

## 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 éthero-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  $^1\text{H}$ ) à celle du n-hentriacontanol :  $\text{CH}_2$  ( $\text{CH}_2$ )<sub>29</sub>  $\text{CH}_2\text{OH}$  (Sumathykutty et Madhsudana R., 1991) et confirmée par l'interprétation complète de son spectre de RMN du  $^1\text{H}$  à 300 MHz dans le  $\text{CDCl}_3$  : triplet à 0,87 ppm ( $J = 6\text{Hz}$ ) :  $\text{CH}_2$ ; singulet large à 1,30 ppm :

( $\text{CH}_2$ )<sub>28</sub>; multiplet à 1,57 ppm :  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , triplet à 3,62 ppm ( $J = 6\text{Hz}$ , 2H) :  $\text{CH}_2\text{OH}$ . 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  $20 \pm 2$  g) infectée par trois souches différentes de *Plasmodium* de rongeurs à raison de 10<sup>7</sup> 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 éthero-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  $\mu\text{l}$  de DMSO par souris aux concentrations indiquées dans le tableau I. Les souris témoins sont infectées et traitées par le DMSO. Les parasitémies sont mesurées au cinquième jour par le comptage des frottis sanguins colorés au Giemsa (MERCK). La fraction éthero-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 éthero-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 (DL<sub>50</sub>), 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 C<sub>22</sub> 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.
- Sumathykutti 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.

CYCLE BIOLOGIQUE DE NEOHELIGMONELLA PSEUDOSPIRA (NEMATODA)

- Croll N. A., Ma K. : The location of parasites within their hosts: the influence of surgical manipulation of the intestine and mesenteric blood supply on the dispersion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. *Int. J. Parasit.*, 1977, 7, 21-26.
- Durette-Desset M.-C. : Les systèmes d'arêtes cuticulaires chez les Nématodes Héligmosomes. IV - Cinq nouvelles espèces, parasites de Rongeurs africains. *Cah. La Maboké*, 1970, 8, 125-137.
- Durette-Desset M.-C., Cassone J. : Sur deux Nématodes Trichostrongyloïdes, parasites d'un Muridé africain. I - Description des adultes. *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, 1986, 61, 565-574.
- Durette-Desset M.-C., Cassone J. : Sur deux Nématodes Trichostrongyloïdes, parasites d'un Muridé africain. II - Chronologie des cycles, description des stades larvaires et des immatures. *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, 1987a, 62, 133-158.
- Durette-Desset M.-C., Cassone J. : Sur deux Nématodes Trichostrongyloïdes parasites d'un Muridé africain. III - Dualité physiologique des larves infestantes, liée aux rythmes saisonniers. *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, 1987b, 62, 577-589.
- Gharib H. M. : Observations on skin penetration by the infective larvae of *Nippostrongylus brasiliensis*. *J. Helminth.*, 1955, 25, 78-81.
- Haley A. J. : Biology of the rat nematode *Nippostrongylus brasiliensis* (Travassos, 1914). I - Systematics, hosts and geographic distribution. *J. Parasitol.*, 1961, 47, 727-732.
- Harada Y., Mori O. : (A new method for culturing hookworm. *Yonago Acta Med. I.*, 1955, 177-179 (en japonais).
- Kerbœuf D. : The effects of time and temperature of storage on the infectivity of third-stage larvae of *Heligmosomoides polygyrus* (= *Nematospiroides dubius*). 1 - Effects on the development to adult stage in mice. *Ann. Rech. Vet.*, 1978a, 9, 153-159.
- Kerbœuf D. : The effects of time and temperature of storage on the infectivity of third-stage larvae of *Heligmosomoides polygyrus* (= *Nematospiroides dubius*). 2 - Studies of the infectivity of female worms as a function of the infectivity of the third-stage larvae. *Ann. Rech. Vet.*, 1978b, 9, 161-168.
- Symons L. E. A., Fairbairn D. : Biochemical pathology of the rate jejunum parasitized by nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. *Exp. Parasit.*, 1963, 13, 284-304.
- Travassos L. : Trichostrongylideos brazileiros (III - nota previa). *Braz. Med.*, 1914, 28, 325-327.
- Weinstein P.P., Jones M. F. : The *in vitro* cultivation of *Nippostrongylus muris* to the adult stage. *J. Parasit.*, 1956, 42, 215-231.
- Yokogawa S. : The development of *Heligmosomum muris* Yokogawa, a Nematode from the intestine of the wild rat. *Parasitology*, 1922, 14, 127-166.