dilués au 1/5 dans du RPMI avant utilisation. Le tampon de lyse (100µL) puis 50 µL de la culture parasitaire sont transférés dans la plaque ELISA (en triplicata). La plaque est alors incubée 1 heure à 37°C sous agitation puis lavée. Après addition d'un second anticorps monoclonal biotinylé anti-pLDH, la plaque est à nouveau incubée 30 minutes à 37°C et lavée. Une troisième incubation de 15 minutes à 37°C avec 100 µL de solution de streptavidine-peroxydase est réalisée avant de nouveaux lavages.

Le deuxième anticorps fixe ainsi la streptavidine marquée à la peroxydase d'hydrogène (H₂O₂), qui en présence de son substrat développe une réaction colorée. Une dernière incubation de 15 minutes à 37°C avec 100 µL de tétraméthylbenzidine (TMB) permet de révéler l'activité enzymatique. La réaction est arrêtée par l'acide sulfurique. La mesure des densités optiques s'effectue entre 450 - 630 nm. Cette intensité mesurée est directement proportionnelle à la quantité de pLDH libérée par la croissance parasitaire.

Principe du test ELISA pLDH



I-5-2-1 Détermination de la CI₅₀

Afin de déterminer la CI₅₀ de l'échantillon, c'est-à-dire la concentration qui permet d'inhiber 50% des parasites, nous avons retenu la méthode statistique développée sur la base d'une régression non linéaire [69]. Le calcul de la CI₅₀ a été réalisé à partir du site « <http://www.antimalarial-icestimator.net> ».

II-RESULTATS

Les résultats des tests précédents sont mentionnés dans les figures et tableaux ci-dessous. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicata.

II-1 Test d'hémolyse

Les résultats du test d'hémolyse de la lanaroflavone, les analogues A1 et A2 sont représentés respectivement sur les figures 10(a), 10(b) et 10(c).

- **Activité hémolytique de la lanaroflavone.**

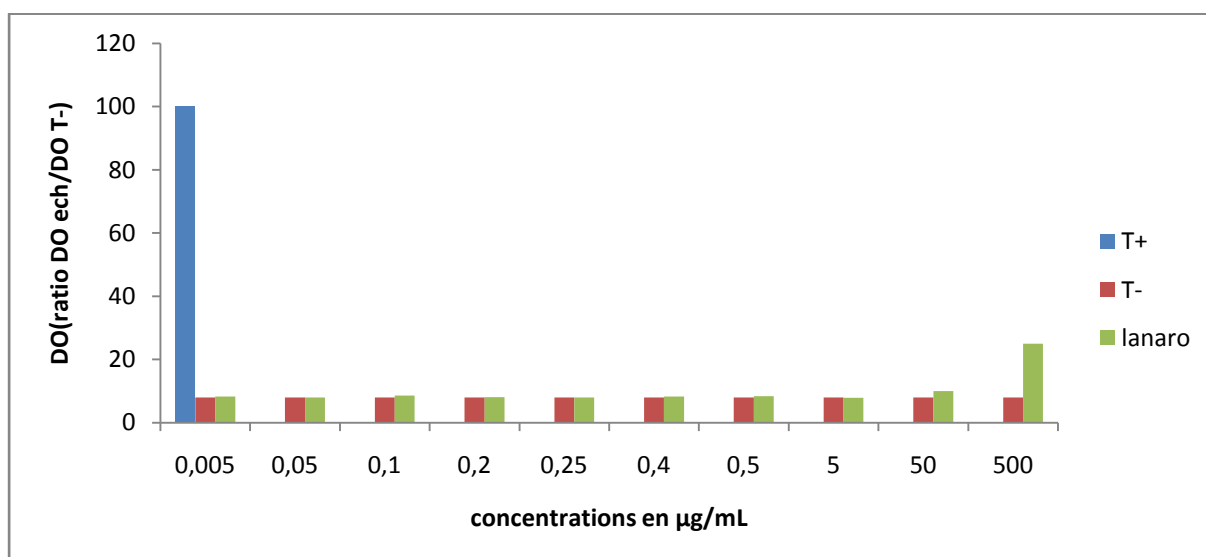


Figure 10 (a) : Représentation des résultats du test d'hémolyse de la lanaroflavone

Témoin positif (T+) : SDS + hématies ; SDS : agent hémolytique.

Témoin négatif (T-) : MCM +hématie

Les résultats obtenus montrent que pour les concentrations comprises entre 0,005-50 μ g/mL, il n'y a pas de différence significative entre les DO du T- et la lanaroflavone.

On observe à 500 μ g/mL, une augmentation significative des DO de la molécule par rapport au T-.

- **Activité hémolytique de A1**

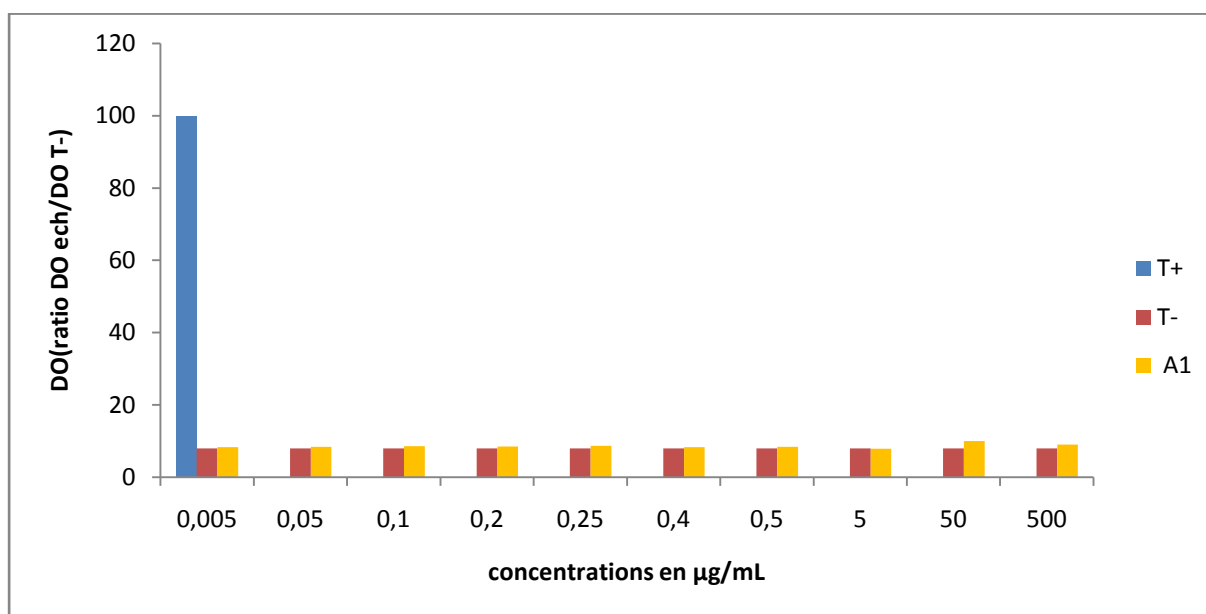


Figure 10(b) : Diagramme du test d'hémolyse de l'analogue A1

Témoin positif (T+) : SDS +hématies ; SDS : agent hémolytique.

Témoin négatif (T-) : MCM +hématie

Pas de différence significative entre les valeurs de DO de A1 et celles de T-.

- Activité hémolytique de A2

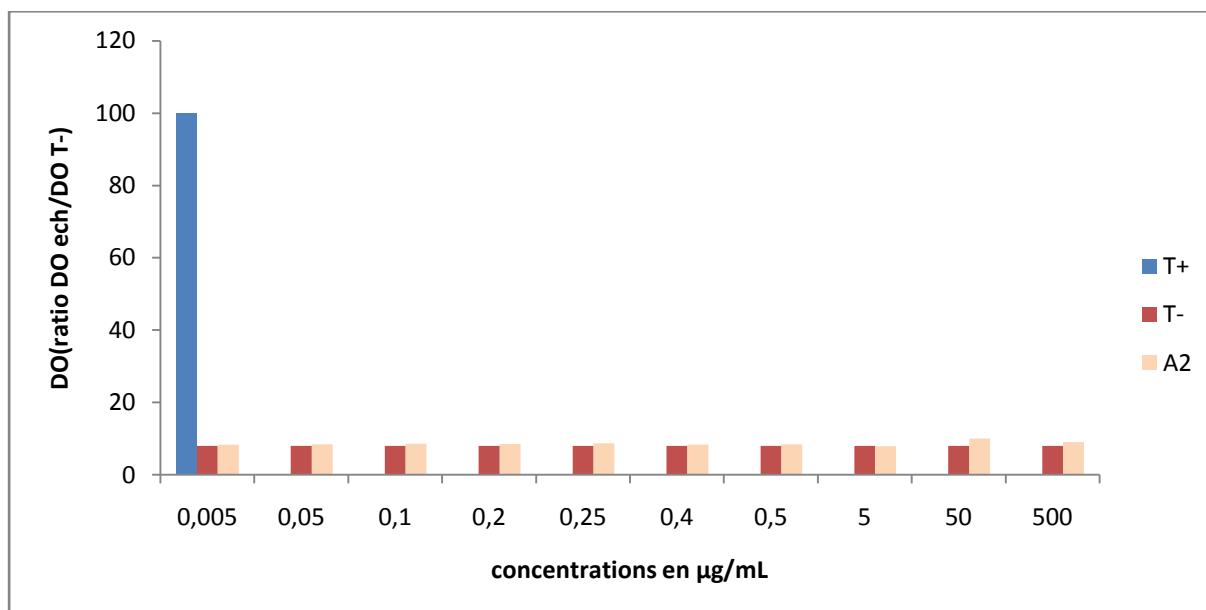


Figure 10 (c) : Diagramme du test d'hémolyse de l'analogue A2

Témoin positif (T+) : SDS +hématies ; SDS : agent hémolytique.

Témoin négatif (T-) : MCM +hématie

Pas de différence significative entre les valeurs de DO de A2 et celles de T-

II-2 Toxicité hépatique

Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure 11.

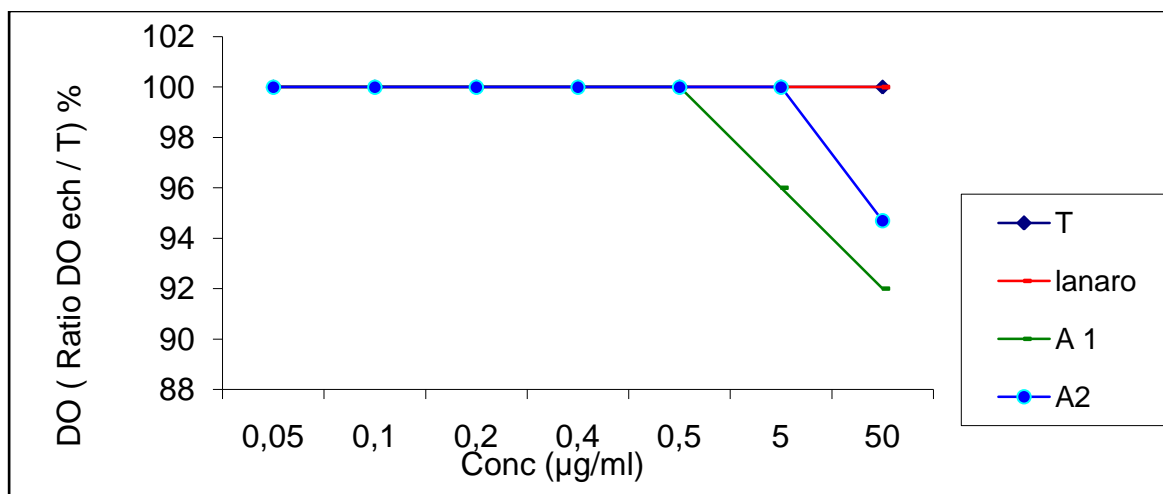


Figure 11 : Représentation des résultats de cytotoxicité des molécules.

T : témoin de croissance (hépatocytes + DMEM).

La courbe de la lanaro est identique à celle du témoin de croissance pour toutes les concentrations utilisées.

Les courbes des analogues A1 et A2 représentent respectivement des diminutions des DO à partir de 0,5µg/mL et 5µg/mL.

Le calcul de l'index de sélectivité (IS) « cytotoxicité(CI₅₀)/activité antiplasmodiale (CI₅₀) » est indispensable. C'est un indicateur de la sélectivité de la molécule pour la cellule.

II-3 Evaluation de l'activité antipaludique.

Elle a été réalisée à l'aide de deux méthodes : une directe basée sur l'évolution de la parasitémie et une indirecte portant sur la mesure de la pLDH.

II-3-1 L'évolution de la parasitémie

Elle se fait par l'étude de frottis sanguin aux différentes concentrations des molécules. Les résultats de l'analyse des frottis sont regroupés dans le tableau II ci-dessous. Pour nos incubations, la parasitémie initiale est de 1%.

Les molécules n'entraient pas de modification de la structure des hématies.

Tableau II: Evolution de la parasitémie en fonction des concentrations des échantillons.

	Parasitemie	Nbre de frottis examinés
Témoin de croissance	>>1%	36
lanaro	0.005-0.1µg/ml 0.1- 0.5µg/ml 0.5-5µg/ml 5-50µg/ml	>> 1% << 0.5% <<0.01% <<0.001%
A2	0.005 – 0.1µg/mL 0.05-0.1µg/mL 0.1-0.5µg/mL 0.5-5µg/mL 5-50µg/mL	>> 1% < 1% << 0.5% <<0.1 <<0.001%
A1	0.005-5µg/mL 5-50µg/mL	>> 1% < 1%

II-3-2 La mesure de la pLDH et calcul de la CI₅₀

La mesure de la pLDH au spectrophotomètre, permet la détermination des CI₅₀ à partir du logiciel « icestimator ». La figure 12 montre la courbe obtenue pour l'analogue A2 à partir du logiciel.

➤ Analogue A 2

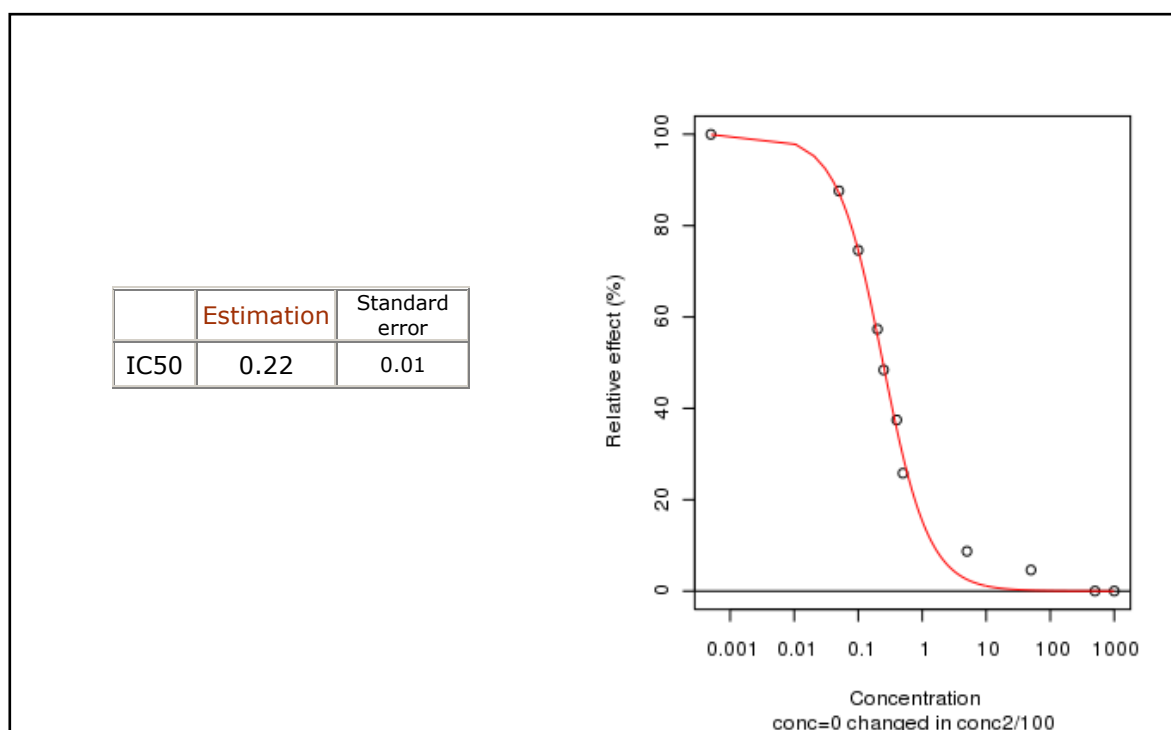


Figure 12 : Courbe de d'activité et calcul de CI₅₀ de la molécule A2 par le logiciel icestimator.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau 4 ci-dessous

Tableau III: tableau récapitulatif des différents résultats obtenus

Activité Antimalarique	cytotoxicité	hémolyse	index de sélectivité	
<i>P. falciparum</i> Souche 7G8 pLDH	Hépatocytes souris	Erythrocytes humains		
CI ₅₀ (µg/ml) (0.005 à 500 µg/ml)				
Lanaro	0.32	>> 50	> 50	>>100
A1	-	>50	non	-
A2	0.22	>50	non	>>100

7G8 : souche chloroquinorésistance d'origine Brésilienne.

Index de sélectivité : ratio « cytotoxicité/activité antiplasmodiale » = CI₅₀ hépatocytes / CI₅₀ *P.falciparum*.

III-ANALYSE ET DISCUSSION

III-1 Analyse

➤ Test d'hémolyse

L'augmentation de la DO observée à 500µg/mL pour la lanaroflavone, reflète une activité hémolytique de cette molécule à partir de cette concentration. Pour ce qui est de ses deux analogues, ils ne présentent pas d'activité hémolytique aux mêmes concentrations.

➤ Hépatotoxicité

Les variations de DO de la lanaroflavone et du témoin croissance sont identiques pour toutes les concentrations utilisées. Ce qui signifie qu'elle n'a pas d'activité hépatotoxique à ces concentrations. On observe par contre pour les molécules A2 et A1, une diminution de la DO respectivement à partir de 5µg/ml et de 0.5µg/ml. Cette diminution résulte de la diminution de quantité de cristaux de formazan donc de cellules vivantes. Les deux molécules ont donc une activité hépatotoxique. L'index de sélectivité des deux molécules est important (>> 100). Ce paramètre exprime une bonne sélectivité de la molécule pour les cellules [70].

➤ Activité hémolytique

Les résultats obtenus avec les deux méthodes d'évaluation coïncident. En effet, la diminution de la parasitémie observée en présence de la lanaroflavone et de la molécule A2, reflète l'inhibition de la croissance parasitaire obtenue avec la mesure de la pLDH. En outre, l'absence d'activité de la molécule A1 a été observée dans l'analyse des frottis au microscope.

III-2 Discussion

Les flavonoïdes sont des pigments naturels répandus dans tout le règne végétal où ils interviennent comme filtre UV et comme agent de protection contre des organismes pathogènes. Ils sont apportés au niveau de l'organisme par la consommation des fruits, des légumes, des céréales et de boissons. Plusieurs travaux ont été réalisés sur les propriétés des flavonoïdes vu leur grand intérêt pour la santé [70]. Outre les propriétés déjà connues des flavonoïdes (antioxydants, inhibiteurs enzymatiques, photoprotecteurs), il a été prouvé que les flavonoïdes possèdent des propriétés antibactérienne, antiparasitaire et antivirale [71].

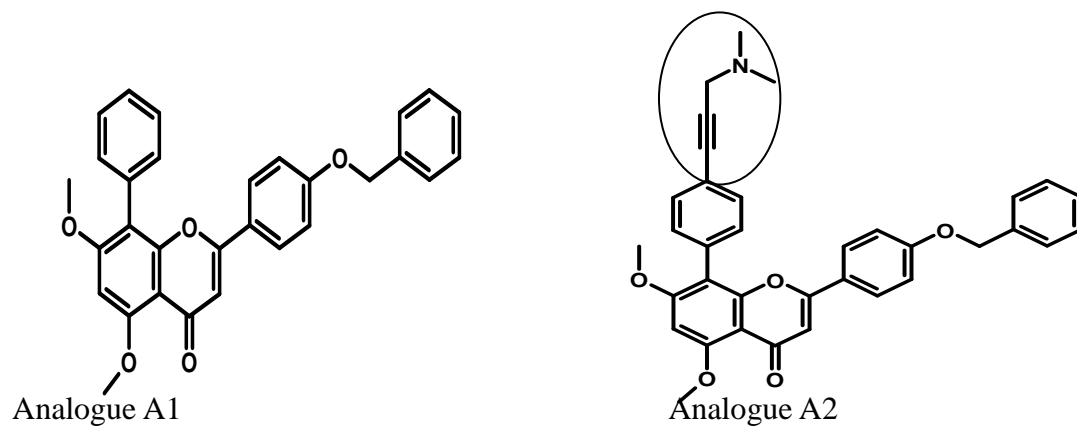
Les résultats que nous avons obtenus, révèlent une activité antimalarique de la lanaroflavone et de son analogue structural A2. Cet analogue s'avère plus efficace ($CI_{50}=0.22\mu\text{g/ml}$) que la molécule originale qui a une CI_{50} de $0.33\mu\text{g/ml}$. L'analogue A1 n'a révélé aucune activité antimalarique pour des concentrations identiques.

Dans notre étude, il n'a été noté aucune activité hémolytique pour les échantillons A1 et A2. Cette propriété commune aux deux analogues, pourrait résulter de la simplification de leur structure chimique. Les deux analogues sont de simples flavonoïdes tandis que la lanaroflavone, hémolytique, est un biflavonoïde. La lanaroflavone elle, présente une faible activité hémolytique à la concentration la plus élevée $500\mu\text{g/ml}$ qui fait environ 1000 fois sa CI_{50} . Concernant la hépatotoxicité, elle à été observée uniquement pour les deux analogues.

L'activité antiplasmodiale de la lanaroflavone n'est pas inattendue. Des chercheurs ont montré son activité sur une souche multirésistante K1, avec une CI_{50} de $0.2\mu\text{g/ml}$ [4].

Les résultats que nous avons obtenus présentent un intérêt particulier. Ils démontrent l'activité de lanaroflavone sur une souche chloroquinorésistante (7G8). De plus, ils mettent en évidence l'activité antipaludique (*in vitro*) d'une nouvelle molécule (A2) qui est plus efficace que la lanaroflavone.

La relation structure activité n'a pas encore été établie. Mais on pourrait attribuer l'efficacité de la molécule A2 à la présence d'un groupement azoté absent dans la structure de A1. L'azote étant fréquemment présent dans les structures des molécules antimalariques (chloroquine, sulfadoxine, amodiaquine ...).



L'activité antipaludique des deux molécules reste à prouver *in vivo*.
Le caractère synthétique de la molécule A2 pourrait être plus intéressant à exploiter. En effet, il est possible d'apporter des modifications sur sa structure chimique consistant à en améliorer les propriétés.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Chaque année, un million d'enfants décèdent des suites d'une infection à *Plasmodium falciparum* alors que le paludisme peut être à la fois prévenu et traité. L'accroissement de la mortalité auquel nous sommes confrontés est imputable à l'utilisation de médicaments inefficaces face à la montée des résistances. La chloroquine est restée le médicament antimalarique le plus important jusqu'à la fin des années 1950. A l'heure actuelle, les combinaisons à base d'artémisinine sont considérées comme les meilleures thérapeutiques pour lutter contre *P. falciparum*. Elles sont efficaces et agissent rapidement. L'OMS recommande l'utilisation de ces combinaisons en première intention dans tous les pays où sévit *P. falciparum*. Aussi, faut-il que leurs prix soient abordables et leur disponibilité étendue.

Compte tenu de la nécessité de développer de nouvelles molécules appartenant à des classes chimiques différentes et d'identifier de nouvelles cibles chez *P. falciparum*, l'évaluation de nouveaux composés et de leurs associations avec différentes molécules permettra de disposer de solutions alternatives. Dans ce cadre, nous nous sommes proposé d'évaluer une molécule extraite de plante : la lanaroflavone et ses analogues structuraux.

Si certaines de ces molécules ont montré une capacité à inhiber la croissance de *P. falciparum* cultivé *in vitro*, elles devront faire l'objet d'études *in vivo* sur un modèle murin infecté par *P. berghei*, un parasite qui provoque chez la souris des accès graves comparables au neuropaludisme observé chez l'Homme. La détermination du mécanisme d'action des molécules potentiellement actives est une étape indispensable. En effet, il est probable qu'en fonction du stade parasitaire présents au moment de l'incubation, la réponse des parasites ne soit pas la même du fait du mécanisme d'action de la drogue. Il faudrait évaluer l'action des molécules potentiellement actives sur les parasites de même stade en faisant au préalable une synchronisation des cultures. Cela permettrait aussi d'élucider leur mécanisme d'action.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]- Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishann A, Shamsul SS, Cox-singh J et al. *A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infection in human beings*. Lancet 2004; 363: 1017-24.
- [2]-OMS. *Paludisme : estimation 2009. Rapport 2009*. Genève, OMS, 2009.
- [3]- OMS. *Le paludisme dans le Monde. Rapport 2009*. Genève, OMS, 2009.
- [4]- Weniger B, Vonthron-Sénécheau C, Arango GJ, Kaiser M, Brun R, Anton R. *A bioactive from Camptosperma panamense*. Fitoterapia 2004; 75: 764-7.
- [5]-OMS. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, n° 25-26 du 24 juin 2008.
- [6]- OMS-UNICEF. *Le rapport sur le paludisme en Afrique*. OMS/UNICEF Ed, Genève, OMS, 2003 (120 pages).
- [7]- OMS. *Cartes de répartition géographique du paludisme. Rapport 2008*. Genève, OMS, 2008.
- [8]- Bouchaud O. *Malaria: no shortage of patients but the market is failing*. La Revue du Praticien 2005; 55: 829-31.
- [9]- OMS. *Rapport Mondial sur le Paludisme 2008*. Genève, OMS, 2008.
- [10]- Dame JB, Williams JL, McCutchan TF, Weber JL, Wirtz RA, Hockmeyer WT et al. *Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite Plasmodium falciparum*. Science 1984; 225: 593-99.

- [11]- Roth E, Ogasawara N, Schulman S. *The deamination of adenosine and adenosine monophosphate in Plasmodium falciparum-infected erythrocytes: in vitro use of 2' deoxycoformycin and AMP deaminase-deficient red cells*. Blood 1989; 74: 1121-25.
- [12]- Krugliak M, Zhang J, Ginsburg H. *Intraerythrocytic Plasmodium falciparum utilizes only a fraction of the amino acids derived from the digestion of host cell cytosol for the biosynthesis of its proteins*. Mol Biochem Parasitol 1991; 119: 249-256.
- [13]- Kicska GA, Tyler PC, Evans GB, Furneaux RH, Schramm VL, Kim K. *Purine-less death in Plasmodium falciparum induced by immucillin-H, a transition state analogue of purine nucleoside phosphorylase*. J Biol Chem 2002; 277: 3226-31.
- [14]- Gentilini M. *Le paludisme*. In : Gentilini M, eds. Médecine tropicale. Paris : Flammarion; 1993: p 91-122.
- [15]- OMS. *Vademecum pour la prise en charge du paludisme grave et compliqué*. Genève, OMS, 1991.
- [16]- OMS. *Nouvelles recommandations sur le paludisme. Rapport 2009*. Genève, OMS, 2009.
- [17]- Parzy D, Raphenon B, Martet G, Nicholas P, Touze JE, Boudon D et al. *Quantitative buffy coat (Q.B.C). Monofluorokit falciparum test, comparative value in the rapid Diagnosis of malaria*. Med Trop 1990; 50: 97-101.
- [18]- Mullis K. *The unusual origin of the polymerase chain reaction*. Scientific American, 1990; 262: 36-43.
- [19]- OMS. *Effets des antipaludiques sur le développement du parasite Plasmodium falciparum. Rapport 2006*. Genève, OMS, 2006.

[20]- Supanaranond W, Davis TM, Pukrittayakamee S, Silamut K, Karbwang J, Molunto P et al. *Disposition of oral quinine in acute falciparum malaria*. Eur J Clin Pharmacol 1991; 40 : 49–52.

[21]- Waller D, Krishna S; Craddock C; Brewster D; Jammeh A ; Kwiatyhowski D et al. The pharmacokinetic properties of intramuscular quinine in Gambian children with severe falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1990; 84: 488–491.

[22]- White NJ. Optimal regimens of parenteral quinine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1995; 89: 462–64.

[23] - Silamut K, Molunto P, Ho M, White NJ. Alpha 1-acid glycoprotein (orosomuroid) and plasma protein binding of quinine in falciparum malaria. Br J Clin Pharmacol 1991; 32: 311–15.

[24]- Mansor SM, Molyneux ME, Taylor TE, Ward SA, Wirima JJ, Edwards G. Effect of *Plasmodium falciparum* malaria infection on the plasma concentration of alpha 1-acid glycoprotein and the binding of quinine in Malawian children. Br J Clin Pharmacol 1991; 32: 317–31.

[25] Phillips RE, Looareesuwan S, White NJ, Silamut K, Kietinun S, Warrell DA. Quinine pharmacokinetics and toxicity in pregnant and lactating women with falciparum malaria. Br J Clin Pharmacol, 1986; 21: 677–83.

[26]- Hall AP, Czerwinski AW, Madonia EC, Evensen KL. Human plasma and urine quinine levels following tablets, capsules, and intravenous infusion. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1973; 14: 580–85.

[27] Pukrittayakamee S, Prakongpan S, Wanwimolruk S, Clemens R, Looareesuwan S, White NJ. *A study of the factors affecting the metabolic clearance of quinine in malaria*. Eur J Clin Pharmacol 1997; 52: 487–93.

[28]- Newton PN. *Pharmacokinetics of quinine and 3-hydroxyquinine in severe falciparum malaria with acute renal failure*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1999; 93: 69–72.

[29]- Taylor WR, White NJ. *Antimalarial drug toxicity: a review*. Drug Safety 2004; 27: 25-61

[30]- Boland ME, Roper SM, Henry JA. *Complications of quinine poisoning*. Lancet 1985; 1: 384–85.

[31]- Pukrittayakamee S, Wanwimolruk S, Stepniewska K, Jantra A, Huyakorn S, Looareesuwan S. *Adverse effect of rifampicin on quinine efficacy in uncomplicated falciparum malaria*. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 1509-1513.

[32]- Krugliak M, Ginsburg H. *Studies on the antimalarial mode of action of quinolinecontaining drugs: time-dependence and irreversibility of drug action, and interactions with compounds that alter the function of the parasite's food vacuole*. Life Sciences 1998; 49: 1213–19.

[33]- Bray PG, Mungthin M, Ridley RG, Ward SA. *Access to hemozoin: the basis of chloroquine resistance*. Mol Pharmacol 1998; 54: 170–79.

[34]- Gustafsson LL, Walker O, Alvan G, Beerman B, Estevez F, Gleisner et al. *Disposition of chloroquine in man after single intravenous and oral doses*. Br J Clin Pharmacol 1983; 15: 471–79.

- [35]- White NJ, Miller KD, Churchill FC. *Chloroquine treatment of severe malaria in children.. Pharmacokinetics, toxicity, and new dosage recommendations.* N Eng J Med 1988; 319:1493 -1500.
- [36]- Mnyika KS, Kihamia CM. *Chloroquine-induced pruritus: its impact on chloroquine utilization in malaria control in Dar es Salaam.* J Trop Med Hyg 1991; 94: 27–31.
- [37] OMS. *Pharmacologie des antimalariques : Nouvelles recommandations de l’OMS 2009.* 2009, pp 103-104. Genève, OMS, 2009.
- [38]- Winstanley PA, Simooya O, Kofi-Ekwe JM, Walker O, Salako LA, Edwards G et al. *The disposition of amodiaquine in Zambians and Nigerians with malaria.* Br J Clin Pharmacol 1990; 29: 695–701.
- [39]- Hatton CS, Peto TE, Bunch C, Pasvol G, Russell SJ, Singer CR et al. *Frequency of severe neutropenia associated with amodiaquine prophylaxis against malaria.* Lancet 1986; 1: 411–14.
- [40]- TAOUFIK J. *Précis de Chimie thérapeutique.* Rabat, Groupe Medika Developpement Eds, 2007.
- [41]- *Dictionnaire thérapeutique.* Edition Afrique francophone, 18^e édition. Médecine DIGEST, Vidal 2006.
- [42]- Price R, Simpson JA, Teja-Isavatharm P, Than MM, Luxemburger C, Heppner DG et al. *Pharmacokinetics of mefloquine combined with artesunate in children with acute falciparum malaria.* Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 341–46.
- [43]- Bem JL, Kerr L, Stuerchler D. *Mefloquine prophylaxis: an overview of spontaneous reports of severe psychiatric reactions and convulsions.* J Trop Med Hyg 1992; 95: 167–179.

[44]- Mai NTH, Day NPJ, Chuong LV, Waller D, Phu NH, Bethell DB et al. *Post-malaria neurological syndrome*. Lancet 1996; 348: 917–21.

[45]- Navaratnam V, Mansor SM, Mordi MN, Akbar A, Abdullah MN. *Pharmacokinetics of artemisinin-type compounds*. Clin Pharmacokinet 2000; 39: 255–270.

[46]- Ashton M, Nguyen DS, Nguyen VH, Gordi T, Trinh NH, Dinh XH et al. *Artemisinin kinetics and dynamics during oral and rectal treatment of uncomplicated malaria*. Clin Pharmacol Ther 1998; 63: 482–93.

[47]- Ribeiro IR, Olliaro P. *Safety of artemisinin and its derivatives. A review of published and unpublished clinical trials*. Med Trop 1998; 58: 50–53.

[48]- Price R, van Vugt M, Phaipun L, Luxemburger C, Simpson J, McGready R et al. *Adverse effects in patients with acute falciparum malaria treated with artemisinin derivatives*. Am J Trop Med Hyg 1999; 60: 547–55.

[49]- Leonardi E, Gilvary G, White NJ, Nosten F. *Severe allergic reactions to oral artesunate: a report of two cases*. Trans R Soc Trop Med Hyg . 2001; 95: 182–83.

[50]- Bethell DB, Teja-Isavadharm P, Phoung CX, Thuy PT, Mai TT, Thuy TT et al. *Pharmacokinetics of oral artesunate in children with moderately severe Plasmodium falciparum malaria*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1997; 91: 195–98.

[51]- Ilett KF, Batty KT, Powell SM, Binh TQ, Thi L, Thu A et al. *The pharmacokinetic properties of intramuscular artesunate and rectal dihydroartemisinin in uncomplicated falciparum malaria*. Br J Clin Pharmacol 2002; 53: 23–30.

- [52]- Navaratnam V, Mansor SM, Sit NW, Grace J, Li Q, Olliaro P. *Pharmacokinetics of artemisinin-type compounds*. Clin Pharmacokinet 2000; 39: 255–70.
- [53]- Hien TT, Davis TM, Chuong LV, Ilett KF, Sinh DX. *Comparative pharmacokinetics of intramuscular artesunate and artemether in patients with severe falciparum malaria*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4234–39.
- [54]- Agoumi A. *Précis de Parasitologie Médicale*, Rabat, Horizons Internationales Eds, 2003.
- [55]- Triglia T, Menting JG, Wilson C, Cowman AF. *Mutations in dihydropteroate synthase are responsible for sulfone and sulfonamide resistance in Plasmodium falciparum*. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94(25): 13944-49.
- [56]- Miller KD, Lobel HO, Satriale RF, Kuritsky JN, Stern RS, Campbell CC. *Severe cutaneous reactions among American travelers using pyrimethamine-sulfadoxine (Fansidar) for malaria prophylaxis*. Am J Trop Med Hyg 1986; 35: 451–58.
- [57]- Bjorkman A, Phillips-Howard PA. *Adverse reactions to sulfa drugs: implications for malaria chemotherapy*. Bull World Health Organ 1991; 69: 297–304.
- [58]- Nadia Saïdani. *Etude exploratoire de la synthèse des galactolipides chez plasmodium falciparum* [thèse]. Grenoble: Université Joseph Fourier; 2008. pp195.
- [59]- Wattanagoon Y, Taylor RB, Moody RR, Ocheke NA, Looareesuwan S, and White NJ. *Single dose pharmacokinetics of proguanil and its metabolites in healthy subjects*. Br J Clin Pharmacol 1987; 24 (6): 775–80.
- [60]- OMS. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* n° 23-24 du 2 juin 2009.

[61]-OMS. *Résistance aux antipaludiques de P. falciparum d'après les études dans les sites sentinelles. Année 2005.* Genève, OMS, 2005.

[62]- Deharo E, Bourdy G, Quenevo C, Muñoz V, Ruiz G, Sauvain MJ. *A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: evaluation of antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians.* J Ethnopharmacol 2001; 77: 91-97.

[63] - Trager W, Jensen JB. *Cultivation of erythrocytic stages.* Bull World Health Organ 1976; 55: 363-65.

[64]- Peiman S. *Nouvelles données biologiques et structurales des chromogranines A et B : implication dans le mécanisme d'ubiquitination et dégradation protéolytique par l'endoprotéase Glu-C de Staphylococcus aureus.* [Thèse]. Strasbourg : Université Louis Pasteur- Strasbourg I ; 2008. pp 295.

[65]- Weniger B, Robledo S, Arango GJ, Deharo E, Arago R, Muñoz V et al. *Antiprotozoal activities of Colombian plants.* J Ethnopharmacol 2001; 78: 193–200.

[66]- Breman JG. *The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden.* J Pubmed 2001, 64:1-11.

[67]- Noedl H., Wongsrichanalai C., Wernsdorfer W.H. *Malaria drug-sensitivity testing : new assays, new perspectives.* J Parasitology 2003.19, 175-181.

[68]- Druilhe P, Moreno A, Blanc C, Brasseur PH, and Jacquier P. *A colorimetric in vitro drug sensitivity assay for Plasmodium falciparum based on a highly sensitive double-site lactate dehydrogenase antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay.* J Tropicale medecine and hygiene 2001. 5, 64: 233-241

[69]- Weniger B, Robledo S, Arango GJ, Deharo E, Arago R, Muñoz V et al. *Comparative antiplasmodial, leishmanicidal and antitrypanosomal activities of several biflavonoids*. J Phytomedicine 2006; 13: 176–80.

[70]- Gabor M. *Plants flavonoids in Biology and Medecine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, New York, Cody V, Middleton Jr, Harbone JB, Beretz A, Liss AR Inc, 1988, p. 1-15.

[71] Middleton E, Kardasnam C. *The Flavonoids, Advances in research since 1986*. London, J. B. Harborne, Chapman and Hall éds., 1993, p. 617-52.

Nom de l'auteur : SERI Okya Gisèle

Titre : Etude *in vitro* de l'activité antiplasmodiale d'un biflavonoïde (lanaroflavone) et de ses analogues de synthèse.

Mots clés : paludisme, *Plasmodium falciparum*, antipaludique, *camptosperma panamense*

RESUME

Le paludisme constitue une endémie parasitaire majeure et un véritable problème de santé publique. La lutte contre le paludisme revêt ainsi une priorité absolue dans de nombreux pays en voie de développement. Les premières drogues telles que la quinine et plus récemment l'artémisinine ont été extraites des plantes. Les autres molécules antipaludiques sont synthétiques et caractérisées par l'apparition des phénomènes de résistance sans cesse croissante et leur diffusion rapide, imposant la recherche de nouvelles molécules. L'ethnopharmacologie est de plus en plus utilisée dans la découverte de nouvelles molécules actives. Les flavonoïdes et les biflavonoïdes font partie des composés à activité antiparasitaire connue. L'objectif de notre étude a été d'étudier l'activité *in vitro* de 3 molécules de cette famille : la lanaroflavone, l'analogue A1 et l'analogue A2 sur la souche 7G8, de *P. falciparum*. Parmi les 3 molécules, deux (la lanaroflavone et l'analogue A2) ont la capacité d'inhiber la croissance du parasite *in vitro*. Comparées entre elles, la molécule A2 est plus active que la lanaroflavone. Contrairement à la lanaroflavone, les deux analogues ne présentent pas d'activité hémolytique, paramètre très important dans l'étude préclinique de nouvelles molécules. La molécule A2 est donc une molécule de grand intérêt mais elle nécessite des investigations complémentaires indispensables dont l'évaluation de son activité *in vivo*. La finalité de ces travaux de recherche et de développement de nouvelles molécules est d'accroître l'arsenal thérapeutique et de lutter contre les phénomènes de résistance en attendant la mise au point d'un vaccin antimalarique efficace.

Author : SERI Okya Gisele

Title: In vitro antiplasmodial activity of biflavonoid (lanaroflavone) and synthetic analogs.

Key words: malaria, *Plasmodium falciparum*, antiplasmodial, *Camposperma panamense*

SUMMARY

Malaria is a major endemic parasitic and a real public health problem. The fight against malaria, and is a top priority in many developing country. The first drugs such as quinine and artemisinin were recently extracted from plants. Other antimalarial drugs are synthetic and characterized by the appearance of the phenomena of resistance growing and their rapid diffusion, requiring the search for new molecules. The ethnopharmacology is increasingly used in the search for new active molecules. Flavonoids and biflavonoids are compounds known antiparasitic activity. The aim of our study was to investigate the activity of three molecules of this family: the lanaroflavone, analogous to the A1 and A2 similar to the 7G8 strain of *P. falciparum*. Among these three molecules, two (analogue A2 and lanaroflavone) have the ability to inhibit the growth of this parasite strain. Compared with them, the A2 molecule is more active than lanaroflavone. Unlike lanaroflavone, the two are not similar hemolytic activity, very important parameter in preclinical study of new molecules. The A2 molecule is a molecule of great interest but requires further investigation which required assessment of its activity in vivo. The purpose of this research is to develop new molecules and increase the therapeutic arsenal to fight against the phenomenon of resistance until the development of a vaccine effective antimalarial.

هذه رقم : 66

الكاتب الاسم: SERI Okya Gisele

antiplasmodial النشاط العنوان : في المختبر ل (lanaroflavone)iflavonoids b) ونظائره الاصطناعية.

كلمات البحث : الملاريا والملاريا المنجلية والملاريا وpanamensis Camptosperma

موجز

وتعد الملاريا الطفيلية المستوطنة الرئيسية ومشكلة حقيقية للصحة العامة. المعركة ضد الملاريا وبالتالي أولوية في كثير من البلدان النامية. المخدرات مثل أول انتزعت مؤخرا الكينين والأرتيميسينين من النباتات. الأدوية المضادة للملاريا الأخرى الاصطناعية والتي تجسدت في ظهور ظاهرة المقاومة المتنامية وانتشارها بشكل سريع ، مما يتطلب البحث عن جزيئات جديدة. وتستخدم بشكل متزايد في macologyethnophar اكتشاف جزيئات جديدة نشطة. مركبات الفلافونويد وbiflavonoids هي مركبات معروفة النشاط طفيليات. وكان الهدف من دراستنا للتحقيق في المختبر في نشاط 3 جزيئات من هذه العائلة : lanaroflavone ، مشابهة ل1A و 2A على 8G7 سلالة مماثلة ، P. المنجلية. من الجزيئات الثلاثة ، وهما (وlanaroflavone 2A التناظرية) لديها القدرة على كبح نمو الطفيل في المختبر. وبالمقارنة ، فإن جزيء 2A هو أكثر نشاطا من lanaroflavone. وخلافا للlanaroflavone ، وهما لا نشاط مماثل الدم الانحلالي ، معلمة مهمة جدا في دراسة من قبل السريرية جزيئات جديدة. 2A للجزيء هو جزيء ذات أهمية كبيرة ولكنها تتطلب مزيدا من التحقيق الذي يتطلب تقييم نشاطها في الجسم الحي. والغرض من هذا البحث الأول من تطوير عقاقير جديدة هو زيادة الترسنة العلاجية ومكافحة ظاهرة المقاومة حتى تطوير لقاح فعال مضاد للملار

SERMENT DE GALIEN



Je jure en présence des maîtres de cette Faculté :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la Santé Publique, sans oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

D'être fidèle dans l'exercice de la Pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé des mes confrères si je manquais à mes engagements.

جامعة محمد الخامس

كلية الطب والصيدلة

-- الرباط

قسم الصيدلي

أقسم بالله

- ❖ أن أراقب الله في مهنتي
- ❖ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- ❖ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ❖ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ❖ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ❖ لأحصى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 66

سنة : 2010

دراسة في المختبر للنشاط ضد المتصورة لثنائي
الفلافونويد (لنروفلافون) ومتناظراتها الإصطناعية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

سيرري أكيا جيزل الأنسة:
المزداة في: 24 أبريل 1983 بديفو

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الملاريا – المتصورة المنجلية – مضاد المتصورة – الكمينسبرما بنمس.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

السيدة: وفاء الملوكي

أستاذة في علم الطفيليات

مشرف

السيد: يحي بنسودة

أستاذ في المستحضرات الدوائية

أعضاء

{

السيد: محمد بنكيران

أستاذ في علم الدم

السيد: بدر الدين الميموني

أستاذ مبرز في علم الطفيليات