

ACTIVITÉ ANTIPALUDIQUE DU N-HENTRIACONTANOL ISOLÉ DE *CUATRESIA* SP (SOLANACEAE)

E. DEHARO*, M. SAUVAIN*, C. MORETTI*, B. RICHARD**,
E. RUIZ*, G. MASSIOT**



RÉSUMÉ

L'activité antipaludique de l'alcool gras n-hentriacontanol isolé d'une Solanacée bolivienne *Cuatresia* sp. est appréciée *in vivo*, par le test classique du traitement de 4 jours, sur *Plasmodium berghei* et *P. vinckei* chez la souris. Le produit réduit nettement

la virulence de l'infection à *P. vinckei*. Le n-hentriacontanol appartient à une nouvelle classe de composés naturels antimalariques exploitables en thérapeutique.

SUMMARY: Antimalarial Activity of n-hentriacontanol isolated from *Cuatresia* sp. (Solanaceae).

The antimalarial activity of the fatty alcohol, n-hentriacontanol, isolated from the bolivian Solanaceae, *Cuatresia* sp, is investigated *in vivo* through a classical four-day suppressive test against *Plasmodium berghei* and *P. vinckei* in mice. This product markedly

reduced the virulence of experimentally induced *P. vinckei* infection. n-Hentriacontanol belongs to a new class of antimalarial natural compounds to be exploited for therapeutic purposes.

Les produits naturels sont des sources potentielles de nouveaux composés à activité antipaludique (Wright et Philipson, 1990). Les espèces appartenant à la famille des solanacées, malgré leurs nombreuses activités biologiques avérées, n'ont pas fait l'objet, à notre connaissance, d'études de leurs propriétés antiparasitaires. Cette note rapporte l'étude des propriétés antipaludiques du n-hentriacontanol isolé de *Cuatresia* sp, solanacée endémique de Bolivie.

Le matériel végétal provient d'un échantillon récolté dans la partie orientale de la Bolivie; un herbier de référence est déposé à l'Herbier National de la Paz, Bolivie, sous le numéro Moretti 1454. 618 grammes de feuilles ont été extraits par deux fois dans 1,5 litres d'éther de pétrole. Le précipité (2,67 g) obtenu par concentration de la fraction éthéro-pétroléique a été recristallisé dans le méthanol. La structure du composé cristallisé (1,20 g) a été établie par comparaison de ses données physiques et spectrales (SM, Pf, RMN du ^1H) à celle du n-hentriacontanol : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{29}\text{CH}_2\text{OH}$ (Sumathykutty et Madhsudana R., 1991) et confirmée par l'interprétation complète de son spectre de RMN du ^1H à 300 MHz dans le CDCl_3 : triplet à 0,87 ppm ($J = 6\text{Hz}$) : CH_3 ; singulet large à 1,30 ppm :

$(\text{CH}_2)_{28}$; multiplet à 1,57 ppm : CH_2CH_3 , triplet à 3,62 ppm ($J = 6\text{Hz}$, 2H) : CH_2OH . Pt de fusion : 85-88° C.

L'activité antipaludique *in vivo* des produits isolés de *Cuatresia* a été déterminée sur 4 jours suivant la méthode de Peters sur le paludisme expérimental de la souris (lots de 10 souris Swiss de 20 ± 2 g) infectée par trois souches différentes de *Plasmodium* de rongeurs à raison de 10^7 parasites par souris : *P. vinckei petteri* (souche 279 BY); *P. berghei* (souche ANKA); *P. berghei* (souche NK 65). Les doses léthales 50 (DL50) ont été mesurées suivant une méthode couramment utilisée au laboratoire (Dragsted et Lang, 1963). L'extrait éthéro-pétroléique des feuilles de *Cuatresia* et le n-hentriacontanol ont été dissous dans le DMSO (SIGMA chemical) à des concentrations ne dépassant pas les 10 mg/ml. Ils sont injectés par voie intrapéritonéale à raison d'un volume maximum de 100 μl de DMSO par souris aux concentrations indiquées dans le tableau I. Les souris témoins sont infectées et traitées par le DMSO. Les parasitémiés sont mesurées au cinquième jour par le comptage des frottis sanguins colorés au Giemsa (MERCK). La fraction éthéro-pétroléique des feuilles de *Cuatresia* sp, testée à la dose de 50 mg/kg, détermine une inhibition de la parasitémie de 94 % sans aucune mortalité. L'activité antipaludique de l'alcool gras, composé majoritaire obtenu de la fraction éthéro-pétroléique, comparée à celle de la chloroquine, est présentée dans le tableau I. La DL50 du n-hentriacontanol, mesurée à 72 heures, est égale à 412 mg/kg et celle de la chloroquine (SPECIA) est égale à 79 mg/kg.

* IBBA-ORSTOM, CP 9214, La Paz, Bolivie.

** Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Pharmacognosie, URA n° 492 CNRS, 51, rue Cognacq-Jay, F 51096 Reims.

Accepté le : 9 juillet 1992.

TABLEAU I. — *Activité antipaludique du n-hentriacantanol sur le paludisme des rongeurs.*

<i>Plasmodium</i>	Concentration en mg/kg/j	Parasitémie*	Pourcentage d'inhibition de la parasitémie
<i>P. vinckei</i>	témoin	49 ± 5,0	—
	50	2 ± 1,7	95
	25	5 ± 2,4	90
	12,5	23 ± 4,0	54
	témoin	36 ± 3,5	—
	6,25	17 ± 4,1	53
	3,125	18 ± 4,0	50
	1,562	28 ± 4,0	22
Dose efficace 50 du n-hentriacantanol = 3,1 mg/kg/j			
Dose efficace 50 de la chloroquine = 0,5 mg/kg/j			
<i>P. berghei</i> ANKA	témoin	25 ± 2,2	—
	50	8 ± 2,4	67
	25	10 ± 2,6	60
	12,5	10 ± 3,1	61
	6,25	18 ± 3,0	26
Dose efficace 50 du n-hentriacantanol = 10,2 mg/kg/j			
<i>P. berghei</i> NK65	témoin	34 ± 4,1	—
	50	25 ± 3,7	26
	25	34 ± 4,0	1
	12,5	34 ± 3,8	0
	6,25	30 ± 4,5	11
Dose efficace 50 du n-hentriacantanol > 50 mg/kg/j			
Dose efficace 50 de la chloroquine = 0,5 mg/kg/j			

* La parasitémie est égale au nombre d'hématies parasitées sur 100 hématies × 100.

Le n-hentriacantanol présente une activité remarquable *in vivo* dans le système *P. vinckei*/souris avec une dose efficace 50 qui est 130 fois inférieure à sa toxicité (DL50), alors que le rapport toxicité/activité de la chloroquine est égal à 158 dans ce modèle. Son absence de toxicité sur les cellules de mammifère a été confirmée sur cultures de cellules tumorale KB (résultats non présentés ici). Le modèle *P. vinckei* présente les avantages suivants : un cycle biologique indépendant du cycle nyctéméral de l'hôte, un développement synchrone chez les souris infectées avec du sang congelé et une sélectivité marquée pour les érythrocytes matures (Cambie *et al.*, 1991). Cette différence d'activité suivant les souches de parasites suggère une action dirigée sur un stade particulier du cycle intra-érythrocytaire des Plasmodies. Ces résultats mettent en évidence une nouvelle

classe de composés naturels antipaludiques : les alcools gras. Il a déjà été montré que des acides gras poly-insaturés en C₂₂ diminuent la parasitémie de souris infectées par *Plasmodium berghei* (Kumaratilajke *et al.*, 1992). Ces composés augmenteraient la susceptibilité des parasites au stress oxydant. Des composés lipidiques ont également montré une activité antipaludique *in vivo* en interférant avec la biosynthèse des phospholipides, la prolifération intra-érythrocytaire des parasites s'accompagnant d'une importante synthèse *de novo* de ces phospholipides, participant à la biogénèse des membranes (Vial *et al.*, 1990; 1992). L'étude des propriétés antipaludiques de composés analogues est en cours pour mieux comprendre leur mécanisme d'action et en améliorer l'activité.

Remerciements. — Nous remercions I. Landau du laboratoire de Parasitologie du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris pour la fourniture des souches de *Plasmodium* de rongeurs.

RÉFÉRENCES

Cambie G., Caillard V., Beaute-Lafitte A., Ginsburg H., Chabaud A., Landau I. : Chronotherapy of malaria: identification of drug-sensitive stage of parasite and timing of drug delivery for improved therapy. *Ann. Parasitol. Hum Comp.*, 1991, 66, 14-21.

Dragsted C, Lang A : Substances anti-infectieuses et antitumorales in *Techniques de Laboratoires : Chimie Clinique*, tome 2. Masson, Paris, 1963.

Kumaratilake L. M., Robinson B. S., Ferrante A., Poulos A. : Antimalarial Properties of n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids : *In vitro* Effects on *Plasmodium falciparum* and *In vivo* Effects on *P. berghei*. *J. Clin. Inv.*, 1992, 89, 961-967.

Sumathykutty M. A., Madhusdana R. : 8-hentriacantanol and other constituents from *Piper attenuatum*. *Phytochem.*, 1991, 30, 2075-2076.

Vial H. J., Ancelin M. L., Philippot J. R., Thuet M. J. : Biosynthesis and Dynamics of Lipids in *Plasmodium*-infected Mature Mammalian Erythrocytes. *Blood Cells*, 1990, 16, 531-555.

Vial H. J., Ancelin M. L., Giral L., Calas M. : Agents antipaludéens et antibabésioses et compositions pharmaceutiques les contenant. Brevet n° 9200765 pris par le CNRS le 24 janvier 1992.

Wright C. W., Philipson J. D. : Natural Products and the Development of Selective Antiprotozoal Drugs. *Phytother. Res.*, 1990, 4, 127-139.