

119



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

COMPUESTOS QUIMICOS QUE PRESENTAN ACTIVIDAD CONTRA *Plasmodium falciparum*, AGENTE CAUSAL DE PALUDISMO EN EL MUNDO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICO BIOLOGICA
P R E S E N T A:

JULIA VALDERRAMA BASTIDA

279125



MEXICO. D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

| | |
|---------------|-------------------------------------|
| Presidente | Prof. Ana María Vázquez Alvarez |
| Vocal | Prof. Francisco Hernández Luis |
| Secretario | Prof. Lino Joel Reyes Trejo |
| 1er. Suplente | Prof. Andrés Navarrete Castro |
| 2do. Suplente | Prof. Javier Alfredo Carballo Perea |

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Laboratorio 122, Departamento de Farmacia, Facultad de Química.

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Francisco Hernández Luis



SUSTENTANTE:

Julia Valderrama Bastida



Agradecimientos.

Al maestro Francisco Hernández Luis por su valiosa asesoría en el desarrollo del presente trabajo.

Al Lic. César Solís Navarro y al Lic. Rodrigo J. Solís Coello por el apoyo otorgado para la realización de esta tesis.

A mis padres y hermanas por su apoyo incondicional durante toda mi vida.

A José Luis por sus palabras de aliento y coraje.

INDICE

| | |
|---|----|
| 1. Introducción y Objetivos | 1 |
| 2. Antecedentes | 6 |
| 2.1 Datos históricos y presencia actual del paludismo | 7 |
| 2.2 El paludismo, como enfermedad infecciosa | 9 |
| 2.3 Ciclo de vida del agente causal del paludismo (plasmodio) | 11 |
| 2.4 Periodo de incubación del agente causal | 13 |
| 2.5 Forma de transmisión de la enfermedad | 14 |
| 2.6 Diagnóstico | 15 |
| 2.7 Herramientas antipalúdicas tradicionales | 16 |
| 2.7.1 Insecticidas | 16 |
| 2.7.2 Fármacos contra el agente infeccioso | 16 |
| 2.7.3 Cloroquina | 18 |
| 2.7.4 Cloroguanida | 19 |
| 2.7.5 Pirimetamina | 21 |
| 2.7.6 Mefloquina | 22 |
| 2.7.7 Primaquina | 23 |
| 2.7.8 Quinina y los alcaloides de la cinchona | 25 |
| 2.7.9 Sulfonamidas y sulfonas | 27 |
| 2.7.10 Tetraciclinas | 27 |
| 2.8 Resistencia a fármacos antipalúdicos tradicionales | 28 |
| 3. Cloroquina | 29 |
| 3.1 Historia | 30 |
| 3.2 Farmacodinamia de la cloroquina | 31 |
| 3.2.1 Mecanismo de acción | 31 |
| 3.3 Farmacocinética de la cloroquina | 34 |
| 3.4 Dosificación de la cloroquina | 35 |
| 3.5 Problemas en el uso de la cloroquina | 36 |

| | |
|---|----|
| 3.5.1 Toxicidad | 36 |
| 3.5.2 Resistencia a la cloroquina | 36 |
| 3.6 Combinaciones de cloroquina con otros fármacos antipalúdicos | 38 |
| 3.6.1 Cloroquina-quinina | 38 |
| 3.6.2 Cloroquina-clorfenilamina | 39 |
| 3.7 Análogos a la cloroquina | 39 |
| 3.7.1 Bisquinolina <i>trans</i> -N ¹ ,N ² -Bis(7-cloroquinolin-4-il)ciclohexano-1,2-diamina | 39 |
| 3.7.2 4-aminoquinolinas, análogos de la cloroquina con cadenas laterales cortas | 43 |
| 3.7.3 Alcaloides Naftilisoquinolina: Dioncofilina C y Dioncopeltina A | 47 |
| 4. Nuevos fármacos antipalúdicos | 50 |
| 4.1 Descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos antipalúdicos | 51 |
| 4.2 Compuestos que interactúan con el hemo o con hematina, para ejercer su efecto | 54 |
| 4.2.1 Artemisina | 55 |
| 4.2.2 “Artesunate” | 57 |
| 4.2.3 “Artemether” | 59 |
| 4.2.4 “Arteether” | 60 |
| 4.2.5 Combinaciones de artemisina y derivados, con otros compuestos antipalúdicos | 61 |
| 4.3 Compuestos que ejercen un efecto específico en el transporte de electrones mitocondrial del parásito | 62 |
| 4.3.1 Atovaquona | 63 |
| 4.4 Compuestos que actúan inhibiendo a la dihidrofolato reductasa | 63 |
| 4.4.1 Proguanilo | 64 |
| 4.4.2 PS-15 como profármaco de WR99210 | 65 |
| 4.5 Compuestos que actúan uniéndose a la tubulina polimerizada del parásito, inhibiendo su despolimerización | 66 |

| | |
|---|----|
| 4.5.1 Docetaxol | 66 |
| 4.6 Compuestos cuyo mecanismo de acción no está claramente definido | 68 |
| 4.6.1 Distamicina y análogos | 68 |
| 4.6.2 Alopurinol | 72 |
| Análisis de información | 74 |
| Conclusiones | 78 |
| Glosario | 80 |
| Bibliografía | 83 |

1. INTRODUCCION

El paludismo, es una infección tropical, grave y frecuente, que aún se observa en diversos países del mundo, incluyendo a México. Es causada por cuatro especies de protozoarios del género *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*.

La mayor mortalidad se produce por la infección del *Plasmodium falciparum*, que es la forma más peligrosa y constituye un gran riesgo, especialmente en niños y en adultos no inmunes.

Para el plasmodio son necesarios: un huésped invertebrado, como el mosquito transmisor de la enfermedad, en el cuál se lleva a cabo la reproducción sexual del mismo. Además necesita de un huésped vertebrado, el humano, en cuyos tejidos, se lleva a cabo la reproducción asexual de dicho parásito.

La proliferación y propagación cíclica de *P. falciparum*, dentro del eritrocito humano, son características de la infección y responsables de la patofisiología de la misma.

Es importante mencionar que *P. falciparum*, tiene la capacidad de invadir a los eritrocitos humanos, sin importar su estado de maduración, lo cuál puede producir un alto nivel de parasitemia, que puede poner en riesgo la vida del paciente.

El principal vector del paludismo es el mosquito del género *Anopheles*, el cuál puede tener alrededor de 390 especies, de las cuáles solo algunas de ellas son huéspedes susceptibles para *Plasmodium*. Dicho mosquito se reproduce principalmente en arroyos y ríos, por lo cuál se ha observado que en tiempos de lluvia abundante, se incrementa su reproducción y por la tanto la transmisión del paludismo. Inicialmente, se uso el DDT para eliminar al vector, pero se ha descubierto que el mosquito muestra resistencia a tal insecticida, limitando con ello su uso.

Inicialmente se usaron varios fármacos para combatir el paludismo. El primero de ellos fué la quinina, el principal alcaloide de la cinchona, obtenido de la corteza de dicho árbol, originario de ciertas regiones de América del Sur. Sin embargo, los japoneses, durante la Segunda Guerra Mundial, destruyeron las plantaciones de cinchona, ocasionando una carencia severa de quinina en los Estados Unidos. Esto llevó a una búsqueda desesperada de otros fármacos antipalúdicos. El más importante de ellos fué la cloroquina, aunque también se desarrollaron otros fármacos como: primaquina, mefloquina, pirimetamina, sulfadoxina y antibióticos como la tetraciclina

La cloroquina, actúa sobre las formas eritrocíticas asexuadas del parásito, caracterizándose por su bajo costo y su disponibilidad en cualquier lugar. Sin embargo, se ha limitado su uso, sobre todo

en países, en los cuáles se han observado efectos tóxicos, después de su administración o bien, resistencia a la misma.

El problema de resistencia de *P. falciparum* a los fármacos antipalúdicos tradicionales incluyendo a la cloroquina, es grave, sobre todo en países altamente endémicos a paludismo.

A pesar de que se ha erradicado el paludismo en países como Estados Unidos, éste se presenta sobre todo en zonas tropicales, incluyendo el sureste de México.

Para poder lograr la erradicación de tal enfermedad, es necesario el descubrimiento de nuevos fármacos, prácticos, efectivos, seguros y baratos, para lo cuál es indispensable el conocimiento de la biología de la infección.

El descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos antipalúdicos, es un proceso complejo y largo, ya que por ejemplo, el tiempo requerido para descubrir una molécula clave dentro del parásito, sobre la cuál actuará el futuro compuesto, así como el descubrimiento del propio compuesto químico, puede llevarse de 2 a 5 años, ésto sin tomar en cuenta los ensayos in vivo posteriores, que deben hacerse para lograr el registro del compuesto como nuevo fármaco antipalúdico.

Cabe mencionar también que se han obtenido análogos de fármacos antipalúdicos tradicionales, tales como la cloroquina. Dichos análogos en algunas ocasiones han superado la actividad del compuesto de origen, mostrando al principio buena actividad in vitro, pero al tratar de probar su actividad in vivo, se han observado ciertos problemas, tales como resistencia cruzada, alta toxicidad, baja solubilidad acuosa, etc., deteniendo con ello su estudio.

Lo anterior no ha detenido la búsqueda de nuevos antipalúdicos, y en la actualidad es la meta principal de varios centros de investigación a nivel internacional, los cuáles no solo esperan obtener nuevos fármacos, sino una vacuna que pueda ayudar a prevenir ésta infección, que afecta principalmente a niños africanos y nigerianos de bajos recursos económicos, y que en algunas ocasiones ni siquiera saben que padecen de paludismo, debido a las carentes técnicas de diagnóstico.

En el presente trabajo, se presentan los aspectos relevantes e información publicada sobre los fármacos tradicionales y nuevas moléculas con perspectivas a serlo, que actúen contra el paludismo. Todo el desglose del trabajo se realizó considerando aspectos biológicos de la

enfermedad, comportamiento farmacocinético de los diferentes compuestos y sus mecanismos de acción.

OBJETIVO GENERAL.

Recopilar, seleccionar y analizar la información publicada sobre compuestos químicos que muestren actividad contra *Plasmodium falciparum*, agente causal de paludismo (malaria) a nivel mundial, con énfasis en los aspectos químico-farmacéuticos del tema.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Analizar la importancia del paludismo como enfermedad tropical grave y frecuente a nivel mundial.
- Conocer algunas características de *Plasmodium falciparum*, agente causal del paludismo.
- Revisar la información preexistente sobre fármacos antipalúdicos tradicionales, como a la cloroquina, y actualizar con lo recientemente publicado.
- Realizar una revisión de nuevos fármacos antipalúdicos, incluyendo su mecanismo de acción, farmacocinética, farmacodinamia, toxicidad y características estructurales.

2. ANTECEDENTES

2.1 Datos históricos y presencia actual del paludismo.

El paludismo o malaria en humanos ha jugado un papel muy importante en la historia del hombre, incluyendo la caída de civilizaciones, ya que se sabe que el paludismo contribuyó en el declive de los imperios griegos y romanos. Existe una gran especulación sobre la presencia del paludismo en nuestro continente americano antes de la conquista española, ya que es poco creíble que las grandes civilizaciones Olmeca y Maya se hayan desarrollado en regiones que después fueron altamente palúdicas. Los conquistadores españoles no hicieron mención alguna de fiebre causada por paludismo durante los primeros años de la conquista, durante su estancia en Guayaquil y en el área costera cerca de Veracruz. Por lo anterior, puede pensarse que el paludismo pudo haber sido introducido en el nuevo mundo, por los españoles y/o por sus esclavos africanos; sin embargo, no hay evidencia alguna de ello, pudiendo ser posible que el paludismo o malaria ya existiera en determinadas áreas de nuestro continente antes de la conquista española.^{1,2} En los Estados Unidos en 1937 se detectaron 1,000,000 de casos de paludismo. Además, se ha estimado que en 1940 hubieron 350,000,000 de casos de paludismo en el mundo, reduciéndose en 1958 a 250,000,000 de casos.¹

Durante 1980 a 1983 se observaron 300,000 muertes anuales de niños nigerianos, causadas por paludismo, lo cuál fué realmente preocupante.³

En 1983 La Organización Mundial de la Salud reportó 5.6 millones de casos de paludismo en el mundo, mientras que en 1984 reportó 5.5 millones de casos, reduciéndose en 1985 a 4.8 millones de casos de la misma infección (WHO, 1985, 1987).³

En 1985, se reportaron 1045 casos de paludismo importado (infección que fué traída de un lugar diferente) en Estados Unidos, comparados con 1016 casos en 1984 y 803 casos en 1983. En la India se reportaron 225 casos de paludismo importado, seguida por México, Kenia y El Salvador.³

La malaria como enfermedad endémica ha desaparecido en Europa, Estados Unidos, en muchos lugares de México, Israel, Líbano, ciertas regiones de India y China, Singapur, Hong Kong, Taiwan, Australia, Chile, ciertas regiones de Argentina, Venezuela y en muchas islas del Caribe.³

Sin embargo, a pesar del enorme esfuerzo por erradicar al paludismo existen lugares donde aún existe el mismo. Se identifican zonas de alta transmisibilidad en la periferia de bosques en América del Sur (por ejemplo en Brasil), en el Asia sudoriental (Tailandia e Indonesia), y partes de Africa subsahariana, lugar donde dicha enfermedad causa entre 1 a 2 millones de muertes anuales, especialmente en los niños. El paludismo por *P. ovale* se observa en el Africa subsahariana, zona en que es menos frecuente la forma por *P. vivax*. La enfermedad por *P. falciparum* aparece en las zonas tropicales de ambos hemisferios, particularmente en la región amazónica y en países de Indochina. En Papua Nueva Guinea se ha detectado *P. vivax*; este es un plasmodio muy prevalente en Irian Jaya, Indonesia, y también se ha señalado su presencia en Sumatra, y las Islas Salomón, entre otros lugares.³



Presencia de malaria a nivel mundial (tomado de ⁴)

2.2 El paludismo, como enfermedad infecciosa.

El paludismo es una enfermedad tropical grave y frecuente. Se trata de una infección protozoaria transmitida al hombre por un mosquito que pica principalmente entre el anochecer y el amanecer, cuya clasificación taxonómica se muestra a continuación:²

Phylum : Apicomplexa

Subclase : Haemosporia

Familia : Plasmodiidae

Género : Plasmodium

El paludismo humano es causado por cuatro especies de protozoarios intracelulares obligados del género *Plasmodium*, cuya reproducción asexual ocurre en el hombre y la sexual en el mosquito hembra del género *Anopheles*. Cada especie a su vez produce una enfermedad característica.⁵

2.2.1 El *Plasmodium falciparum* causa la fiebre terciana maligna, que es la forma más peligrosa del paludismo. Debido a su capacidad para invadir los eritrocitos, cualquiera que sea su estado de maduración, produciendo una parasitemia generalizada y una infección fulminante en el paciente no inmune, que si no es tratada, le produce la muerte en forma rápida.⁵

Puede mostrar un cuadro clínico muy variado que incluye fiebre, escalofríos, sudores, tos, diarrea, dificultad respiratoria, ictericia, defectos de coagulación, choque, insuficiencia renal y hepática, edema pulmonar y cerebral, coma y muerte. La tasa de letalidad excede considerablemente de un 10%.⁵

2.2.2 El *Plasmodium vivax* que causa la fiebre terciana benigna y produce ataques clínicos más leves que el *P. falciparum*. La infección por este protozoario tiene un bajo índice de mortalidad en los adultos no tratados y se caracteriza por recaídas que se producen hasta 2 años después de la infección primaria.⁵

2.2.3 El *Plasmodium ovale* da lugar a una infección poco común con una periodicidad y recaídas similares a las *P. vivax* pero más leves y de más fácil curación.⁵

2.2.4 El *Plasmodium malariae* produce la fiebre cuartana, una infección que es común en áreas tropicales. Los episodios clínicos pueden producirse años después de la infección pero son mucho más raros que con el *P. vivax*.⁵

Las últimas tres formas de paludismo humano por lo regular no amenazan la vida, excepto en los niños de muy corta edad, los ancianos y los pacientes con enfermedades concurrentes o inmunodeficiencia. La enfermedad puede comenzar con malestar indefinido y fiebre, que aumenta poco a poco en un lapso de varios días, seguida por escalofríos fuertes y aumento rápido de la temperatura, que por lo regular se acompañan de dolor de cabeza y náusea, y culmina con sudores profusos.⁵

Los humanos son el único reservorio importante del paludismo. Los viajeros que se dirigen a zonas palúdicas corren un alto riesgo de contraer la enfermedad; cada año son muchos los viajeros que contraen paludismo en los países donde esta enfermedad es endémica y más de 10,000 caen enfermos al llegar a sus países de origen. Todo viajero que va a zonas de paludismo debe conocer el riesgo de la infección, saber como protegerse y que es necesario consultar urgentemente a un médico en caso de fiebre.²

Cabe mencionar que existen otras especies del género *Plasmodium*, que afectan a ciertos animales, tales como: *Plasmodium berghei* en roedores, *Plasmodium gallinaceum* en gallinas, *Plasmodium schwezi* en chimpancés y gorilas, *Plasmodium cynomolgi*, *Plasmodium knowlesi* y *Plasmodium inui* en monos orientales, y *Plasmodium shortii* en monos de la India, entre otras especies.²

2.3 Ciclo de vida del agente causal del paludismo (plasmodio).

El ciclo inicia cuando un mosquito infectado del género *Anopheles* se alimenta de un vertebrado (humano) e inyecta saliva que contiene una gran cantidad de esporozoítos, los cuales rápidamente entran en el hígado humano iniciando una serie de reproducciones asexuales conocidas como **ciclo pre-eritrocítico o esquizogonía exoeritrocítica**. Una vez dentro de la célula hepática, el parásito cambia a trofozoíto. Después de una semana, dependiendo de las especies, el trofozoíto madura y empieza la esquizogonia, donde numerosos núcleos son formados, transformando al parásito en un esquizonte, el cual una vez maduro, libera un gran número de merozoítos tisulares conocidos como metacriptozoítos, los cuales escapan de las células del hígado e invaden los eritrocitos iniciando con ello el **ciclo eritrocítico o esquizogonía eritrocítica**. Dentro del eritrocito, los merozoítos se transforman nuevamente a trofozoítos, los cuales pasan a esquizontes hemáticos maduros, que rompen el eritrocito liberando de 8 a 30 merozoítos eritrocíticos (es la causa del acceso febril característico del paludismo). Los merozoítos liberados invaden nuevos eritrocitos para continuar el ciclo que prosigue hasta la muerte del huésped o hasta su modulación por fármacos.^{2,6}

Por otro lado, algunos parásitos eritrocíticos (merozoítos) se diferencian en formas sexuales conocidas como gametocitos, los cuales no alcanzan su madurez en estas células. Su desarrollo prosigue y es completado en el estómago del mosquito.²

Cuando la hembra del género *Anopheles* ingiere sangre de una persona que tiene el parásito en sus etapas sexuales (gametocitos); los gametos masculino y femenino se unen y forman el oocineto en el estómago del mosquito, que penetra en la pared estomacal en su cara externa para formar un quiste del cual se desarrollan miles de esporozoítos. Esto ocurre en el lapso de 8 a 35 días, según la especie del parásito. Los esporozoítos emigran a los órganos del mosquito infectado y algunos llegan a las glándulas salivales, maduran en ellas y son infectantes cuando se inyectan en un persona cada vez que el insecto se alimente de sangre, iniciándose de esta manera un nuevo ciclo ²

Cabe mencionar que la duración de la esquizogonia eritrocítica varía según la especie de plasmodio de que se trate; ya que para *P. malarie* es de 72 horas, mientras para *P. ovale*, *P. falciparum*, y para *P. vivax* es de 48 horas.¹

Algunas formas exoeritrocíticas de *P. vivax*, y tal vez de *P. ovale*, son formas latentes (hipnozoítos) que permanecen en los hepatocitos y maduran meses o años después para producir recaídas. Este fenómeno no ocurre en el paludismo por *P. falciparum* y *P. malarie*, por lo que la reaparición de dichas formas de la enfermedad es debida a un tratamiento inadecuado de la infección por cepas resistentes a los medicamentos. En el caso de *P. malariae*, pueden persistir durante años bajos niveles de parásitos eritrocíticos que pueden multiplicarse posteriormente a un grado que puede ocasionar de nuevo la sintomatología clínica.²

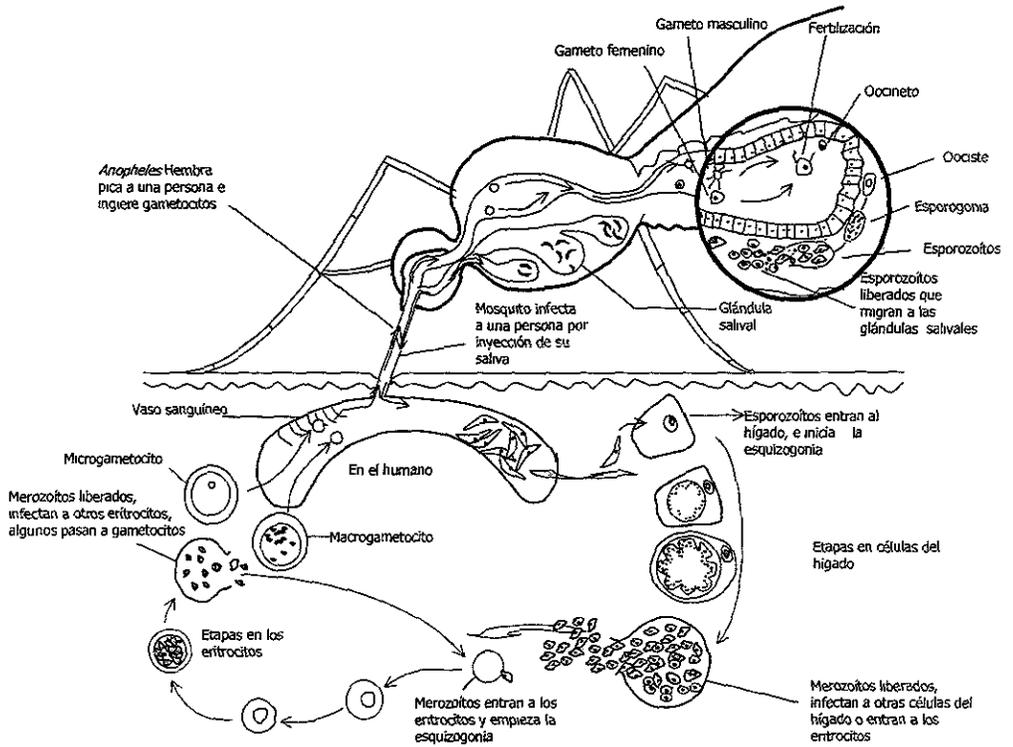


Fig. 1. Ciclo de vida del plasmodio (tomado y adaptado de Schmidt ²)

2.4 Periodo de incubación del agente causal.

El lapso que media entre la picadura del mosquito infectante y la aparición del cuadro clínico es de 7 a 14 días para *P. falciparum*; 8 a 14 días para *P. vivax* y *P. ovale*, y 7 a 30 días para *P. malariae*. Con algunas cepas de *P. vivax*, principalmente en las zonas templadas, puede haber un periodo de incubación más largo, de 8 a 10 meses, e incluso mayor en el caso de *P. ovale*.²

Cuando la infección se debe a una transfusión de sangre, los períodos de incubación dependen del número de parásitos inoculados; suelen ser breves, pero pueden llegar hasta unos dos meses.²

En lo que se refiere a la capacidad para infectar de los mosquitos, ésta dura mientras en la sangre de los pacientes existan gametocitos infectantes; ello varía con la especie y la cepa del parásito y con la respuesta al tratamiento. Los pacientes no tratados, o insuficientemente tratados, pueden ser fuente de infección para los mosquitos por más de tres años con la forma *P. malariae*, de 1 a 2 años en el caso de *P. vivax* y por lo regular no más de 1 año con *P. falciparum*. El mosquito permanece infectante durante toda su vida. La transmisión por transfusión puede producirse mientras permanezcan en la sangre circulante formas asexuales; en el caso de *P. malariae* puede continuar 40 años o más. La sangre almacenada puede permanecer infectante durante un mes como mínimo.^{2,7}

2.5 Forma de transmisión de la enfermedad.

La forma de transmisión del paludismo es por la picadura de una hembra anofelina infectante. Casi todas las especies se alimentan al atardecer y en las primeras horas de la noche, teniendo períodos máximos de picadura cerca de la media noche o durante las primeras horas de la mañana. El principal vector de paludismo es el mosquito del género *Anopheles culicifacies*, el cual se reproduce principalmente en arroyos y/o ríos, lo cual indica que en tiempos de abundante lluvia, se incrementa su reproducción y por lo tanto su transmisión.^{2,8}

Pero además puede transmitirse por inyección o transfusión de sangre de personas infectadas, o por el empleo de agujas y jeringas contaminadas, como ocurre en los toxicómanos.²

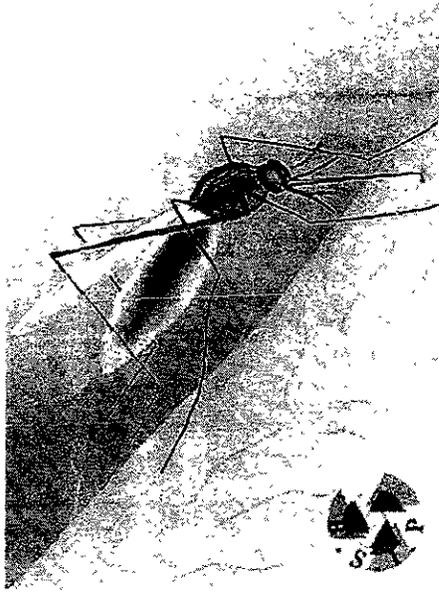


Fig. 2. Mosquito *Anopheles* (tomado de 9)

2.6 Diagnóstico.

La confirmación del diagnóstico de laboratorio se hace al demostrar la presencia de los parásitos del paludismo en frotis de sangre. Pueden ser necesarios los estudios microscópicos repetidos cada 12 a 24 horas, por la variación del número de parásitos *P. falciparum* en la sangre periférica; aún más, a veces no se puede demostrar la presencia de parásitos en los frotis de los pacientes que han sido tratados en fecha reciente o que están bajo tratamiento. Están en estudio varios métodos que detectan al parásito en la sangre por medio de sondas de ADN y también técnicas que permiten la detección de antígenos circulantes del plasmodio. Los anticuerpos, detectados por

inmunofluorescencia, y otras pruebas, pueden aparecer después de la primera semana de infección y persistir por años, indicando una enfermedad palúdica previa, lo cual no es útil para el diagnóstico de la enfermedad actual.²

El problema que enfrenta la tecnología del ADN recombinante, es que el parásito en sus diferentes estadios, presenta diferentes antígenos en su superficie, por lo cual los anticuerpos contra merozoítos no afectan a los esporozoítos, o a los gametocitos.²

2.7 Herramientas antipalúdicas tradicionales.

Para combatir el paludismo son necesarios :

2.7.1 Insecticidas para matar al vector (mosquito *Anopheles*), entre los cuales está el DDT, el cual resultó muy eficaz y económico. Desafortunadamente se han reportado cepas de *Anopheles* resistentes al DDT.¹

Adicionalmente, el DDT es un compuesto que actualmente no está indicado para ser utilizado. Por tal motivo, algunos grupos se han dedicado a la búsqueda de compuestos activos contra el mosquito *Anopheles*.

2.7.2 Fármacos contra el agente infeccioso.

Los fármacos antipalúdicos pueden ser categorizados según el estadio del parásito sobre el cual actúan.⁵

2.7.2.1 Fármacos que actúan como esquizonticidas tisulares, son usados en profilaxis. Estos fármacos tienen efecto sobre las formas primarias del plasmodio en el hígado, las cuales en el lapso de un mes o menos tendrán a su cargo la iniciación del estadio eritrocítico. Por lo tanto éstos fármacos previenen la invasión de los eritrocitos y en consecuencia la transmisión de la

infección a los mosquitos. La **pirimetamina** es usada ampliamente en la profilaxis del paludismo producido por *P. falciparum*.⁵

2.7.2.2 Fármacos que actúan como esquizotocidas tisulares, son empleados para prevenir las recaídas. Estos compuestos tienen efecto sobre las formas hepáticas de los *P. vivax* y los *P. ovale* que producen recaídas después del primer episodio. La **primaquina** es el principal fármaco para prevenir las recaídas y la **pirimetamina** presenta parcialmente ésta actividad contra el *P. vivax*.⁵

2.7.2.3 Fármacos que actúan como esquizotocidas hemáticos empleados para tratamiento clínico. Estos fármacos son muy importantes por su acción sobre los estadios asexuados eritrocíticos de los parásitos interrumpiendo la esquizogonia eritrocítica y en consecuencia suprimiendo los accesos clínicos (cura clínica). Este tipo de fármacos se dividen en dos grupos, de acuerdo con su eficacia clínica y su mecanismo de acción.⁵

- El grupo de los alcaloides antipalúdicos clásicos : **cloroquina**, **quinina**, y derivados relacionados como **quinidina**, **mefloquina** y **halofantrina**. Estas bases débiles, cuando se administran como fármaco único, se concentran en los eritrocitos infectados con plasmidios sensibles causando un daño característico a los parásitos y produciendo una rápida mejoría clínica.⁵
- El segundo grupo incluye la **pirimetamina**, **cloroguanida** y sus derivados que inhiben la dihidrofolato reductasa; también están incluidas las **sulfonamidas** y **sulfonas** que interfieren con la síntesis del ácido dihidropterico y en consecuencia con la biosíntesis del folato y las **tetraciclinas** que inhiben la síntesis protéica. Estos compuestos se caracterizan por ser de acción lenta y menos efectivos.⁵

2.7.2.4 Fármacos que actúan como gametocitocidas, los cuáles ejercen su acción destruyendo las formas eritrocíticas sexuadas del plasmidio, por lo que previenen la transmisión de la infección al mosquito. La **primaquina** posee éste tipo de actividad, particularmente contra el *P. falciparum*,

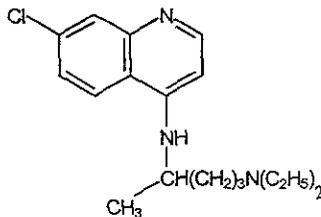
mientras que la **cloroquina** y la **quinina** actúan sobre el *P. vivax* y *P. malariae* pero no sobre *P. falciparum*.⁵

2.7.2.5 Fármacos que actúan como esporonticidas, los cuáles suprimen la transmisión del paludismo previniendo o inhibiendo la formación de oocitos y esporozoítos en los mosquitos infectados. Entre los antipalúdicos que poseen éste tipo de acción, la **primaquina** y la **cloroguanida** son los más importantes.⁵

A continuación se presenta un esbozo de los fármacos antes mencionados y que son considerados como tradicionales.

2.7.3 Cloroquina.

Es un agente sintético de la larga serie de 4-aminoquinolinas que fueron investigadas en los Estados Unidos durante la segunda guerra mundial, que tiene la siguiente fórmula estructural:⁵



La cloroquina aún en dosis masivas no produce un efecto significativo sobre los estadios tisulares exoeritrocíticos de los plasmodios; por lo tanto, este fármaco no es un agente profiláctico y no previene el establecimiento de la infección. Sin embargo, es muy efectivo contra las formas eritrocíticas asexuadas del *P. vivax* y de las cepas sensibles del *P. falciparum* y gametocitos del *P. vivax*.⁵

El fármaco logra una curación completa del *P. falciparum*, excepto para cepas cloroquina resistentes. Su posible mecanismo de acción es que el fármaco se concentra dentro de las vesículas ácidas de los parásitos sensibles y aumentan su pH. Allí interfieren con la degradación lisosomal de la hemoglobina y producen las anomalías histológicas características de esta clase particular de fármacos, que incluye la formación rápida de gránulos de pigmentos inducida por la cloroquina.^{5,10}

El fármaco ha sido empleado en forma ocasional en el tratamiento de la artritis reumatoidea y más frecuentemente para el lupus eritematoso discoideo, aunque su eficacia en esta dolencia es controvertida.⁵

Su forma de administración es por vía oral, e intravenosa, y en algunos casos por vía intramuscular.^{5,10}

El capítulo siguiente se dedica a este compuesto dada la importancia que ha representado su uso clínico y como fuente de investigación para derivados que presenten su misma actividad y aminoren sus inconveniencias.

2.7.4 Cloroguanida.

Conocida como proguanilo, es un derivado biguanido que surgió en 1945 como un producto de la investigación antipalúdica en Gran Bretaña, cuya fórmula estructural se muestra a continuación:⁵

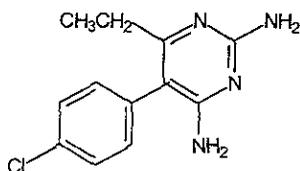
La inhibición de esta enzima coincide con la aparición de parásitos morfológicamente afectados, la división nuclear se inhibe y la esquizogonia se detiene en una etapa temprana. Por esta razón, la cloroguanida actúa lentamente en el tratamiento del paludismo agudo y el alivio de los síntomas se produce sólo cuando todos los plasmodios han alcanzado un estadio donde la síntesis del material nuclear es esencial para su desarrollo posterior. El hecho de que el fármaco actúe no sólo sobre el estadio eritrocítico de los plasmodios sino también sobre el tisular exoeritrocítico, especialmente del *P. falciparum*, puede ayudar al descubrimiento de agentes antipalúdicos útiles para la profilaxis y el tratamiento.⁵

Además este fármaco no destruye los gametocitos en el huésped humano pero los torna no infecciosos para los mosquitos.⁵

Dosis elevadas de este fármaco pueden producir vómitos, dolor abdominal, diarrea, hematuria entre otros. Su administración es por vía oral.⁵

2.7.5 Pírimetamina.

Es una 2,4-diaminopirimidina, que tiene la siguiente fórmula estructural:¹⁰



Este fármaco es usado en profilaxis del paludismo producido por *P. falciparum*. Actúa inhibiendo la dihidrofolato reductasa de los plasmodios, en concentraciones mucho menores que las necesarias para producir una inhibición similar de estas enzimas en los mamíferos.^{5,10}

La dihidrofolato reductasa cataliza la reducción del dihidrofolato o tetrahidrofolato, el cuál a su vez es necesario para la biosíntesis de las purinas, pirimidinas y algunos aminoácidos. La inhibición de la dihidrofolato reductasa por la pirimetamina se manifiesta en el parásito por una falla de la división celular en el momento de la formación del esquizonte en los eritrocitos y el hígado.⁵

Cabe mencionar que las 2,4-diaminopirimidinas muestran una acción sinérgica con las sulfonamidas o las sulfonas, lo cual ayuda en el caso de cepas resistentes a la cloroquina.⁵

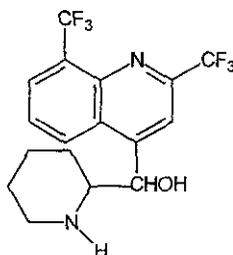
En dosis elevadas, la pirimetamina es teratogénica para los animales pero no existe evidencia de esta complicación en el ser humano.^{5,10}

Las dosis profilácticas de pirimetamina administradas junto con sulfadoxina producen algunas veces, reacciones cutáneas graves, las cuáles pueden deberse al componente sulfonamida. Su vía de administración es oral.¹⁰

2.7.6 Mefloquina.

Fué identificada durante la guerra de Vietnam, como parte de una búsqueda de compuestos con actividad antipalúdica contra cepas multirresistentes de *P. falciparum*.⁵

La mefloquina tiene la siguiente fórmula estructural.⁵



La mefloquina es un derivado de quinolina, que inicialmente eliminaba en forma rápida la fiebre y la parasitemia en pacientes de áreas endémicas infectados por cepas de *P. falciparum* sensibles o altamente resistentes a la cloroquina. Lamentablemente a través de estudios efectuados in vitro, han sido detectadas cepas de *P. falciparum* mefloquina-resistentes. El desarrollo de resistencia a la mefloquina probablemente se deba a su prolongada permanencia en la sangre en concentraciones subterapéuticas.^{5,10}

El mecanismo de acción de la mefloquina aún no está claramente definido. La mefloquina y la quinina producen alteraciones morfológicas semejantes en los estadios anulares tempranos de *P. falciparum* y *P. vivax*; la anormalidad ultraestructural más importante producida por éste fármaco en *P. falciparum* es la turgencia de los lisosomas secundarios.⁵

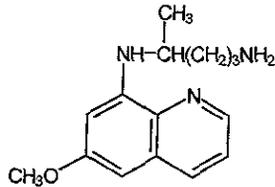
Estudios en animales han demostrado que la mefloquina es teratogénica usando dosis mayores de 100 mg/kg, aunque no se ha comprobado en humanos.¹²

Este fármaco puede causar ciertos efectos colaterales como náuseas, vómitos, dolor abdominal y vértigo y en casos particulares problemas neuropsicológicos. No es recomendada para usarse en mujeres embarazadas, ni en niños con un peso menor a 15 kg. Su administración generalmente es por vía oral.¹³

2.7.7 Primaquina.

Fué descubierta durante la Segunda Guerra Mundial y posteriormente fué sometida intensamente a ensayos clínicos con las fuerzas de las Naciones Unidas en Corea.⁵

Este fármaco tiene la siguiente fórmula estructural:⁵



La primaquina, es una 8-aminoquinolina, cuyo valor clínico reside en los tratamientos curativos radicales contra *P. vivax* y *P. ovale*, en situaciones donde el tratamiento con cloroquina no fué satisfactorio. La actividad de la primaquina contra los estadios eritrocíticos del *P. vivax* tiene poca aplicación clínica; éste fármaco es casi totalmente ineficaz contra las formas asexuadas sanguíneas del *P. falciparum* y por ello es que casi siempre se emplea junto con un esquizotocida hemático.^{5,10}

Las 8-aminoquinolinas poseen un efecto gametocitocida notable contra las cuatro especies de plasmodios que infectan al hombre, especialmente el *P. falciparum*⁵

En el tratamiento de malaria se usan dosis de 15 mg/día durante 14 días, sin causar efectos tóxicos. Cuando se administran dosis mayores como; 60-120 mg/día, se observa en el paciente: náusea, vómito, malestar gástrico, cianosis (metahemoglobinemia) y anemia. Todas las manifestaciones tóxicas son reversibles después de la suspensión del medicamento.¹⁴

Estudios han reportado que la administración de bajas dosis de primaquina pueden causar hemólisis de los eritrocitos en pacientes deficientes de la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, lo cual se ha observado principalmente en población negra del Africa.¹⁴

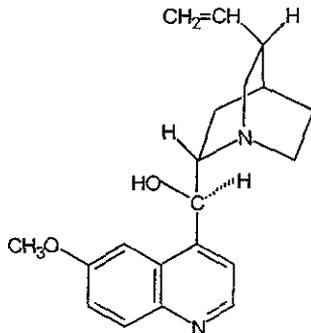
2.7.8 Quinina y los alcaloides de la cinchona.

La quinina es el alcaloide principal de la cinchona, que se obtiene de la corteza de este árbol, el cual es originario de ciertas regiones de América del Sur.⁵

La corteza también se conoce como corteza peruana, de los jesuitas o del cardenal, la cuál fué usada durante casi dos siglos en forma de polvo, extracto o infusión, y no fué sino hasta 1820 cuando se logró aislar a la quinina a partir de la cinchona.⁵

A pesar de que la quinina ha sido sintetizada, el proceso es complejo; por lo tanto, la quinina y los otros alcaloides todavía se obtienen de fuentes naturales.⁵

La cinchona contiene una mezcla de más de 20 alcaloides, siendo los más importantes 2 pares de isómeros ópticos, la quinina y la quinidina, y la cinchonidina y cinchonina. La fórmula de la quinina se presenta a continuación:⁵



La quinina contiene un grupo quinolina unido a un alcohol secundario, el cual a su vez está unido a un anillo quinuclidina. Como sustituyentes tenemos, un metoxilo en la quinolina y un vinilo en la quinuclidina. La quinidina tiene la misma estructura que la quinina excepto por la

configuración del alcohol secundario. Aunque el estereoisomerismo en esta posición es un factor relativamente poco importante en la relación estructura-actividad, la quinidina es al mismo tiempo más potente como antipalúdico y más tóxico que la quinina.⁵

La gran cantidad de alcaloides naturales relacionados con la quinina, y los productos químicos semisintéticos derivados de la misma, difieren principalmente en la naturaleza de las sustituciones en las porciones cíclicas. Cada modificación en la estructura química de la quinina produce cambios cuantitativos pero no cualitativos en las acciones farmacológicas de los compuestos resultantes.⁵

La quinina actúa principalmente como un esquizonticida hemático, tiene poco efecto sobre los esporozoítos o las formas preeritrocíticas de los parásitos palúdicos. El alcaloide también es gametocida para el *P. vivax* y el *P. malariae* pero no para *P. falciparum*.^{5,10}

La quinina es más tóxica y menos efectiva que la cloroquina, posiblemente debido a que su actividad radica esencialmente en su propiedad como base débil; sin embargo puede usarse para el tratamiento de enfermedades graves debidas a cepas de *P. falciparum* resistentes a la cloroquina.⁵

Estudios han reportado que el metabolismo hepático de la quinina aumenta en niños con desnutrición, sin embargo se requiere de más investigaciones al respecto para poder conocer las causas de este aumento.¹⁵

La quinina en dosis terapéuticas, puede producir ciertos efectos tóxicos tales como; cefalea, náuseas y trastornos visuales; sin embargo, cuando se continúa con la medicación o después de dosis únicas elevadas pueden aparecer manifestaciones gastrointestinales, cardiovasculares y dermatológicas.^{5,10}

Los síntomas neurológicos aparecen en los estadios más graves de intoxicación, particularmente excitación, confusión, delirio y pérdida de la conciencia. Su administración puede ser vía oral o intravenosa.¹⁰

2.7.9 Sulfonamidas y sulfonas.

Estos agentes quimioterapéuticos sintéticos regularmente se usan para el tratamiento de infecciones bacterianas, pero en combinación con otros agentes pueden mostrar actividad antipalúdica. Dichos fármacos son inhibidores de la dihidropteroato sintetasa, con lo cual interfiere en la síntesis del folato.⁵

Dentro de este grupo encontramos a la sulfadiazina, la cual solo es activa contra las formas asexuadas sanguíneas del parásito palúdico del hombre y su acción es lenta. La sulfadiazina se emplea junto con la quinina para el tratamiento de ataques palúdicos agudos debidos a cepas de *P. falciparum* multiresistentes. La combinación de una sulfonamida de acción prolongada, sulfadoxina, y pirimetamina ha sido empleada ampliamente en la profilaxis de cepas de *P. falciparum* cloroquina-resistentes. La utilidad de esta combinación se ha visto, sin embargo, disminuída por el incremento de la prevalencia de cepas multiresistentes y por la toxicidad potencial de las sulfonamidas.^{5,10}

Su administración es por vía oral.⁵

2.7.10 Tetraciclinas.

Las tetraciclinas son particularmente útiles para el tratamiento de ataques palúdicos agudos debidos a cepas multiresistentes de *P. falciparum*, que también muestran una resistencia parcial a la quinina. Su acción relativamente lenta hace imprescindible el tratamiento combinado con quinina para controlar en forma rápida la parasitemia. El tratamiento por 7 días con tetraciclina-quinina, es efectivo contra *P. falciparum*, sin embargo la quinina es tóxica, por lo cual la duración del tratamiento debe reducirse a 3 o 5 días, lo cual lo hace menos efectivo.¹⁶

Debido a sus efectos adversos sobre los huesos y dientes, las tetraciclinas no deben ser administradas a mujeres embarazadas o a niños menores de 8 años. Su administración es generalmente por vía oral.⁵

2.8 Resistencia a fármacos antipalúdicos tradicionales.

El principal problema que se presenta en la quimioterapia antipalúdica es el desarrollo de resistencia a los fármacos existentes, particularmente a la cloroquina.⁵

Entre las especies de plasmodio que afectan al hombre, solamente el *P. falciparum* presenta un problema clínico importante debido a la facilidad con que desarrolla resistencia adquirida.¹⁷

La resistencia a la cloroquina, documentada por primera vez en Tailandia y Colombia entre 1959 y 1960, afecta actualmente regiones amplias de América del Sur, Pacífico Occidental, Este de Asia, India y Africa. Esta situación se ha complicado por el desarrollo de la resistencia del *P. falciparum* a la pirimetamina y la sulfadoxina.^{5,17}

La profilaxis y el tratamiento de las infecciones causadas por estas cepas multiresistentes ha debido recurrir a esquizotónicas efectivos pero más tóxicos como la quinina, la quinidina y más recientemente la mefloquina.^{5,17}

La efectividad de la quinina, aún cuando se emplee en combinación con la tetraciclina, se ha visto limitada debido a la resistencia a éste fármaco. El aumento de la tolerancia del *P. falciparum* al conjunto de antipalúdicos muestra en forma dramática la necesidad de obtener nuevos agentes quimioterapéuticos que actúen por mecanismos diferentes.^{5,17}

3. CLOROQUINA

A pesar de la resistencia de *P. falciparum* a la cloroquina, sobre todo en áreas endémicas a malaria, el fármaco sigue siendo de elección por : su bajo costo, disponibilidad en cualquier lugar, interesante mecanismo de acción y por su gran efectividad en cepas de *P. falciparum* cloroquina-sensibles.

Por lo anterior, el interés en dicho fármaco está vigente y lo que se está buscando actualmente es conocer el mecanismo de resistencia del plasmodio a la cloroquina, pero además se están sintetizando análogos a dicho fármaco, con el fin de obtener un nuevo compuesto que pueda superar la actividad del mismo.

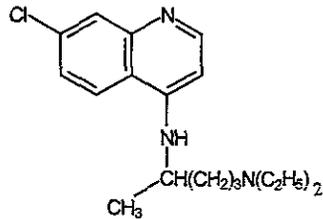
Por todo lo mencionado anteriormente, se le dedica un capítulo completo a cloroquina, en el cuál se enfatizarán ciertas características del fármaco.

3.1. Historia.

La cloroquina, conocida comercialmente como Aralen y cuyo nombre químico es; N^4 -(7-cloro-4-quinolinil)- N^1 · N^1 -dietil-1,4-pentanediamina, es una de la larga serie de 4-aminoquinolinas que fueron investigadas en los Estados Unidos durante la Segunda Guerra Mundial, como parte de un extenso programa de investigación antipalúdica. El objetivo fué descubrir agentes supresores más efectivos y menos tóxicos que la quinacrina, un derivado de la acridina que dejó de usarse en la quimioterapia antipalúdica debido a su toxicidad e incapacidad para curar el paludismo. Aunque las 4-aminoquinolinas habían sido descritas por investigadores rusos como antipalúdicos potenciales, no se les prestó mayor atención hasta que los franceses informaron que un derivado era bien tolerado, y además, poseía gran actividad en el paludismo humano.⁵

A comienzos de 1943, miles de estos compuestos fueron sintetizados, y evaluados en su actividad contra el paludismo, uno de ellos, la cloroquina, demostró ser el más promisorio y fué utilizado en estudios clínicos. Posteriormente, se descubrió que éste fármaco había sido sintetizado y estudiado por los alemanes con el nombre de RESOCHIN desde 1934.⁵

La cloroquina tiene la siguiente fórmula estructural ⁵:



Las aminoquinolinas con mayor actividad antipalúdica en el humano tienen un átomo de cloro en la posición 7 de la quinolina.⁵

3.2 Farmacodinamia de la cloroquina.

3.2.1 Mecanismo de acción.

La cloroquina es una 4-aminoquinolina de acción rápida contra cepas sensibles a la misma, que actúa como esquizonticida hemático (hematozoario).¹⁸

Su mecanismo de acción está relacionado con la inhibición de la polimerización del hemo a hemozina, o bien por interactuar directamente con la hemozina llevando a su despolimerización.¹⁸

Como se había mencionado anteriormente, tanto la proliferación continua, como la propagación cíclica del parásito causante de la malaria, son llevadas a cabo dentro del eritrocito del huésped,

siendo ambas características distintivas de la enfermedad, así como responsables de la patofisiología de la misma.¹⁸

La hemoglobina, la mayor proteína existente en el eritrocito humano, es utilizada como fuente nutritiva para el parásito. La digestión de la hemoglobina por el parásito involucra una secuencia específica de reacciones, en las cuáles intervienen ciertas proteasas, llevando con ello a la continua liberación de hemo libre, tóxico para el parásito. Sin embargo, no hay acumulación de éste hemo libre, ya que ocurre simultáneamente una destoxificación y una secuestro del mismo, en un pigmento insoluble y cristalino conocido como hemozoína. Por lo anterior, podemos definir a la hemozoína como un polímero de monómeros de hemo, unidos entre sí por un enlace hierro-carboxilato.¹⁸

Cabe mencionar que tanto la degradación de hemoglobina, como la formación de hemozoína es llevada a cabo en la vacuola digestiva del parásito, y las 4-aminoquinolinas, como la cloroquina, se acumulan en dicha vacuola formando complejos con las unidades hemo libres, llevando con ello a la formación de un polímero con dichas unidades.¹⁸

Los complejos hemo-cloroquina son incapaces de cruzar la membrana vacuolar del parásito, llevando con ello a la acumulación del fármaco dentro del mismo. La eficacia de las 4-aminoquinolinas es atribuida a su propiedad de acumulación en dicha vacuola, lo cual deriva en altas concentraciones del fármaco dentro de la vacuola digestiva del parásito. Pero además el compuesto puede interactuar directamente con el pigmento hemozoína ya formado, iniciando un proceso de arreglo molecular, responsable de la despolimerización del mismo.¹⁸

Las proteasas vacuolares responsables de la degradación de la hemoglobina y de la generación de unidades hemo, también son inhibidas por la cloroquina, limitando con ello la disponibilidad de unidades hemo después del tratamiento con el fármaco. Por lo anterior podemos decir que éste tipo de compuestos no solo interfieren con la formación de hemozoína sino que además causan la despolimerización de la hemozoína ya presente en la vacuola digestiva del parásito antes de iniciado el tratamiento.¹⁸

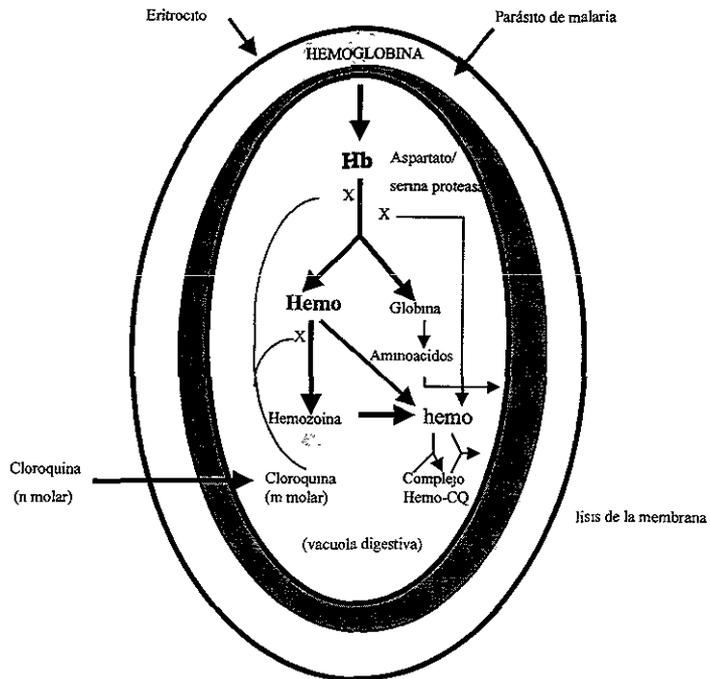


Figura 2: Función, llevada a cabo por el parásito, de detoxificación de las unidades hemo libres (tomado y adaptado de Tekwani y col. 18)

Por otro lado, se ha informado que la fiebre y otras alteraciones en el sistema nervioso presentes en el paludismo, son mediadas por la citocina inflamatoria denominada Factor de Necrosis Tumoral (TNF).^{19,31}

Se ha descubierto que la cloroquina puede ser de gran ayuda en el tratamiento de malaria cerebral, ya que posee cierta actividad anti-citocina, particularmente por su capacidad para inhibir in vitro

la producción del Factor de Necrosis Tumoral. Sin embargo no se ha demostrado clínicamente que un pre-tratamiento con cloroquina en pacientes que sufren malaria severa, pueda tener algún efecto durante el curso de la enfermedad, lo cual indica que la actividad anti-citocina que posee la cloroquina, no tiene valor terapéutico alguno en pacientes con malaria.^{19,31}

En áreas endémicas, se ha observado que la principal consecuencia de malaria durante el embarazo, es una reducción en el peso del recién nacido. En las mujeres en general, la parasitemia durante la primera mitad de su embarazo puede estar asociada con anemia. La anemia en mujeres embarazadas puede además ejercer un efecto directo en la función de la placenta, causando bajo peso en el recién nacido.²⁰

Se ha observado que en ciertos países como Africa, la cloroquina puede mostrar cierto efecto profiláctico, previniendo con ello una infección a nivel de placenta de la madre, así como la aparición de anemia en dichas pacientes embarazadas. Lo anterior es muy importante ya que se ha observado que en países tropicales, la anemia severa ocasiona un gran número de muertes maternas.²⁰

3.3 Farmacocinética de la cloroquina.

Como ya es sabido la farmacocinética se ocupa de la absorción, distribución, biotransformación y excreción de los fármacos. Estos factores, junto con la dosificación, determinan la concentración del fármaco en los sitios de acción y en consecuencia, la intensidad de sus efectos en función del tiempo.⁵

La cloroquina se absorbe bien por el tracto gastrointestinal y rápidamente por vía intramuscular o subcutánea.¹⁰

El fármaco se distribuye en forma relativamente lenta, con un volumen de distribución de 200-800 l/kg cuando es calculado en concentraciones plasmáticas y de 200 l/kg cuando es calculado en sangre total.²¹

La cloroquina se une en un 60% a proteínas plasmáticas y es eliminada por el riñón.²¹

Después de su administración, la cloroquina sufre una biotransformación de N-dealquilación por enzimas del citocromo P450, resultando 2 metabolitos: desetilcloroquina y bisdesetilcloroquina, los cuales alcanzan concentraciones en el plasma de un 10 a un 40% del compuesto original.²¹ La cloroquina sin modificar, y su metabolito mayor desetilcloroquina, se excretan en un 50 y 20%, respectivamente por vía renal. Las concentraciones de cloroquina y de su metabolito activo disminuyen lentamente, con una vida media de eliminación de 20 a 60 días.^{5,21}

3.4 Dosificación de la cloroquina.

El fosfato de cloroquina, se presenta como tabletas con 250 o 500 mg que representa aproximadamente el 60% de la base. Para quimiopprofilaxis en un área endémica se administra a los adultos una dosis oral de 500 mg de fosfato una vez por semana, comenzando 2 semanas antes de la última exposición y continuando 8 semanas después de ella. Las dosis pediátricas habituales son de 5 mg/ Kg por semana de la base. Estas dosificaciones pueden no resultar suficientes para controlar la infección de ciertas cepas de *P. falciparum* cloroquina-resistentes o multiresistentes.⁵ Para el tratamiento de los ataques palúdicos agudos producidos por plasmodios cloroquina-sensibles se administra una dosis inicial de 1 gr de fosfato de cloroquina, seguida de una dosis adicional de 500 mg 6 a 8 horas después y de una dosis única diaria de 500 mg durante 2 días consecutivos, con lo que se totalizan 2.5 gr en 3 días.⁵

El clorhidrato de cloroquina, se presenta como inyectable (50 mg/ml; equivalente a 40 mg/ml de la base). En pacientes comatosos o que presentan vómitos, la cloroquina se puede administrar en forma segura por vía parenteral hasta que la condición del paciente permita su administración por vía oral.⁵

Se ha observado que un régimen de 0.83 mg de base/Kg por hora durante 30 horas (infusión intravenosa continua) o de 3.5 mg de base/Kg cada 6 horas (administración subcutánea o intramuscular) resulta ser efectivo en el tratamiento de dicha enfermedad.⁵

3.5 Problemas en el uso de la cloroquina.

3.5.1 Toxicidad.

El uso clínico de la cloroquina está asociado con efectos adversos tales como prurito generalizado.²²

Se ha observado que después de un tratamiento con cloroquina en pacientes africanos adultos, éstos desarrollan prurito generalizado y severo. El potencial pruritogénico de dicho fármaco detiene de manera importante su uso para el control de la enfermedad, y además se ha observado una relación directa entre la cantidad de parásitos presentes en el paciente y la intensidad de dicha reacción.²²

Las cantidades de cloroquina empleadas en la terapia oral de los ataques palúdicos agudos puede causar además malestar gastrointestinal, cefaleas leves y perturbaciones visuales. Sin embargo se ha observado que dichos efectos tóxicos son reversibles luego de la suspensión del fármaco. Una terapia diaria prolongada con dosis altas de cloroquina o de hidroxiclороquina también pueden causar miopatía, miocardiopatía y neuropatía periférica tóxicas; estas reacciones también son reversibles si se suspende inmediatamente su administración.⁵

Manifestaciones de toxicidad aguda grave por cloroquina se relacionan especialmente sobre el sistema cardiovascular e incluyen hipotensión, vasodilatación, depresión de la función miocárdica, anomalías electrocardiográficas y eventualmente paro cardíaco.⁵

3.5.2 Resistencia a la cloroquina.

La resistencia a fármacos que contienen un anillo quinolina, particularmente a la cloroquina, es el mayor obstáculo en la quimioterapia y profilaxis de malaria.²³

El mecanismo de resistencia está relacionado con la reducida acumulación del fármaco dentro de la vacuola digestiva del parásito, aunque dicho mecanismo no está aún bien definido.¹⁸

Posibles explicaciones incluyen una salida continua del fármaco ya acumulado dentro de la vacuola del parásito o bien un incremento en el pH vacuolar lo cual lleva a una reducción del gradiente de protones responsable de la concentración del fármaco.²³

Se ha observado que la resistencia a dicho fármaco no varía con la edad del paciente, y además es importante señalar que los niños que muestran resistencia a la cloroquina, corren el riesgo de desarrollar malaria severa.²⁴

La resistencia a la cloroquina se ha observado en un gran número de zonas geográficas, las cuales se caracterizan por ser regiones altamente endémicas a la enfermedad.²⁴

A continuación se mencionan algunos de los lugares, en los cuáles el parásito *P. falciparum* es resistente a la cloroquina.

3.5.2.1 Camerún: un territorio africano del golfo de Guinea, lugar en el que se observó resistencia al fármaco por primera vez en 1985 y desde entonces se ha extendido ampliamente.²⁴

Esta región se caracteriza por tener un clima ecuatorial. Aunque las lluvias caen todo el año, lo más pesado de éstas lluvias se observa entre septiembre-diciembre y entre abril-junio. Lo cual hace a éste lugar, un sitio adecuado para la reproducción de mosquitos del género *Anopheles*, aumentando con ello la transmisión de *Plasmodium falciparum*.²⁴

3.5.2.2 Pakistán: La resistencia del parásito a la cloroquina fué reportada por primera vez en 1984, persistiendo en ese lugar desde entonces.²⁵

La transmisión de malaria en Pakistán es dependiente de la estación, y se ha observado que aumenta durante la segunda mitad del año.²⁵

3.5.2.3 Malasia: lugar donde la malaria es aún un importante problema de salud pública, ya que en 1993 se reportaron 39,890 casos. En éste lugar, la cloroquina y la combinación sulfadoxina-pirimetamina han sido los fármacos de elección para combatir la enfermedad, sin embargo han habido varios reportes de resistencia del parásito a la cloroquina.²⁶

La resistencia a éste fármaco fué observada por primera vez en el oeste de Malasia en 1963, la cual se ha ido incrementando con el tiempo.²⁶

3.5.2.4 Nigeria: la morbilidad y mortalidad de malaria, sigue siendo el mayor problema de salud en Nigeria, en donde dicha enfermedad ha sido responsable de un estimado de 300,000 muertes por año en niños menores de 5 años de edad (1980-1983).²⁷

En éste país se ha reportado un alto índice de resistencia al fármaco de elección, la cloroquina. Lo cual ha llevado a la búsqueda de nuevos fármacos, o bien a la combinación de la cloroquina con otros.^{27,28}

3.5.2.5 Otros países: Camboya, Sri Lanka, Tailandia, Papua Nueva Guinea, Sudamérica, Sureste de Asia, Indonesia, países de Africa como: Gabón, Burkina Faso, Kenia, Tanzania, Namibia y otros.^{29,30}

3.6 Combinaciones de cloroquina con otros fármacos antipalúdicos.

3.6.1 Cloroquina-quinina: ambos fármacos son los más importantes para combatir la malaria en áreas altamente endémicas. Esto es debido a su bajo costo y a su disponibilidad en diversos lugares.³¹

Aunque se conoce que las formas orales de ambos fármacos son seguras cuando se administran en forma individual, las formas parenterales presentan efectos adversos similares; como cardiotoxicidad e hipotensión.³¹

En Tailandia, se ha descontinuado el uso de la cloroquina para tratamiento de malaria, después de que se observó un alto índice de resistencia al mismo.³¹

Estudios han demostrado que la combinación de cloroquina con quinina, no tiene efectos benéficos ni significativos sobre la enfermedad, sin embargo reduce la subsecuente aparición de *P. vivax* en los pacientes. Lo cual quiere decir que dicha combinación prolonga el tiempo antes de que *P. vivax* reaparezca nuevamente, lo cual habla de protección por 2 meses. Esto puede deberse a la vida media de la cloroquina, que es de 1-2 meses, en comparación con el de la quinina que es de 8-12 horas.³¹

3.6.2 Cloroquina-clorfenilamina: la clorfenilamina es antagonista para los receptores de la histamina H1. En estudios, llevados a cabo tanto en el sureste de Nigeria como en otros países de Africa, puede revertir la resistencia de *P. falciparum* a la cloroquina.^{28,32}

Este fármaco es comunmente prescrito con la cloroquina con el fin de aminorar el prurito producido después de algún tratamiento con cloroquina, tanto en niños como adultos, en Nigeria. Esta combinación, comercialmente disponible bajo varios nombres comerciales, se usa para el tratamiento de malaria en Nigeria, en donde la resistencia a la cloroquina alcanza un 15% en niños infectados con éste parásito.³²

Sin embargo, estudios adicionales en requerimientos de dosificación serán necesarios para establecer adecuadamente la eficacia terapéutica de ésta nueva combinación cloroquina-clorfenilamina.³²

3.7 Análogos a la cloroquina.

3.7.1 Bisquinolina *trans*-N¹,N²-Bis(7-cloroquinolin-4-il)ciclohexano-1,2-diamina. Comparación de 2 estereoisómeros y evaluación del enantiómero S,S, Ro 47-7737.

Como ya se había mencionado anteriormente, la habilidad de la cloroquina para inhibir la polimerización del hemo en el parásito, depende de la concentración de la misma. Y aunque la causa de resistencia del parásito a la cloroquina aún no está claramente definida, puede estar asociada con alteraciones en el proceso de transporte asociado a membrana, resultando con ello una reducida entrada del fármaco al parásito.¹⁸

Debido al problema de resistencia, se ha iniciado la búsqueda urgente de nuevos compuestos que puedan matar al parásito, y entre éstos nuevos fármacos, podemos encontrar a los análogos a la cloroquina³³

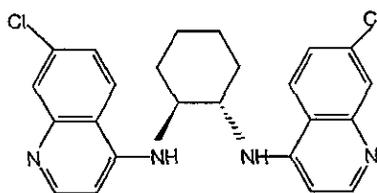
Un grupo de estos análogos, contienen 2 anillos quinolina unidos por un sustituyente básico, denominados bisquinolinas, las cuáles han mostrado poseer actividad antimalárica.³³

Una de estas bisquinolinas es, *trans*-N¹,N²-bis(7-cloroquinolin-4-il)ciclohexano-1,2-diamina, denominada como WR 268668.³³

Este compuesto fué sintetizado y estudiado en su forma racémica, descubriendo más tarde que el racemato mostraba un grado significativo de resistencia cruzada con la cloroquina, limitando con ello su interés como agente quimioterapéutico.³³

Sin embargo, el interés por éste compuesto sigue vigente y se han preparado formas enantioméricas del mismo.

El enantiómero S,S, de la bisquinolina *trans*- N¹,N²-bis(7-cloroquinolin-4-il)ciclohexano-1,2-diamina; denominado Ro 47-7737, ha mostrado ser más potente contra el parásito en comparación con la mezcla racémica y con el enantiómero R,R, de la misma bisquinolina.³³



Estructura del compuesto Ro 47-7737

En particular este enantiómero S,S, es más activo contra cepas resistentes a la cloroquina y ha mostrado un bajo grado de resistencia cruzada con la cloroquina. Por lo cual se ha emprendido una evaluación extensa y detallada de éste compuesto. Estudios con cultivos que contenían formas eritrocíticas de *Plasmodium falciparum* han mostrado que el enantiómero S,S, Ro 47-7737 es más potente en comparación con la cloroquina y mefloquina, y además ha mostrado ser más activo contra los trofozoítos de *Plasmodium vivax*.³³

TABLA 1. Comparación del efecto del Ro 47-7737, con cloroquina y mefloquina, usando cepas de plasmodio, sensibles a cloroquina.

| Compuesto | Conc. de eliminación de parásitos sensibles. (ng/ml) | Tiempo de eliminación. (días) |
|------------|---|----------------------------------|
| Ro 47-7737 | 3 | 2 |
| Cloroquina | 30 | 5 |
| Mefloquina | 10 | 4 |

TABLA 2. Comparación del efecto del Ro 47-7737, con cloroquina y mefloquina, usando cepas de plasmodio, resistentes a cloroquina.

| Compuesto | Conc. de eliminación de parásitos resistentes. (ng/ml) | Tiempo de eliminación (días) |
|------------|---|---------------------------------|
| Ro 47-7737 | 10 | 4 |
| Cloroquina | 300 | 5 |
| Mefloquina | 30 | 5 |

Cabe mencionar que ambos enantiómeros; S,S y R,R inhiben la polimerización del hemo con la misma potencia, su diferencia radica en su habilidad por inhibir el crecimiento del parásito resistente a la cloroquina. Estudios con modelos in vivo (ratones) han mostrado que las propiedades curativas y profilácticas de éste compuesto son debidas a su vida media prolongada.³³

Se han hecho estudios de la farmacocinética del Ro 47-7737, empleando para ello, ratones, ratas y perros, a los cuáles se les administró el compuesto, por vía intravenosa y por vía oral, cuyos resultados se pueden observar en las siguientes tablas:³³

TABLA 3. Farmacocinética del enantiómero Ro 47-7737, después de la administración por vía i.v. de una dosis única del mismo.

| Animal | Dosis (mg/kg) | No. de animales | t _{1/2} (h) | CL (ml/min/kg) | Volumen de dist. (litros/Kg) |
|--------|------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|------------------------------------|
| Ratón | 10 | 39 | 104 | 15 | 106 |
| Rata | 8-10 | 4 | 50-70 | 50-70 | 200-250 |
| Perro | 10 | 2 | 135 | 13-18 | 85-123 |

TABLA 4. Farmacocinética del enantiómero Ro 47-7737, después de la administración por vía oral, de una dosis única del mismo.

| Animal | Dosis (mg/kg) | No. de animales | C max en plasma (ng/ml) | T max en plasma (h) | t _{1/2} (h) | Biodisponibi lidad. % |
|--------|------------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Ratón | 10 | 26 | 123 | 5 | 76 | 37 |
| Rata | 8-10 | 4 | 30 | 2 | 50 | 54 |

Como se puede ver en las tablas anteriores, dicho compuesto presentó un alto volumen de distribución y una vida media prolongada, y una biodisponibilidad oral aceptable.³³

Sin embargo, mostró ciertos problemas de toxicidad en perros a los cuáles se les administró el compuesto. Lo cual llevó a un estudio más detallado del mismo, que demostró diferencias en el perfil metabólico de Ro 47-7737 en los microsomas del hígado en perros, en ratas y en humanos.³³

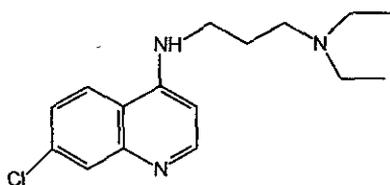
Este compuesto es de interés por ser efectivo contra cepas de *P. falciparum*, tanto sensibles como resistentes a la cloroquina, y contra *Plasmodium vivax*; sin embargo, problemas de toxicidad, particularmente fototoxicidad y el peligro de que este compuesto sea responsable de fotocarcinogenicidad, ha detenido un poco su estudio como un futuro candidato antimalárico.³³

3.7.2 4-aminoquinolinas, análogos de la cloroquina con cadenas laterales cortas.

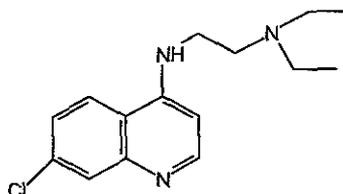
Se ha descubierto que análogos a la cloroquina, con una 4-aminoquinolina de cadena lateral corta, pueden retener la actividad contra cepas de *P. falciparum* resistentes a la cloroquina.³⁴

A pesar de que se han sintetizado una gran variedad de compuestos, únicamente cuatro de ellos han sido de gran interés para una detallada valoración de su actividad, toxicidad y de su farmacocinética.³⁴

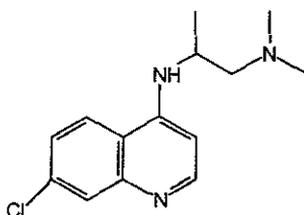
Estos cuatro compuestos difieren únicamente de la cloroquina, en la naturaleza de la cadena lateral unida a su grupo 4-aminoquinolina, ya que en lugar de tener unido un dietilaminoisopentilo, como lo tiene la cloroquina, los compuestos en estudio tienen unido un dietilaminoetilo (denominado Ro 41-3118), un dietilaminopropilo (Ro 47-0543), un dimetilaminoisopropilo (Ro 47-9396) y un dietilaminoisopropilo (Ro 48-0346), cuyas estructuras podemos ver a continuación:³⁴



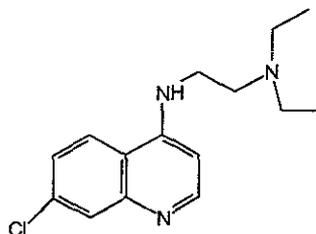
Ro 47-0543



Ro 41-3118



Ro 47-9396



Ro 48-0346

De estos cuatro compuestos se han evaluado diferentes parámetros para determinar su actividad tanto *in vitro* como *in vivo*.³⁴

Primeramente, se evaluó la actividad antimalárica *in vitro* de los cuatro compuestos contra cepas, tanto sensibles como resistentes a la cloroquina, observando que todos los compuestos mostraban una actividad similar a la cloroquina contra las cepas sensibles, encontrando que a una concentración de 100 ng/ml, dichos compuestos requerían de 72 horas para eliminar la parasitemia a cero, comparado con 48 horas de la cloroquina. Asimismo, se observó que su actividad resultó ser más baja en comparación con cloroquina contra cepas resistentes a la misma, lo cual indica que no se superó significativamente la resistencia a la cloroquina por éstos compuestos.³⁴

De igual manera, se evaluó la actividad de dichos compuestos en modelos de roedores infectados con *P. berghei*, sensibles a la cloroquina, observando que tres de ellos; Ro 47-0543, Ro 47-9396,

Ro 48-0346, fueron igualmente activos que la cloroquina contra *P. berghei*, mientras que el Ro 41-3118 presentó menor actividad.³⁴

En lo que se refiere a las propiedades farmacocinéticas de Ro 41-3118, Ro 47-0543, Ro 47-9396 y Ro 48-0346, se observó que después de la administración intravenosa de los mismos, éstos se comportaban en muchos aspectos igual que la cloroquina.³⁴

A continuación presentamos una tabla, en donde se muestran ciertos parámetros farmacocinéticos de los 4 análogos comparados con la cloroquina.

TABLA 5. Parámetros farmacocinéticos de los 4 análogos, comparados con cloroquina.

| Compuesto | Aclaramiento (i.v.) (ml/min/kg) | C max después de una administración oral (ng/ml) | Biodisponibilidad oral (%) |
|------------|------------------------------------|--|-------------------------------|
| Cloroquina | 41-51 | ND | ND |
| Ro 41-3118 | 52-85 | 49-55 | 37-44 |
| Ro 47-0543 | 26-27 | 257-286 | 77-100 |
| Ro 47-9396 | 48-51 | 108-110 | 50-59 |
| Ro 48-0346 | ND | 60-76 | 28-32 |

Como se puede observar los compuestos; Ro 47-0543, Ro 47-9396 y la cloroquina, muestran un menor aclaramiento, en comparación con el compuesto Ro 41-3118.³⁴

A pesar de la razonable actividad de éstos cuatro compuestos observada al inicio, tanto en estudios in vitro como in vivo, la similitud de sus estructuras con la cloroquina puede ser un factor de riesgo, que puede derivar en tres puntos importantes, que necesitan ser estudiados minuciosamente.³⁴

El primero de ellos, es la resistencia cruzada con la cloroquina, ya que todos ellos mostraron cierto valor de resistencia cruzada a la misma.³⁴

El segundo de ellos es que dichos compuestos pueden metabolizarse en derivados mono y bisdesalquilados, los cuáles son igualmente activos a los 4 análogos de la cloroquina, contra cepas de *P. falciparum*, sensibles a la misma, pero menos activos contra cepas resistentes a cloroquina.³⁴

Este metabolismo puede afectar significativamente la eficacia clínica potencial de los 4 análogos contra cepas resistentes a cloroquina.³⁴

Tomando en cuenta los niveles de los 4 compuestos en plasma, su metabolismo, y su biodisponibilidad oral, se observó claramente que los mejores compuestos entre los cuatro candidatos, fueron el Ro 47-0543 y el Ro 47-9396. Sin embargo los metabolitos monodesalquilados de éstos 2 compuestos mostraron un pico de concentración en plasma de aproximadamente un 30 y un 50%, respectivamente de sus compuestos de origen y después de 24 horas la concentración del metabolito en plasma excedía al compuesto de origen.³⁴

Este nivel de metabolismo implica que en su uso clínico, éstos compuestos pueden requerir altas dosis para tratamiento de cepas resistentes a cloroquina, pudiendo ser menos efectivos como agentes profiláticos contra las mismas cepas.³⁴

El tercer punto importante a considerar es su toxicidad, ya que en estudios con roedores infectados y no infectados revelaron que los cuatro análogos muestran toxicidad aguda cuando son administrados en dosis similares a la cloroquina (dosis altas), observado sobre todo que los compuestos Ro 47-0543 y Ro 47-9396 mostraron un alto índice de toxicidad a nivel de hígado.³⁴

Lo anterior lleva a la conclusión que es necesario seguir buscando nuevos análogos a la cloroquina, con un menor potencial de toxicidad para poder ser empleados a nivel clínico.³⁴

3.7.3 Alcaloides Naftilisoquinolina : Dioncofilina C y Dioncopeltina A.

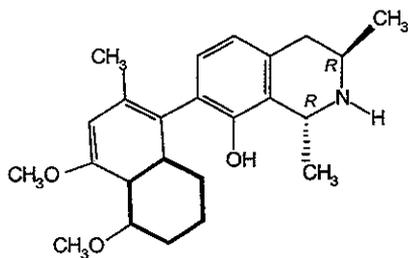
Se ha descubierto que los extractos de especies de las familias *Dioncophyllaceae* y *Ancistrocladaceae*, lianas tropicales, contienen alcaloides naftilisoquinolina, una nueva clase de productos naturales con especiales características estructurales y biosintéticas, que han sido usados en medicina tradicional en varios países de Africa y de Asia.³⁵

Dioncophyllum thollonii (*Dioncophyllaceae*) es una planta medicinal conocida por su actividad contra la lepra, una enfermedad de la piel, *Ancistrocladus abbreviatus* (*Ancistrocladaceae*), es conocida por su actividad contra sarampión y fiebre, y *Ancistrocladus tectorius*, es conocida por su actividad contra disentería y malaria.³⁵

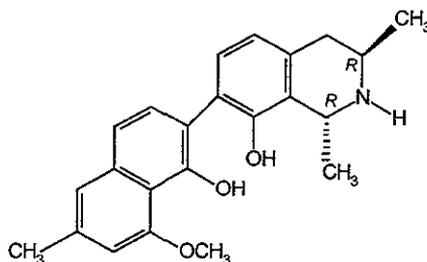
Varios extractos de tales especies, así como alcaloides naftilisoquinolina derivados de ellos, y alcaloides sintéticos mono y diméricos, se caracterizan por mostrar una gran variedad de actividades biológicas.³⁵

Los extractos de las plantas mencionadas han mostrado ser especialmente activos contra los estadios eritrocíticos asexuales de *P. falciparum* y *P. berghei* en estudios in vitro. Estos estadios intracelulares son de particular interés, por ser responsables de todos los síntomas clínicos de malaria.³⁵

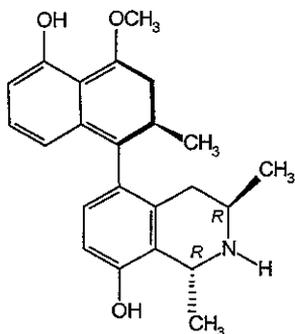
Cabe mencionar que se ha demostrado recientemente, el potencial de éstos alcaloides naftilisoquinolina, contra los estadios exoeritrocíticos de *P. berghei* en células hepatoma humanas. Estos resultados combinados con la baja citotoxicidad de éstos compuestos, los hacen los candidatos adecuados para ensayos in vivo.³⁵



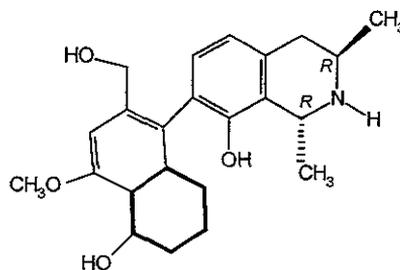
Dioncofilina A



Dioncofilina B



Dioncofilina C



Dioncopeltina A

Estructuras de los alcaloides naftilisoquinolina.

El potencial considerable de los alcaloides naftilisoquinolina, como nuevos compuestos antimaláricos, ha sido sugerido en base a datos obtenidos de experimentos previos in vitro llevados a cabo con *P. falciparum* y con *P. berghei*.³⁵

De éstos cuatro alcaloides naftilisoquinolina, se ha observado que las Dioncofilinas B y C, así como la Dioncopeltina A, son altamente activos contra el parásito de malaria en roedores, *P.*

berghei in vivo, y en particular la dioncofilina C, en un candidato prometedor para uso en las fases preclínica y clínica.³⁵

Los efectos de la *dioncofilina C*, dependen de sus propiedades farmacocinéticas y de la biodisponibilidad del compuesto en la circulación sanguínea. La diferencia en eficacia entre la ruta oral y subcutánea en primera instancia, y la vía intravenosa en segunda instancia, puede estar relacionada con la inestabilidad química del compuesto, absorción limitada, una rápida metabolización en el tracto gastrointestinal después de la administración oral, o la aparición de niveles cumbre después de una administración intravenosa. Cabe mencionar que los estudios de tales compuestos siguen su curso.³⁵

4. NUEVOS FARMACOS ANTIPALUDICOS

4.1 Descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos antipalúdicos.

La resistencia de *Plasmodium falciparum* a la cloroquina y a otros fármacos antipalúdicos, así como los efectos adversos que se han observado con el uso de los mismos, ha creado una necesidad urgente de descubrir nuevos compuestos que sean efectivos para la profilaxis y el tratamiento del paludismo en el mundo ³⁶

La búsqueda de nuevas sustancias antiparasitarias, puede apoyarse en compuestos ya establecidos cuyo mecanismo de acción y estructura química son conocidos, ya que pueden realizarse variaciones químicas esperando con ello, que sus análogos, muestren mayor actividad antiparasitaria, sean más seguros y que su síntesis orgánica sea más costeable. La mayoría de los fármacos antimaláricos ya existente tales como, la cloroquina, mefloquina, artemether, fueron obtenidas usando este criterio.³⁶

Asimismo muchos de los nuevos compuestos que actualmente se están desarrollando, tanto para tratamiento como para profilaxis de la malaria, son modificaciones estructurales de un compuesto ya establecido, entre éstos podemos mencionar a : (a) atovaquona, ya que éste compuesto resultó de la optimización de las hidroxinaftoquinonas; (b) coartemether, una combinación de artemether con benflumetol; (c) WR238605, una 8-aminoquinolina; (d) arteether y (e) pironaridina, el cuál es un compuesto relacionado con las quinolinas. Así como análogos a la cloroquina, peróxidos antimaláricos, y ciertas biguanidas.³⁶

Aunque también es cierto que se están desarrollando compuestos cuya síntesis orgánica es llevada a cabo por primera vez.³⁶

Los estudios que se están realizando en el mundo, enfatizan la necesidad de proponer nuevas estrategias antiparasitarias. Estrategias basadas en la identificación de moléculas claves para el desarrollo del parásito.³⁶

A pesar de que podemos encontrar un gran número de moléculas esenciales para el parásito, durante el descubrimiento de un nuevo fármaco, solo deben de seleccionarse 1 ó 2 de ellas, para evitar caer en complicaciones de querer obtener un fármaco que actúe sobre varios procesos o moléculas dentro del parásito.³⁶

La selección de una molécula o proceso dentro del parásito, sobre el cuál actuará el compuesto a estudiar, debe de realizarse tomando en cuenta varios criterios, como son:

4.1.1 Que la enzima, receptor y/o proceso, presentes en el parásito, estén ausentes en el huésped humano, o bien, que existan diferencias significativas de estas moléculas o procesos entre el parásito y su huésped. Todo esto con el fin de asegurarse de la especificidad del inhibidor o compuesto en estudio.³⁶

4.1.2 Que la enzima o proceso sea esencial para el crecimiento o sobrevivencia del parásito.³⁶

El parásito causante de malaria puede llevar a cabo ciertos procesos, que no son característicos de su huésped, por ejemplo, la degradación de hemoglobina y el secuestro de unidades hemo.³⁶

También puede presentar ciertas enzimas, que muestran cierta homología con las presentes en el humano, tales como la dihidrofolato reductasa, plasmepsina 1, y otras. Los nuevos fármacos deben de ser específicos sobre las enzimas presentes en el parásito, y no sobre las del huésped humano.³⁶

Podemos mencionar que a través del uso de la cristalografía de rayos X, se ha descubierto que la lactato deshidrogenasa de *Plasmodium falciparum* es estructuralmente diferente a la enzima presente en el ser humano. Considerando que ésta enzima juega un papel crucial en el metabolismo del parásito, es muy atractiva como "blanco" para nuevos antimaláricos.³⁶

Una vez que se ha obtenido el nuevo compuesto, el siguiente paso es monitorear su actividad antiparasitaria tanto *in vitro* como *in vivo* ³⁶

Los estudios *in vitro* incluyen: probar los compuestos contra una amplia variedad de cepas de plasmodio, obtenidas de varias zonas geográficas, con el fin de observar en que lugares o zonas se observa resistencia y/o sensibilidad al compuesto en estudio.³⁶

Los estudios *in vivo* generalmente se lleva a cabo en modelos animales, tales como ratones y monos, especialmente la especie *Aotus* o *Saimiri*.³⁶

Concluidos los estudios de monitoreo de actividad del compuesto, el siguiente paso es estudiar su farmacocinética, su metabolismo, y determinar sus posibles efectos tóxicos. Uno de los puntos

más importantes del compuesto desarrollado es su seguridad, es decir debe de carecer de cualquier tipo de toxicidad.³⁶

Antes de probar el compuesto en seres humanos se requiere de un previo y minucioso estudio de la toxicidad del compuesto en cuestión. Este estudio generalmente se lleva a cabo durante un mínimo de cuatro semanas, y se aplica tanto en roedores, usualmente ratas, y en otros animales como por ejemplo en perros.³⁶

Una vez confirmado que el compuesto no muestra efectos tóxicos en modelos animales, el siguiente paso es el desarrollo y registro del nuevo compuesto, para lo cual son necesarios estudios clínicos y no clínicos.³⁶

El estudio no clínico incluye estudios toxicológicos crónicos, que pueden durar de 6 meses a 1 año, si el compuesto ha sido desarrollado para uso profiláctico. Estudios que incluyen fertilidad, teratogénesis, toxicidad postnatal, así como fototoxicidad y carcinogénesis.³⁶

El siguiente paso son los estudios clínicos, que implican la prueba del compuesto en seres humanos; los cuáles se dividen en Fase 1, Fase 2, y Fase 3.³⁶

Fase 1, es esencialmente un estudio exploratorio en voluntarios humanos sanos, a los cuáles se les administra dosis ascendentes del compuesto, con el fin de analizar su seguridad, tolerancia, y farmacocinética humana. El monitoreo farmacocinético permite valorar la biodisponibilidad oral del compuesto, así como la dosis adecuada a administrar. La seguridad de éstos voluntarios es cuidadosamente monitoreada durante el estudio.³⁶

Para estudios en malaria; la Fase 1 A se lleva a cabo en países desarrollados, en comparación con la Fase 1 B, la cuál se aplica en países endémicos a la enfermedad.³⁶

Assumiendo que no se observaron problemas durante la Fase 1, la información farmacocinética y toxicológica obtenida es aplicada a los estudios Fase 2.³⁶

La Fase 2-A inicial, analiza cuestiones de seguridad, tolerancia, y farmacocinética en pacientes con la enfermedad. Mientras que los estudios Fase 2 B analizan con mayor énfasis la eficacia del compuesto revisando la dosificación adecuada del mismo.³⁶

Los estudios Fase 2 generalmente se llevan a cabo en adultos con malaria no-complicada, y no son decisivos para el registro del nuevo compuesto.³⁶

Los estudios Fase 3 son decisivos para la aprobación del compuesto ante las autoridades correspondientes. Durante ésta fase se enfatiza fuertemente la seguridad, tolerancia y eficacia del futuro medicamento.³⁶

Los ensayos durante ésta fase son llevados a cabo con el fin de obtener una idea de la cinética de población, así como para dar una clara indicación de los efectos secundarios que pueden presentarse una vez administrado el compuesto a seres humanos. Cabe mencionar que los niños son incluidos en ésta fase.³⁶

Concluidos los estudios Fase 3, se ha llegado a la meta, es decir al registro del compuesto estudiado.³⁶

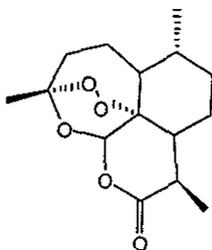
A continuación se enlistan nuevos compuestos antipalúdicos, los cuáles se han clasificado en base a su mecanismo de acción. Cabe mencionar que de algunos de ellos aún no se obtiene el registro, ya que se encuentran en Fase 1 o 2 de sus estudios clínicos, o bien porque se está iniciando el monitoreo de su actividad.

4.2 Compuestos que interactúan con el hemo o con hematina, para ejercer su efecto.

Los fármacos antimaláricos con un grupo peróxido, son activados por el hemo presente en el parásito. Se cree que éste tipo de compuestos, entre los cuáles podemos encontrar a los derivados de artemisina, interactúan con el hemo y son reducidos por los iones de hierro, rompiendo la unión peroxídica oxígeno-oxígeno, lo cuál lleva a la formación de radicales libres de oxígeno, mismos que pueden sufrir una variedad de transformaciones para producir especies reactivas, capaces de llevar a cabo un proceso de alquilación en componentes celulares claves del parásito y con ello llevar a la muerte del mismo.³⁶

4.2.1 Artemisina

La Artemisina (qinghaosu), es una sesquiterpenlactona, que contiene un grupo endoperóxido. Este producto natural es extraído de la planta *Artemisia annua*, la cual crece en China y en otros países, cuyo nombre comercial es LACTAB y cuya estructura química podemos ver a continuación:³⁷



Farmacocinética: muy poco es conocido acerca de la farmacocinética de la artemisina, debido probablemente a los métodos analíticos complicados requeridos para la cuantificación de éste fármaco en sangre.³⁷

Sin embargo, estudios han demostrado que la artemisina administrada oralmente, se absorbe y se elimina rápidamente.³⁷

Tanzania, es un país donde se ha observado que el 90% de las infecciones son causadas por *Plasmodium falciparum*. En este país se hizo un estudio de la farmacocinética de la artemisina, seleccionando para ello 20 pacientes infectados con *P. falciparum*. Estos pacientes, recibieron el primer día 500 mg del compuesto, seguido por 250 mg dos veces por día, durante 4 días, y una última dosis de 500 mg en el día 6 (un total de 3000 mg de artemisina).³⁸

La administración del compuesto fué por vía oral, y el seguimiento del tratamiento fué por personal entrenado. Muestras de sangre de los pacientes, fueron tomadas 0.5 horas, antes de la administración, y 40 y 80 min.; y 2, 3, 4, 6, y 8 horas después de la administración del compuesto.³⁸

La cinética de la artemisina obtenida en este estudio se puede resumir en la siguiente tabla:

TABLA 6. Farmacocinética de la Artemisina después de un tratamiento por vía oral, durante 6 días, en pacientes infectados con *Plasmodium falciparum*.

| Parámetro farmacocinético | Día 1 | Día 6 |
|------------------------------|----------|------------|
| AUC _{0-∞} (ng/ml/h) | 481-8451 | 131-1429 |
| AUC _{0-t} (ng/ml/h) | 340-7447 | 108-1166 |
| t _{1/2} (h) | 1.0-4.0 | 1.4-3.1 |
| CL/F (L/h) | 129-1039 | 350-3816 |
| V _{dss} /F (L) | 563-6922 | 1831-20829 |
| C _{max} (ng/ml) | 72-1906 | 32-344 |
| t _{max} (h) | 1.3-4.1 | 2.1-6.2 |

Donde: AUC, es area bajo la curva; CL/F, es aclaramiento oral; t_{1/2}, es vida media de eliminación; V_{dss}/F, es volumen de distribución constante.

Corno se puede ver de la tabla anterior, la variabilidad farmacocinética es grande. Los valores de C_{max} y de AUC, resultaron bajos después de la última dosis en el día 6. Esta variación en la concentración del compuesto en plasma, no puede atribuirse a diferencias en el manejo de las muestras de los pacientes, ya que el tratamiento fué el mismo.³⁸

Asimismo no se observaron diferencias significantes con t_{max} , entre el día 1 y el día 6, sucediendo lo mismo con la $t_{1/2}$.³⁸

El valor de aclaramiento oral, resultó ser mayor en el día 6, que en el día 1, lo mismo sucedió con el valor de V_{dss}/F .³⁸

Lo anterior no puede darnos valores reales de la farmacocinética de la artemisina, por lo cuál se requieren más estudios al respecto.

Toxicidad: se han observado muy pocos efectos tóxicos en humanos con el uso de la artemisina, aunque se ha reportado cierta neurotoxicidad en animales de laboratorio, especialmente en ratas.³⁷ Debido a la baja solubilidad de éste compuesto natural, se han sintetizado un gran número de derivados de él, entre los cuáles podemos encontrar a :

- "Artesunate"
- "Arteether"
- "Artemether"

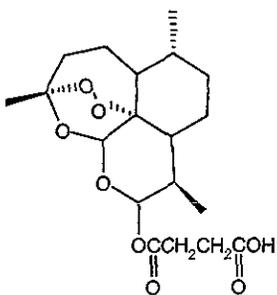
Dichos compuestos, son fármacos efectivos en el tratamiento de malaria, y son de particular interés por su actividad contra cepas multiresistentes de *Plasmodium falciparum*.³⁷

4.2.2 "Artesunate"

Es un derivado de la artemisina, soluble en agua, que ha sido autorizado en Tailandia desde 1990, para el tratamiento de malaria, por ser un potente fármaco que puede reducir en un 90% la parasitemia, 24 horas después de su administración. Sin embargo, cuando es administrada en forma individual, se observa cierta recrudescencia de la enfermedad que va de un 10 a 100%, dependiendo de la dosis y de la duración del tratamiento.³⁹

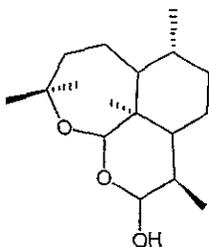
Dicho compuesto además ha sido usado ampliamente para el tratamiento de malaria en China y en varios países del sureste de Asia.³⁹

A continuación podemos observar la fórmula estructural del "artesunate":



Farmacocinética: el "artesunate" cuando se administra oralmente, se absorbe rápidamente y puede ser detectado de 15 a 30 minutos después de su administración. Este compuesto se metaboliza a dihidroartemisina, responsable de la actividad farmacodinámica. Este metabolito puede medirse 3 horas después de la administración del "artesunate". Estudios in vitro han demostrado que la dihidroartemisina es más potente que la propia artemisina.^{37,39}

A continuación podemos ver la estructura química del metabolito dihidroartemisina:

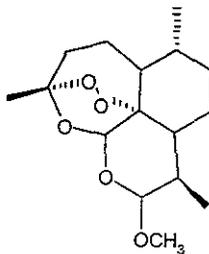


A pesar de que millones de pacientes han sido tratados con los derivados de artemisina, los regímenes de dosificación son aún empíricos, aunque se ha observado que una monoterapia de 1200 a 1600 mg de "artesunate", administrada durante 5-7 días, es un régimen efectivo, seguro y bien tolerado por el paciente, con un porcentaje de cura de un 100%.³⁹

Toxicidad: en lo que respecta a su toxicidad, no se han observado efectos tóxicos significativos con el uso del mismo y no se ha documentado aún algún tipo de resistencia de *P. falciparum*, a los derivados de la artemisina, incluyendo al "artesunate".³⁹

4.2.3 "Artemether"

El "artemether" es un derivado metil-éter de la artemisina, soluble en aceites, formulado para una inyección intramuscular, que ha mostrado ser efectivo en el tratamiento de malaria cerebral severa en niños africanos, y cuya estructura podemos ver a continuación:⁴⁰



Su eficacia y seguridad en el tratamiento de malaria severa y no severa, ha sido demostrada en varios ensayos clínicos, principalmente en pacientes adultos en el sureste de Asia, a pesar de que aún no se han determinado sus propiedades farmacocinéticas, lo cual es de gran interés y se está realizando actualmente.⁴¹

4.2.4 "Arteether"

Es un α,β -etil derivado de la artemisina, soluble en aceites, de gran interés por su actividad gametocitocida.⁴²

Este compuesto es de gran uso en el tratamiento de malaria cerebral severa, debido a su favorable acción esquizonticida, pero además estudios han reportado que dicho compuesto posee actividad gametocitocida contra *Plasmodium cynomolgi* B, cuando es administrado tanto oral como intramuscularmente y puede ser de gran ayuda en el control de la transmisión de malaria, especialmente en áreas donde hay resistencia a ciertos fármacos y donde la primaquina (gametocitocida) no puede ser administrada debido a sus efectos tóxicos. Por lo cual es de esperarse que esta actividad gametocitocida contra *P. cynomolgi* B, sea aplicable para *P. falciparum*, ya que por ejemplo la actividad de la artemisina inicialmente reportada en *P. cynomolgi* B, después fué confirmada en *P. falciparum*.⁴²

Estudios de Fase 1, llevados a cabo en la India, ha mostrado que una sola dosis de 300 mg y dosis múltiples de 150 mg, durante 3 días, no producen efectos tóxicos en pacientes con malaria.⁴³

Asimismo estudios de Fase 2, llevados a cabo con pacientes infectados por *P. falciparum*, han establecido que el compuesto es efectivo como esquizonticida.⁴³

Toxicidad: el "arteether" ha pasado satisfactoriamente los ensayos Fase 1 y Fase 2 en humanos, los cuáles no han mostrado algún efecto tóxico.^{42,43}

4.2.5 Combinaciones de artemisina y derivados, con otros compuestos antipalúdicos.

A pesar de que la artemisina y sus derivados han mostrado ser compuestos muy efectivos para combatir la malaria, y de que no se ha observado resistencia a ellos, ni efectos secundarios después de una monoterapia con los mismos, pueden producir reaparición de *Plasmodium falciparum* en pacientes que han sido sometidos a una monoterapia con los mismos (es decir su acción es rápida, pero de corta duración), lo cuál marca cierta desventaja en su uso, por lo cuál se ha sugerido una serie de combinaciones de los derivados de artemisina y de la propia artemisina con otros fármacos de acción más prolongada como la mefloquina.^{44,45}

Entre éstas combinaciones podemos encontrar :

- artemisina- mefloquina
- "artemether"-mefloquina
- "artesunate"-mefloquina
- "artemether"-pirimetamina
- "artemether"-benflumentol (CGP 56697)

La combinación de la artemisina con bajas dosis de mefloquina, ha sido usada desde 1992, en el sur de Vietman. Estudios han demostrado que la combinación de una sola dosis de 500 mg de artemisina, con 500 mg de mefloquina es efectiva para matar rápidamente al parásito y reducir el valor de recrudescencia en pacientes con malaria.⁴⁴

Asimismo un tratamiento durante 2 días de 300 mg de "artemether", seguido por 2 dosis de 750 y 500 mg de mefloquina a las 24 y 30 horas por separado, ha mostrado ser muy efectivo contra *P. falciparum*, causante de malaria.^{45,46}

La combinación de mefloquina con el "artesunate", ha sido el tratamiento de elección para combatir a la malaria en el noroeste de Tailandia desde julio de 1994, con buenos resultados terapéuticos.⁴⁷

La combinación de derivados de la artemisina con pirimetamina, el cuál es un fármaco que actúa en diferentes etapas del desarrollo del parásito y que además permanece en el cuerpo por un

periodo prolongado de tiempo, puede ser de gran ayuda en el tratamiento de la malaria. Se ha sugerido un tratamiento durante 3 días; 300 mg de “artemether” con 100 mg de pirimetamina en el primer día, 150 mg de “artemether” con 50 mg de pirimetamina durante el segundo y el tercer día.⁴⁸

CGP 56697, es una combinación de “artemether” con benflumetol, un nuevo compuesto antimalárico, de acción lenta pero duradera. De ésta combinación se hizo un estudio de seguridad y efectividad en niños africanos con malaria, la administración fué oral, usando una tableta de 70 mg de CGP 56697 (10 mg de artemether con 60 mg de benflumetol). Los resultados demostraron que el CGP 56697 es seguro y puede eliminar la parasitemia causada por el plasmodio 72 horas después de iniciado el tratamiento. Asimismo, no se observaron signos de complicaciones neurológicas o reaparición de la enfermedad durante 6 meses posteriores al tratamiento.⁴⁵

4.3 Compuestos que ejercen un efecto específico en el transporte de electrones mitocondrial del parásito.

Estos fármacos actúan inhibiendo el proceso respiratorio mitocondrial del plasmodio, a través del bloqueo del mecanismo de transferencia de electrones en el complejo del citocromo bcl, bloqueando con ello la biosíntesis de pirimidinas en el parásito, las cuales son un requisito esencial para la síntesis de ADN y de ARN.^{36,38}

Entre éstos compuestos podemos encontrar a las hidroxinaftoquinonas, de las cuáles podemos mencionar a la atovaquona.³⁶

4.3.1 Atovaquona

Es una dihidroxinaftoquinona 566C80 (2-[trans-4-(4'-clorofenilo)ciclohexilo]-3-hidroxi-1,4-naftoquinona).⁴⁹

Este compuesto ha mostrado ser un potente esquizonticida hemático en monos *Aotus trivirgatus*, infectados con *P. falciparum*. Pero además se ha demostrado en estudios, tanto in vitro, como in vivo, que la atovaquona muestra actividad contra *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii* en pacientes infectados con el virus del SIDA.⁴⁹

Farmacocinética: éste compuesto se absorbe rápidamente y tiene una vida media reactivamente larga (70 horas), ideal para una respuesta clínica rápida y un razonable programa de administración para el tratamiento de malaria.⁵⁰

4.4 Compuestos que actúan inhibiendo a la dihidrofolato reductasa.

La dihidrofolato reductasa (DHR) es la enzima responsable de la conversión del dihidrofolato a tetrahidrofolato, un importante cofactor enzimático del plasmodio. Para el parásito causante de malaria, es necesario la síntesis *de novo* de las pirimidinas, para lo cuál es indispensable el tetrahidrofolato como cofactor de la deoxitimidilato sintetasa, enzima responsable de la conversión de dUMP a dTMP.³⁶

Cabe mencionar que la dihidrofolato reductasa existente en *Plasmodium falciparum*, además de catalizar la conversión del dihidrofolato a tetrahidrofolato, es esencial para el crecimiento del parásito, por lo cuál su inhibición puede llevar a la muerte del mismo.³⁶

Entre los fármacos clásicos que inhiben a dicha enzima podemos encontrar a la pirimetamina, aunque recientemente han surgido otros como el proguanilo.³⁶

4.4.1 Proguanilo

El proguanilo no es usado en la actualidad para el tratamiento de malaria, su importancia radica en su empleo para profilaxis de la misma, ya que ha mostrado ser efectivo contra la fase pre-eritrocítica de *P. falciparum* y porque además muestra baja toxicidad.⁵¹

Farmacocinética: la forma de actuar del proguanilo es a través de su metabolito cicloguanilo, el cuál bloquea la vía del ácido fólico en el parásito, por inhibición de la dihidrofolato reductasa. La activación del proguanilo a cicloguanilo, es por las isoenzimas del citocromo P450.⁵²

Un estudio farmacocinético realizado en Tailandia con pacientes que padecían de malaria, a los cuáles se les administró 200 mg de proguanilo, 2 veces por día durante 3 días, demostró que 4 horas después de la primera dosis, el compuesto alcanzaba concentraciones de 152 ng/ml, con un aclaramiento oral aparente de 1.25 l/h/kg y una vida media de eliminación de 14.2 horas.⁵²

Estudios Fase 2 han demostrado que cuando la atovaquona es combinada con el proguanilo se observa una cura de un 90% en el tratamiento de malaria, a diferencia de la administración del proguanilo en su forma individual, por lo cual se ha concluído que el proguanilo potencia la actividad de la atovaquona.⁵³

Esta combinación atovaquona-proguanilo, ha demostrado ser efectiva en el sureste de Asia y en ensayos in vitro llevados a cabo en Brasil, ya que ambos fármacos actúan sinérgicamente contra el plasmodio. En Tailandia, se utilizó un régimen para pacientes adultos, de 1000 mg de atovaquona con 400 mg de proguanilo, diariamente durante 3 días consecutivos. Sin embargo, éste régimen solo es efectivo contra *P. malariae*, *P. ovale* y *P. vivax*.^{50,54}

Asimismo, el proguanilo ha sido combinado con la dapsona para profilaxis y tratamiento de malaria. La dapsona inhibe a la dihidropteroato sintetasa, afectando con ello el metabolismo del folato del parásito. Además se ha demostrado que el metabolito del proguanilo incrementa la actividad de la dapsona, lo que ha llevado a sugerir una co-administración de proguanilo-atovaquona-dapsona como tratamiento contra malaria. Esta co-administración presenta dos

combinaciones sinérgicas; proguanilo-atovaquona y cicloguanilo-dapsona. Sin embargo, se ha observado que la dapsona tiene cierta toxicidad, limitando con ello su uso.⁵⁵

4.4.2 PS-15 como profármaco de WR99210

El PS-15, además conocido como WR250417 [N-3-(2,4,5-triclorofenoxipropiloxi)-N'-(1-metil-etil)imido-diamida carbonimidica], es una biguanida relacionada con el proguanilo, que fué desarrollada como un nuevo agente antimalárico.⁵⁶

El PS-15 actúa como profármaco y se ha demostrado que su metabolito activo es el WR99210, además conocido como BRL6231 [4,6-diamino-1,2-dihidro-2,2-dimetil-1-(2,4,5-triclorofenoxipropiloxi)-1,3,5-triazina], un análogo estructural del cicloguanilo, metabolito activo del proguanilo.⁵⁶

En 1973 estudios in vitro demostraron la potente actividad antimalárica del WR99210 contra cepas resistentes a la cloroquina y a la pirimetamina. La potencia de éste compuesto y la ausencia de resistencia cruzada, in vivo, con cloroquina, pirimetamina y cicloguanilo, así como la relativa dificultad de inducir resistencia en ratones infectados con *Plasmodium berghei*, lo hicieron un compuesto de gran interés, realizando ensayos clínicos posteriores con él. Estos ensayos mostraron que después de la administración oral de WR99210, los pacientes presentaron intolerancia gastrointestinal, posiblemente debido a la pobre absorción del compuesto. Por lo anterior, fué necesario diseñar y preparar de un profármaco que pudiera aminorar los efectos tóxicos y la limitada biodisponibilidad del WR99210. Este profármaco resultó ser el PS-15.⁵⁶

Farmacocinética: ensayos in vivo han demostrado que cuando el PS-15 es metabolizado a WR99210, éste último es el que muestra mayor actividad antimalárica.⁵⁶

El PS-15 se absorbe mucho mejor a través del tracto gastrointestinal, con relación a la administración de WR99210.⁵⁶

Toxicidad: en lo que se refiere a su toxicidad, no se han llevado a cabo estudios toxicológicos definitivos con el PS-15, lo cual es de gran interés por tratarse de un compuesto que se absorbe y se tolera satisfactoriamente.⁵⁶

La ausencia de resistencia cruzada del WR99210 con el cicloguanil y con la pirimetamina indica que el mecanismo de acción de dicho compuesto es diferente al de los fármacos antifolato ya mencionados, sin embargo esto no se ha comprobado definitivamente.⁵⁶

4.5 Compuestos que actúan uniéndose a la tubulina polimerizada del parásito, inhibiendo su despolimerización.

Los microtúbulos juegan un papel muy importante en el ciclo de vida del parásito, ya que son uno de los componentes mayoritarios de su citoesqueleto y están involucrados en pasos claves de su ciclo de vida, tales como; la formación del huso mitótico durante la división del parásito, el proceso de exflagelación durante la microgametogénesis, y la diferenciación del cigoto a oocineto. Es por lo anterior que los microtúbulos constituyen un "blanco" importante para impedir la propagación del parásito.⁵⁷

Los taxoides, tales como el paclitaxol (taxol) y el docetaxol, poseen la propiedad de estabilizar a los microtúbulos del parásito, tanto in vivo como in vitro, inhibiendo su despolimerización a tubulina libre.⁵⁷

4.5.1 Docetaxol

El docetaxol (RP 56976-FCH 160), es un compuesto semisintético relacionado con el paclitaxol (taxol), cuyos estudios in vitro han demostrado, que una corta exposición de 30 μM de dicho

compuesto, con los parásitos causantes de malaria, bloquea irreversiblemente el desarrollo de los esquizontes de *P. falciparum*. Se ha observado además, que el desarrollo de los trofozoítos de *P. falciparum*, se logra inhibir, con concentraciones de docetaxol, de 30 y 10 uM.⁵⁷

Además una exposición, de 10 nM de docetaxol, durante 5 horas, es suficiente para bloquear el desarrollo, in vitro, de *P. falciparum*, sobre todo cuando la exposición es realizada durante el periodo de división del parásito.⁵⁷

Se han realizado estudios in vivo con este compuesto, empleando para ello ratones infectados con *P. vinckei petteri*. Estos ratones fueron tratados con diferentes dosis de docetaxol (40, 30, 20, 10, y 7.5 mg/kg) durante 3 días, empleando 8 ratones por cada una de las dosis. Las inyecciones fueron intraperitoneales, en forma repetida diariamente, tomando muestras de los animales a los cinco días de haber iniciado el tratamiento, y cuyos resultados podemos ver en la siguiente tabla:⁵⁷

TABLA 7. Inhibición del desarrollo *P. vinckei petteri*, después de la administración de dosis diferentes de docetaxol.

| Conc. de docetaxol (mg/kg) (días 0, 1, 2, 3) | % Parasitema en el día 5 | % de Inhibición en el día 5 | Cantidad de ratones muertos |
|--|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 40 | 0 | 100 | 6 |
| 30 | 1.1 +/- 0.7 | 98.0 +/- 1.3 | 0 |
| 20 | 4.0 +/- 2.6 | 92.7 +/- 4.7 | 0 |
| 10 | 35.0 +/- 8.3 | 42.9 +/- 9.4 | 0 |
| 7.5 | 55.0 +/- 3.4 | 2.4 +/- 3.4 | 0 |
| Control | 55.7 +/- 4.4 | - | 0 |

Como se puede observar en la tabla anterior, a la concentración más alta de docetaxol probada, éste resultó altamente tóxico para los animales, ya que murieron 6 de los 8 ratones que integraban el grupo, a pesar de que se observó una total erradicación de los parásitos.⁵⁷

En los grupos tratados con 30 y 20 mg/kg de dicho compuesto, se observó una importante disminución de los parásitos, con porcentajes de inhibición de un 98 y un 92%.⁵⁷

Cabe mencionar que cuando se administró en los animales, una sola inyección de 40 mg/kg, no se observó ningún efecto tóxico, con una reducción de la parasitemia de un 64 a un 90% en los ratones infectados.⁵⁷

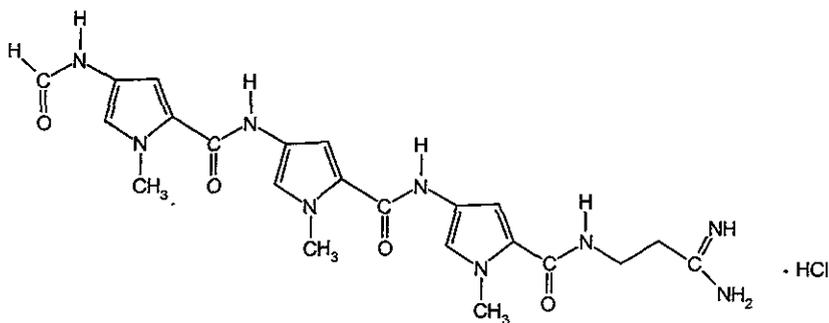
La mayor solubilidad acuosa del docetaxol en comparación con el paclitaxol, puede ayudar en la eficacia de dicho compuesto, y los investigadores suponen que una administración intravenosa (como en el caso del cáncer) puede presentar una mayor eficiencia contra los parásitos en sangre, causantes de la malaria.⁵⁷

El diseño de taxoides con baja toxicidad es hoy en día el objetivo de algunos investigadores, cuyo interés se basa en el mecanismo de acción de los mismos, el cuál es completamente diferente a los fármacos antipalúdicos ya existentes.⁵⁷

4.6 Compuestos cuyo mecanismo de acción no está claramente definido

4.6.1 Distamicina y análogos.

Entre éstos fármacos podemos encontrar a la distamicina, un oligopeptido amidina-pirrol, aislada del micelio de *Streptomyces distallicus*, y cuya estructura podemos ver a continuación:⁵⁸

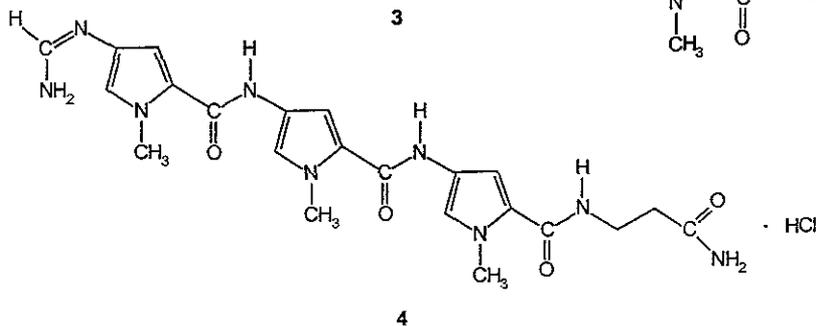
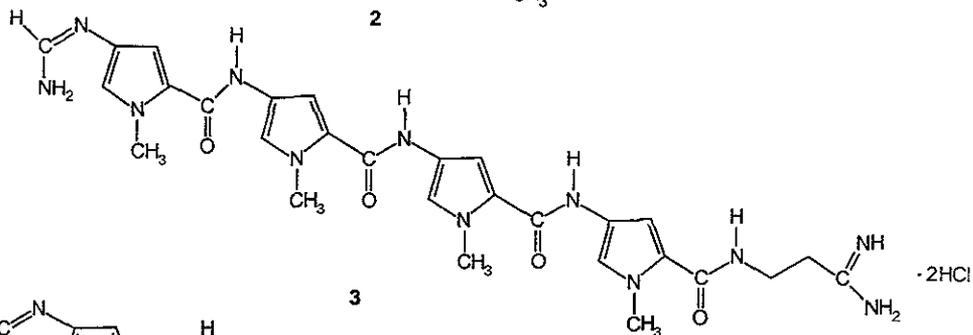
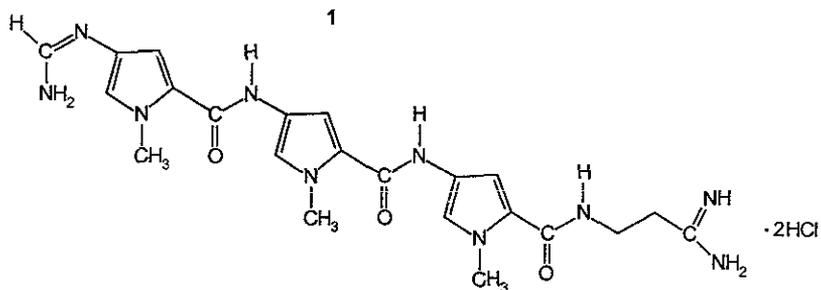
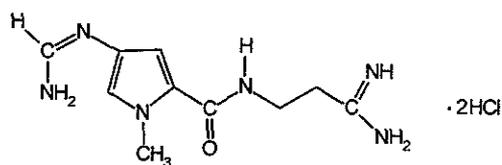


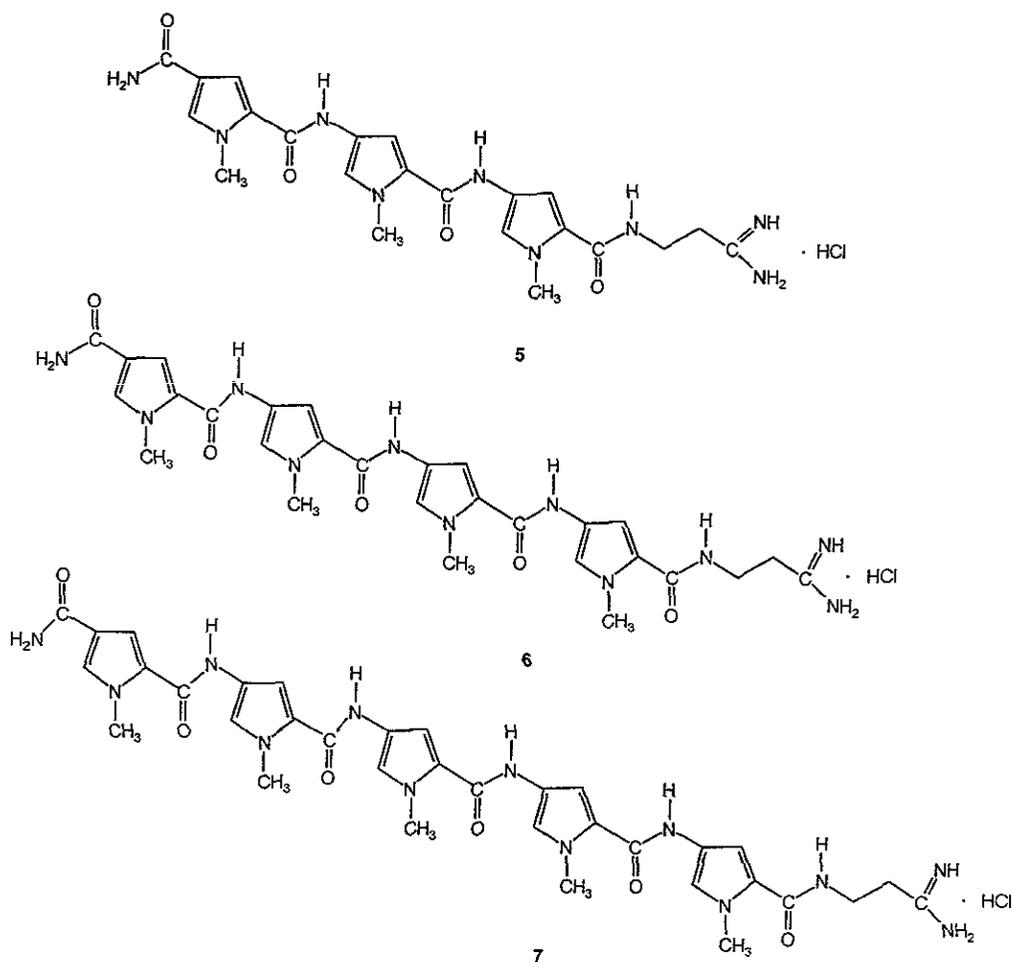
La distamicina inhibe selectivamente la multiplicación de diversos virus, tales como; vaccinia, herpes y otros, ya que se une al surco menor de la cadena doble de ADN, preferentemente en secuencias ricas de dA-dT, interfiriendo con ello con la replicación y con la transcripción del ADN.⁵⁸

Pero además estudios in vitro ha descubierto que la distamicina posee actividad contra *Plasmodium falciparum*, agente causal de paludismo.⁵⁸

Toxicidad: en la actualidad no se permite su uso clínico, debido a su alta toxicidad. A pesar de que se ha obtenido una preparación tópica de la distamicina, llamada herperal, para combatir herpes; ésta preparación nunca fué sacada al mercado, por su misma toxicidad.⁵⁸

La actividad antiprotozoaria de la distamicina, puede ser debida a que el genoma de *P. falciparum* es rico en pares de bases dA-dT (82%), en comparación con el huésped humano que cuenta aproximadamente con un 59% de dA-dT. Sin embargo, debido a sus efectos tóxicos, se han sintetizado una gran variedad de análogos de este compuesto, cuyas estructuras podemos ver a continuación:⁵⁸





Estructuras de análogos N-formimidoilo (1-4) y carbamoilo (5-7), de la distamicina.

En estos análogos, el grupo N-formilo, característico de la distamicina, es reemplazado por un grupo N-formimidoilo (compuestos 1-4) o por un grupo carbamoilo (compuestos 5-7).⁵⁸

Los compuestos 1-3, llevan un grupo amidina adicional, cargado positivamente, en el extremo N-terminal; mientras que el compuesto 4 tiene un grupo amida primario en el C-terminal y un grupo amidina en el N-terminal.⁵⁸

Los compuestos 1,3,6, y 7 tienen un diferente número de unidades pirrol con respecto a la distamicina.⁵⁸

De los análisis de las actividades biológicas de los análogos de la distamicina, se obtuvieron resultados indicando que éstos compuestos sintéticos poseían mayor actividad antimalárica que anti herpética. Los compuestos 5-7 a su vez mostraron baja citotoxicidad y mayor estabilidad química en comparación con la distamicina.⁵⁸

Ensayos in vitro posteriores con cepas de *Plasmodium falciparum*, confirmaron que el compuesto 7 mostraba una potente y rápida acción antiparasitaria en cepas del parásito resistentes a la cloroquina. Un 100% de inhibición se presentó 4 horas después de utilizar una sola dosis de 1 µg/ml. Esto lo hace un compuesto de gran interés para ensayos in vivo posteriores, los cuales aún no se han publicado, pero se espera se haga muy pronto por tratarse de un compuesto que puede poseer una estructura clave para el desarrollo de otros compuestos antimaláricos.⁵⁸

4.6.2 Alopurinol

Estudios tanto in vitro, como in vivo, han demostrado que ciertos análogos a la inosina, presentan actividad antiprotozoaria. Entre éstos análogos a la inosina, se encuentra el alopurinol, el cuál, en estudios in vitro, ha mostrado bloquear la biosíntesis de purinas intraeritrocítica en el plasmodio causante de malaria, afectando con ello su metabolismo de proteínas.⁵⁹

La acción antiparasitaria selectiva de dicho compuesto, se cree que es debida a su incorporación en la vía de salvamento de las purinas en el parásito y no en el huésped. Sin embargo, el alopurinol, mostró baja actividad in vivo, ya que se ha reportado que en ratones infectados con *P. berghei*, después de una administración del mismo, se observó un aumento en la multiplicación

del parásito, lo cuál pudo deberse a que en animales pequeños, éste compuesto se metaboliza rápidamente y en forma diferente en humanos.⁵⁹

El alopurinol además mostró actividad contra *P. vivax*. Y se observó que cuando es combinado con la quinina (conocido comercialmente como ALLQUIN) mostró un efecto curativo en pacientes que tenían una infección con *P. falciparum* y *P. vivax*. Esta co-administración redujo la parasitemia en forma más rápida, a que cuando se administró la quinina unicamente.⁵⁹

Farmacocinética: el alopurinol administrado en una dosis de 11-36 mg/kg/día, se absorbió rápidamente, y presentó una vida media de 2-3 horas. Dicho compuesto se metabolizó a oxipurinol, cuya vida media fué de 18-30 horas.⁵⁹

ANALISIS DE INFORMACION

La malaria o paludismo, es una enfermedad parasitaria transmitida por la hembra del mosquito *Anopheles*. Existen cuatro formas de paludismo en humanos, de las cuales la más grave es la causada por *Plasmodium falciparum*, ya que si no se somete al paciente a un tratamiento rápido y efectivo, puede ocasionarle la muerte.

Es importante mencionar que la mayoría de los que adquieren la enfermedad son los niños y anualmente muchos de ellos pierden la vida por causa del paludismo.

La malaria, es una enfermedad, que a pesar de haber sido erradicada en ciertos países, como Estados Unidos, afecta aún a varios lugares en el mundo, entre los cuáles podemos mencionar a Africa, Nigeria, Brasil, Tailandia, Sureste de México, entre muchos otros.

El crecimiento de la población y la migración de gente de países endémicos a la enfermedad, hacia otros lugares, puede contribuir al aumento de la enfermedad. Además, las personas que viajan constantemente hacia países que sufren de malaria, como Africa, corren el riesgo de adquirirla, por lo cuál deben de someterse a un tratamiento previo para no contagiarse y sobre todo, no transmitirla cuando regresen a su país de origen.

La revisión de la historia de la enfermedad, nos ha llevado a conocer que ésta existe desde la época del imperio romano, lo cuál nos pondría a pensar porqué no se ha logrado erradicar a la enfermedad a nivel mundial, sobre todo en ésta época de grandes avances científicos, con los cuáles se han logrado muchos beneficios para la humanidad. Lo anterior puede deberse a que la economía del país que sufre de malaria, es un factor muy importante a considerar, ya que la búsqueda de nuevas estrategias para combatirla, es un proceso costoso y el riesgo de adquirir malaria, continuará mientras los antipalúdicos tradicionales, a los cuáles el parásito causante de la enfermedad, ha mostrado ser resistente, no sean reemplazados por nuevos compuestos más efectivos y novedosos. Esto aunado a que el gobierno de cada ciudad, debe decidir si es o no importante el control de la enfermedad, en comparación con otras enfermedades, que puedan presentarse en sus centros de salud, las cuáles pueden ser de mayor riesgo e importancia para ellos.

Para matar al vector transmisor de la enfermedad, se usó inicialmente el DDT, un compuesto que además de ser económico, mostraba ser efectivo contra el mosquito. Sin embargo el mosquito *Anopheles* ha desarrollado resistencia al DDT y su uso ha sido prohibido por mostrar altos niveles

de toxicidad, lo cuál sugiere la obtención de nuevos insecticidas para eliminar al vector y con ello bajar los niveles de transmisión de malaria.

La mejor forma de enfrentar a la malaria sería desarrollar una vacuna eficaz. Sin embargo, esto se ve muy lejano, ya que a la investigación para la malaria se asigna muy poco dinero en comparación con otras enfermedades. Y aún si alguna vacuna fuera descubierta, solamente ofrecería inmunidad a una de las varias formas de la enfermedad.

El diagnóstico de malaria es un punto interesante a considerar, ya que los centros de salud deben saber diferenciar la fiebre causada por malaria de aquella ocasionada por otra enfermedad. Esto es importante porque en algunos lugares, como por ejemplo Africa, se han presentado casos de pacientes con fiebres elevadas, que no padecen de malaria, los cuales han sido sometidos a un tratamiento con fármacos antipalúdicos y viceversa.

El uso de fármacos antipalúdicos tradicionales, como la cloroquina y la quinina, se ha reducido en países endémicos a la enfermedad debido a la resistencia del plasmodio a tales compuestos, o bien por su alta toxicidad. Esto muestra la necesidad de obtener nuevos compuestos químicos, cuyo mecanismo de acción sea diferente al de los antipalúdicos tradicionales.

La búsqueda de nuevos fármacos antipalúdicos, es un proceso largo, complejo y costoso y el resultado final no siempre es satisfactorio, ya que muchas veces los nuevos compuestos descubiertos muestran al inicio buena actividad antiparasitaria tanto in vitro, como in vivo, sin embargo sus altos niveles de toxicidad detienen su estudio y con ello la esperanza de obtener un nuevo fármaco antipalúdico.

En la actualidad se están desarrollando análogos estructurales de fármacos ya utilizados clínicamente, como la cloroquina, cuyo mecanismo de acción y estructura son conocidos, esperando obtener compuestos que superen la actividad antimalárica del compuesto de origen.

Además, se está evaluando la actividad antiparasitaria de nuevos compuestos químicos, de los cuáles aún faltan varios estudios, aunque se espera que entre ellos, se encuentre el nuevo antipalúdico que sea el de elección para combatir la enfermedad. Entre los cuáles se encuentra la artemisina y derivados, que han mostrado ser efectivos para combatir la malaria. Sin embargo se ha observado que su acción es rápida pero de corta duración, lo que ha llevado a la combinación de la artemisina o sus derivados con otros antipalúdicos.

Otros compuestos en estudio son: la atovaquona y el docetaxol, que muestran actividad en la fase eritrocítica de *P. falciparum*, a diferencia del proguanilo, que es efectivo en la fase pre-eritrocítica del plasmodio.

Entre los compuestos cuyo mecanismo de acción no está definido se encuentran los análogos de la distamicina y el alopurinol, los cuáles requieren de estudios más profundos para poder conocer el mecanismo de su actividad antiprotozoaria.

CONCLUSIONES

- El paludismo es el principal problema que enfrentan muchas zonas tropicales y subtropicales a nivel mundial y que si no es controlado, puede regresar a países donde se ha logrado su erradicación.
- Las personas que deseen viajar a zonas con malaria, deben de someterse a un tratamiento previo a su viaje, lo cual evitará que se contagien y sean portadores de la infección cuando regresen a su país de origen.
- Es necesario reemplazar a los fármacos que han demostrado ser ineficaces e impulsar más programas para combatir al mosquito transmisor de la enfermedad.
- Se debe de impulsar proyectos de investigación en vacunas contra el agente causal de la malaria y concentrar todo esfuerzo en proteger a los niños, que son los que se encuentran el alto riesgo de adquirir paludismo.
- A pesar de que no se han documentado muchos casos de paludismo en México, este existe sobre todo en la zona sur, y puede incrementarse en zonas de alta temperatura y humedad, ya que es el ambiente que requiere el vector para su reproducción.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

GLOSARIO

Alquilación. Proceso químico, en el cual un radical alquilo reemplaza a un átomo de hidrógeno.

Biotransformación. Alteraciones químicas que sufre una sustancia en el cuerpo.

Cefalalgia. Dolor de cabeza.

Cianosis. Coloración de la piel ligeramente azulosa, grisácea, como pizarra, o violeta oscuro por la presencia de cantidades anormales de hemoglobina reducida en sangre.

Citoesqueleto. Armazón estructural interno de una célula, que consiste en tres tipos de filamentos que son: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios.

Choque. Síndrome clínico que se caracteriza porque el flujo sanguíneo periférico no es el adecuado para hacer volver suficiente sangre al corazón para sus funciones normales, y en particular para el transporte de oxígeno hacia todos los órganos y tejidos.

Edema pulmonar. Acumulación de líquido en los pulmones por insuficiencia cardíaca izquierda, o sea, llega más sangre a la circulación pulmonar que la que se elimina.

Esporozoíto. Célula alargada en forma de creciente que se desarrolla a partir de un esporoblasto dentro del oocisto en el ciclo de vida de los microorganismos del paludismo.

Esquizogonia. Reproducción por fisión asexual múltiple característico de esporozoarios, en especial el ciclo de vida del parásito del paludismo.

Esquizonte. Etapa en la fase asexual del ciclo de vida de *Plasmodium*, que se encuentra en los eritrocitos.

Esquizonticidas. Algo que destruye esquizontes.

Exflagelación. Formación de microgametos (cuerpos flagelados) a partir de microgametocitos. Ocurre en los microorganismos del paludismo en el estómago de un mosquito.

Fiebre cuartana. Paludismo con paroxismos cortos y menos graves. La esporulación ocurre cada 72 horas, originando convulsiones cada cuatro días. Causada por *P. malariae*.

Fiebre terciana. Paludismo en el cual la esporulación ocurre cada 48 horas. Los síntomas son más comunes durante el día.

Gametocida. Agente que destruye gametos o gametocitos, en particular los del paludismo.

Genoma. El complemento cromosómico haploide; el grupo completo de cromosomas y, en esa

forma la información genética total presente en una célula.

Globina. Proteína constituyente de la hemoglobina.

Hematina. Porción no proteínica de la molécula de hemoglobina, en la que el hierro se encuentra en estado férrico en lugar de ferroso.

Hematuria. Sangre en la orina.

Hemozoína. Pigmento oscuro que se encuentra dentro de microorganismos del paludismo, derivado de la desintegración de la hemoglobina.

Hipotensión. Disminución de las presiones arteriales sistólica y diastólica.

Ictericia. Trastorno caracterizado por color amarillento de piel, escleróticas oculares, mucosas y líquidos corporales por depósito de pigmento biliar debido al exceso de bilirrubina en sangre.

Inmunofluorescencia. Empleo de anticuerpos teñidos o marcados con fluoresceína para localizar antígenos en tejidos.

Leucocitosis. Aumento de la cifra de leucocitos (mayor de 10 000/mm³) en sangre, causado por lo general por la presencia de una infección y casi siempre es pasajera.

Lupus eritematoso discoideo. Enfermedad crónica de la piel caracterizada por remisiones y exacerbaciones de un exantema descamativo, rojo, macular.

Merozoítos. Cuerpo formado por segmentación o rotura del esquizonte en la reproducción asexual de ciertos esporozoarios como *Plasmodium*.

Microtúbulos. Estructura hueca o tubular alargada que se encuentra en las células. Son muy importantes para ayudar a ciertas células a conservar su rigidez al convertir la energía química en trabajo, y al proporcionar un medio para transportar sustancias en diferentes direcciones en una célula.

Miocardopatía. Cualquier enfermedad del miocardio.

Miopatía. Cualquier enfermedad o trastorno anormal de músculos estriados.

Neurotoxicidad. Tener la capacidad de lesionar el tejido nervioso.

Profármaco. Fármaco inerte que se vuelve activo después de la biotransformación.

Prurito. Irritación de la piel que induce el deseo de rascarse.

Quimiopprofilaxis. Uso de un fármaco o sustancia química para prevenir una enfermedad.

Recrudescencia. Regreso de síntomas después de una remisión. Recaída.

Teratogénico. Que causa desarrollo anormal del embrión.

Trofozoíto. Esporozoario nutrido por sus huéspedes durante su etapa de crecimiento.

Tubulina. Proteína presente en los microtúbulos de las células.

Turgencia. Tumefacción o crecimiento de una parte.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Cheng, T. C. *General Parasitology*. Eds.; Academic Press: New York, 1973, pp 257-264.
- 2.- Schmidt, G. D.; Roberts, L. S. *Foundations of Parasitology*. Eds.; Times Mirror/Mosby:St. Louis, 1989, pp 139-162.
- 3.- Bruce-Chwatt, L. J. Unde venis viator et quo vadis?. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1987, 81, 471-486.
- 4.- <http://www.who.int/ctd/html/malariego.html>
- 5.- Goodman, G. A.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor, P. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Eds.; Editorial Médica Panamericana: México, 1991, pp 953-969.
- 6.- Schmidt, G. D. *Essentials of Parasitology*. Eds.; Wm. C. Brown Publishers: Dubuque, Iowa, 1988, pp 25-34.
- 7.- Wyler, D. J. *Modern Parasite Biology*. Eds.; W. H. Freeman and Company: New York, 1990, pp 5-25.
- 8.- Van der Hoek, W.; Konradsen, F.; Perera, D.; Amerasinghe, P. H. Correlation between rainfall and malaria in the dry zone of Sri Lanka. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 1997, 91, 945-949.
- 9.- <http://www.bsip.com/htmla/a0272.htm>

- 10.- Winstanley, P. A.; Breckenridge, A.M. Currently important antimalarial drugs. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **1987**, 81, 619-627.
- 11.- Skjelbo, E.; Mutabingwa, T.K.; Bygbjerg, I.; Nielsen, K.K.; Gram, L.F.; Brosen, K. Chloroguanide metabolism in relation to the efficacy in malaria prophylaxis and the S-mephenytoin oxidation in Tanzanians. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **1996**, 59, 304-309.
- 12.- Vanhauwere, B.; Maradit, H.; Kerr, L. Post-marketing surveillance of prophylactic mefloquine (Lariam) use in pregnancy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1998**, 58, 17-21.
- 13.- Croft, A.M.; Clayton, T.C.; World, M.J. Side effects of mefloquine prophylaxis for malaria: an independent randomized controlled trial. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, 91, 199-203.
- 14.- Collins, W.E.; Jeffery, G.M. Primaquine resistance in *Plasmodium vivax*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1996**, 55, 243-249.
- 15.- Tréluyer, J.M.; Roux, A.; Mugnier, C.; Flouvat, B.; Lagardere, B. Metabolism of Quinine in children with global malnutrition. *Pediatric Research* **1996**, 40, 558-563.
- 16.- Bunnag, D.; Karbwang, J.; Na-Bangchang, K.; Thanavibul, A.; Chittamas, S.; Harinasuta, T. Quinine-Tetracycline for multidrug resistant falciparum malaria. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health* **1996**, 27, 15-17.
- 17.- White, N. J. Why is it that antimalarial drug treatments do not always work?. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **1998**, 92, 449-458.

- 18.- Tekwani, B. L.; Pandey, A. V. Depolymerization of malarial hemozoin: a novel reaction initiated by blood schizontocidal antimalarials. *FEBS Letters* **1997**, *402*, 236-240.
- 19.- Hemmer, C. J.; Hort, G.; Chiwakata, C. B.; Seitz, R.; Egbring, R.; Gaus, W.; Hogel, J.; Dietrich, M. Supportive pentoxifylline in falciparum malaria: no effect on Tumor Necrosis Factor alpha levels or clinical outcome: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, *56*, 397-403.
- 20.- Cot, M.; Miaillhes, P.; Roisin, A.; Fievet, N.; Barro, D.; Deloron, P.; Carnevale, P.; Breart, G. Effect of chloroquine prophylaxis during pregnancy on maternal haematocrit. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **1998**, *92*, 37-43.
- 21.- Ducharme, J.; Farinotti, R. Clinical pharmacokinetics and metabolism of chloroquine. *Clinical Pharmacokinetic* **1996**, *31*, 257-274.
- 22.- Adebayo, R. A.; Sofowora, G. G.; Onayemi, O.; Udo, S. J.; Ajayi, A. A. Chloroquine-induced pruritus in malaria fever: contribution of malaria parasitaemia and the effects of prednisolone, niacin, and their combination, compared with antihistamine. *British Journal of Clinical Pharmacology* **1997**, *44*, 157-161.
- 23.- Slater, A. F. G. Chloroquine-mechanism of drug action and resistance in *Plasmodium falciparum*. *Pharmacology and Therapeutics* **1993**, *57*, 203-235.
- 24.- Le Hesran, J. Y.; Boudin, C.; Cot, M.; Personne, P.; Chambon, R.; Fournane, V.; Verhave, J. P.; De Vries, C. In-vivo resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine and amodiaquine in South Cameroon and age-related efficacy of the drugs. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **1997**, *91*, 661-664.

- 25.- Shah, I.; Rowland, M.; Mehmood, P.; Mujahid, C.; Raziq, F.; Hewitt, S.; Durrani, N. Chloroquine resistance in Pakistan and the upsurge of falciparum malaria in Pakistani and Afghan refugee populations. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **1997**, *91*, 591-602.
- 26.- Hakim, S. L.; Zurkurnai, Y.; Rain, A. N.; Mansor, S. M.; Palmer, K.; Navaratnam, V.; Mak, J. W. *Plasmodium falciparum*: increased proportion of severe resistance (R_{II} and R_{III}) to chloroquine and high rate of resistance to sulfadoxine-pyrimethamine in Peninsular Malaysia after two decades. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1996**, *90*, 294-297.
- 27.- Falade, C. O.; Salako, L. A.; Sowunmi, A.; Oduola, A. M.; Larcier, P. Comparative efficacy of halofantrine, chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine for treatment of acute uncomplicated falciparum malaria in Nigerian children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, *91*, 58-62.
- 28.- Sowunmi, A.; Oduola, A.M. Comparative efficacy of chloroquine/chlorpheniramine combination and mefloquine for the treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria in Nigerian Children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, *91*, 689-693.
- 29.- Falaschi, F.; Ansaloni, L. Chloroquine versus pyrimethamine/sulphadoxine in the treatment of uncomplicated *P. falciparum* in northern Kenya. *East African Medical Journal* **1997**, *74*, 275-277.
- 30.- Wernsdorfer, W.H. Epidemiology of drug resistance in malaria. *Acta Tropica* **1994**, *56*, 143-156.

- 31.- Vanijanonta, S.; Chantra, A.; Phophak, N.; Chindanon, D.; Clemens, R.; Pukrittayakamee, S. Therapeutic effects of chloroquine in combination with quinine in uncomplicated falciparum malaria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1996, 90, 269-275.
- 32.- Sowunmi, A.; Oduola, A. M.; Ogundahunsi, O. A.; Falade, C. O.; Gbotosho, G. O.; Salako, L. A. Enhanced efficacy of chloroquine-chlorpheniramine combination in acute uncomplicated falciparum malaria in children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1997, 91, 63-67.
- 33.- Ridley, R. G.; Matile, H.; Jaquet, C.; Dorn, A.; Hofheinz, W.; Leupin, W.; Masciadri, R.; Theil, F. P.; Richter, W. F.; Girometta, M.; Guenzi, A.; Gocke, E.; Potthast, J.; Csato, M.; Thomas, A.; Peters, W. Antimalarial activity of the Bisquinoline *trans*-N¹-N²-bis(7-chloroquinolin-4-yl)cyclohexane-1,2-diamine: comparison of two stereoisomers and detailed evaluation of the S,S enantiomer, Ro 47-7737. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997, 41, 677-686.
- 34.- Ridley, R. G.; Hofheinz, W.; Matile, H.; Jaquet, C.; Dorn, A.; Masciadri, R.; Jolidon, S.; Richter, W. F.; Guenzi, A.; Girometta, M.; Urwyler, H.; Huber, W.; Thaithong, S.; Peters, W. 4-Aminoquinoline Analogs of Chloroquine with Shortened Side Chains Retain Activity against Chloroquine-Resistant *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996, 40, 1846-1854.
- 35.- Francois, G.; Timperman, G.; Eling, W.; Aké Assi, L.; Holenz, J.; Bringmann, G. Naphthylisoquinoline Alkaloids against Malaria: Evaluation of the Curative Potentials of Dioncophylline C and Dioncopeltine A against *Plasmodium berghei* In Vivo. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* 1997, 41, 2533-2539.
- 36.- Ridley, R. G. *Plasmodium*: Drug Discovery and Development-An Industrial Perspective. *Experimental Parasitology* 1997, 87, 293-304.

- 37.- Benakis, A.; Paris, M.; Loutan, L.; Plessas, C. T.; Plessas, S.T. Pharmacokinetics of Artemisinin and Artesunate after oral administration in healthy volunteers. *American Journal Tropical Medicine Hygiene* 1997, 56, 17-23.
- 38.- Alin, M. H.; Ashton, M.; Kihamia, C. M.; Mtey, J. B.; Björkman, A. Multiple dose pharmacokinetics of oral artemisinin and comparison of its efficacy with that of oral artesunate in falciparum malaria patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1996, 90, 61-65.
- 39.- Looareesuwan, S.; Wilairatana, P.; Vanijanonta, S.; Pitisuttithum, P.; Ratanapong, Y.; Andrial, M. Monotherapy with sodium artesunate for uncomplicated falciparum malaria in Thailand: a comparison of 5- and 7- regimens. *Acta Tropica* 1997, 67, 197-205.
- 40.- Sowunmi, A.; Odulola, M. J. Artemether treatment of recrudescing *Plasmodium falciparum* malaria in children. *Tropical Medicine and International Health* 1997, 2, 631-634.
- 41.- Murphy, S.; English, M.; Waruiru, C.; Mwangi, I.; Amukoye, E.; Crawley, J.; Newton, C.; Winstanley, P.; Peshu, N.; Marsh, K. An open randomized trial of artemether versus quinine in the treatment of cerebral malaria in African children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1996, 90, 298-301.
- 42.- Tripathi, R.; Dutta, G. P.; Vishwakarma, R. A. Gametocytocidal activity of α/β Arteether by the oral route of administration. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1996, 54, 652-654.
- 43.- Mohanty, S.; Mishra, S. K.; Satpathy, S. K.; Dash, S.; Patnaik, J. α,β -Arteether for the treatment of complicated falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1997, 91, 328-330.

- 44.- Hung, L. N.; de Vries, P. J.; Thuy, L. T.; Lien, B.; Long, H. P.; Hung, T. N.; Anh, T. K.; Kager, P. A. Single dose artemisinin-mefloquine versus mefloquine alone for uncomplicated falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, *91*, 191-194.
- 45.- Seidlein, L.; Jaffar, S.; Pinder, M.; Haywood, M.; Snounou, G.; Gemperli, B.; Gathmann, I.; Royce, C.; Greenwood, B. Treatment of African Children with Uncomplicated Falciparum Malaria with a New Antimalarial Drug, CGP 56697. *The Journal of Infectious Diseases* **1997**, *176*, 1113-1116.
- 46.- Na-Bangchang, K.; Congpuong, K.; Sirichaisinthop, J.; Suprakorb, K.; Karbwang, J. Compliance with a 2 day course of artemether-mefloquine in an area of highly multi-drug resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *British Journal of Clinical Pharmacology* **1997**, *43*, 639-642.
- 47.- Price, R. N.; Nosten, F.; Luxemburger, C.; van Vugt, M.; Phaipun, L.; Chongsuphajaisiddhi, T.; White, N. J. Artesunate/mefloquine treatment of multi-drug resistant falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1997**, *91*, 574-577.
- 48.- Na-Bangchang, K.; Tipwangso, P.; Thanavibul, A.; Tan-ariya, P.; Suprakob, K.; Kanda, T.; Karbwang, J. Artemether-pyrimethamine in the treatment of pyrimethamine-resistant falciparum malaria. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health* **1996**, *27*, 19-23.
- 49.- Fleck, S. L.; Pudney, M.; Sinden, R. E. The effect of atovaquone (566C80) on the maturation and viability of *Plasmodium falciparum* gametocytes *in vitro*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1996**, *90*, 309-312.