مجله‌ی علمی، پژوهشی دانشگاه علـوم پزشکی زنجـان
دوره‌ی ۱۸، شماره‌ی ۷۰، بهـار ۱۳۸۹، صفـحات ۱ تا ۹

ساخت آنالوگ‌های جدید ۴- فلوروآمودیاکین و بررسی اثرات ضد مالاریایی دارو علیه سویه‌های حساس و مقاوم به کلروکین *پلاسمودیوم فالسیپاروم*

اقباله اسدالهی[۱]، دکتر افرا خسروی[۲]، پروفسور پال اونیل[۳]

نویسنده‌ی مسئول: ایلام، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، گروه ایمونولوژی afrakhosravi@yahoo.co.uk

دریافت: ۸۸/۱/۳۱ پذیرش: ۸۸/۱۰/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: *مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین به یکی از مشکلات عمده‌ی بهداشتی در کشورهای در حال توسعه تبدیل شده است. آمودیاکین یکی از ترکیبات ۴-آمینوکینولین است که علیه بسیاری از سویه‌های مقاوم به کلروکین موثر است، اما استفاده‌ی کلینیکی از آن به شدت محدود شده است، زیرا این دارو اثرات هپاتوتوکسیکی و آگرانولوسیتوزی در مصرف کنندگان ایجاد می‌کند. هدف مطالعه‌ی حاضر طراحی و ساخت آنالوگ‌های جدیدی از آمودیاکین است تا در درمان سویه‌های مقاوم به کلروکین موثر بوده، جایگزین مناسبی برای کلروکین نیز باشد.*

روش بررسی: *در مطالعه‌ی حاضر آنالوگ‌های ایزومریک آمودیاکین در یک روش چهار مرحله‌ای تولید شده، علیه سویه‌های مختلف پلاسمودیوم فالسیپاروم مقاوم و حساس به کلروکین از جمله پلاسمودیوم فالسیپاروم TM6 (مقاوم به کلرکین) و 3D7 (حساس به کلروکین) به‌صورت In vitro آزمایش گردیدند.*

یافته‌ها: *چندین آنالوگ ۴-فلورو آمودیاکین فعالیت ضد مالاریایی مناسبی به‌صورت In vitro علیه ایزوله‌ی 3D7 پلاسمودیوم فالسیپاروم حساس به کلروکین نشان دادند ولی هیچکدام از این آنالوگ‌ها قوی تر از خود آمودیاکین نبودند. بهترین فعالیت ضد مالاریایی با استفاده از آنالوگ (6f) Morpholino حاصل شد.*

نتیجه‌گیری: *از بین ۱۰ آنالوگ مختلف فلوروآمودیاکین ساخته شده، ترکیب 6h به‌عنوان ترکیبی قوی‌تر از دیگر کاندیدها شناخته شد. اگر چه این ترکیب با کلروکین و آمودیاکین در اثر بخشی علیه انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم نیز برابری می‌کرد.*

واژگان کلیدی: آنالوگ‌های جدید، ضد مالاریا، پلاسمودیوم فالسیپاروم، کلروکین، آمودیاکین

مقدمه

مقاومت پلاسمودیوم فالسیپاروم به کلروکین به یکی از مشکلات عمده‌ی بهداشتی در کشورهای در حال توسعه تبدیل شده است (۲و۱). این مقاومت به داروی طلایی ضد مالاریا باعث به‌وجود آمدن تیم‌های بزرگ تحقیقاتی

۱- کارشناس ارشد شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۲- دکترای تخصصی ایمونولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۳- دکترای تخصصی شیمی پزشکی، استاد دانشگاه لیورپول

در سرتاسر دنیا و روی آوردن به ساخت و آزمایش داروهای جایگزین گردیده است به گونه‌ای که داروی جدید بتواند علیه سویه‌های انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم مقاوم به کلروکین پاسخ موثری ایجاد نمایند (۲و۱). آمودیاکین یکی از ترکیبات ۴- آمینوکینولین است که علیه بسیاری از سویه‌های مقاوم به کلروکین موثر است (۳-۱) اما به هر حال استفاده کلینیکی از آمودیاکین به جای کلروکین به شدت محدود شده است زیرا این دارو اثرات هپاتوتوکسیکی و آگرانولوسیتوزی ایجاد می‌کند (۷-۴).

پاراستامول (۴- هیدروکسی استانیلید) دارای یک ماهیت P-Hydroxyanilino است که معتقدند با واسطه‌ی P450 کاتالیز شده، یک کینون آمینی فعال از نظر شیمیایی ایجاد می‌کند (۸). آمودیاکین نیز دارای چنین ماهیتی است به گونه‌ای که در شرایط In vivo یک کینون آمین آمودیاکین (AQQI) که گلوتاتیون را به عنوان کونژوگه در بردارد را در داخل مجاری صفراوی ایجاد می‌کند (۱۰ و۹). تشکیل چنین گونه‌های واکنش‌دهنده و ترکیب آن با ماکرومولکول‌ها می‌تواند فعالیت سلول را به صورت مستقیم یا با واسطه‌ی مکانیسم‌های ایمونولوژیکی تحت تاثیر قرار دهد (۱۲و۱۱). در بیمارانی که پاسخ نامطلوب به آمودیاکین نشان داده‌اند پاسخ ایمونولوژیکی از نوع IgG تشخیص داده شده است. در مورد پاراستامول افزودن فلورین به هسته‌ی آروماتیک دارو قدرت اکسیداسیون مولکول را افزایش داده، لذا مانع تبدیل مولکول به یک کینون آمین سیتوتوکسیک بصورت In vivo می‌گردد. در مکانیسم مشابهی همکاری اتم‌های فلورین با زنجیر جانبی 4-Hydroxyanilino آمودیاکین، ترکیباتی با قدرت اکسیداتیو پایدارتر و متابولیکی بالاتری به‌وجود می‌آورد. مطالعات قبلی نشان داده است که جایگزینی گروه ۴- هیدروکسیل با اتم ۴- کلرین آنالوگی از آمودیاکین ایجاد می‌کند به‌نام کلرو آمودیاکین که قدرت ضد مالاریایی بالایی در مقایسه با داروهای مقاوم به کلروکین حتی در مقادیر نانو مولار دارا می‌باشد (۱۶-۱۳و۱۱). با جایگزینی زنجیره‌های جانبی ۳´ هیدروکسیل و ۴´- مانیک آمودیاکین، آنالوگ‌هایی جدید تولید می‌گردد که فاقد خاصیت سمی متابولیت‌های دارو از طریق P450 می‌شود (۱۸ و۱۷). در مطالعه‌ی حاضر آنالوگ‌های ایزومریک آمودیاکین در یک روش چهار مرحله‌ای تولید شده و علیه سویه‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم TM6، K1، TM4، V1S و J164 (مقاوم به کلروکین) و 3D7، PH3، DD2، 7G8 و HB3 (حساس به کلروکین) به‌صورت Invitro آزمایش گردیده‌اند. هدف مطالعه‌ی جاری ساخت یک سری آنالوگ آمودیاکین بود، به گونه‌ای که گروه ۴- هیدروکسیل آمودیاکین با فلورین جایگزین گردید. این مطالعه که به‌صورت چهار مرحله‌ای و با جایگزینی فلورین به جای هیدروکسیل صورت گرفته است، کار جدیدی است و تاکنون سابقه‌ی قبلی ندارد.

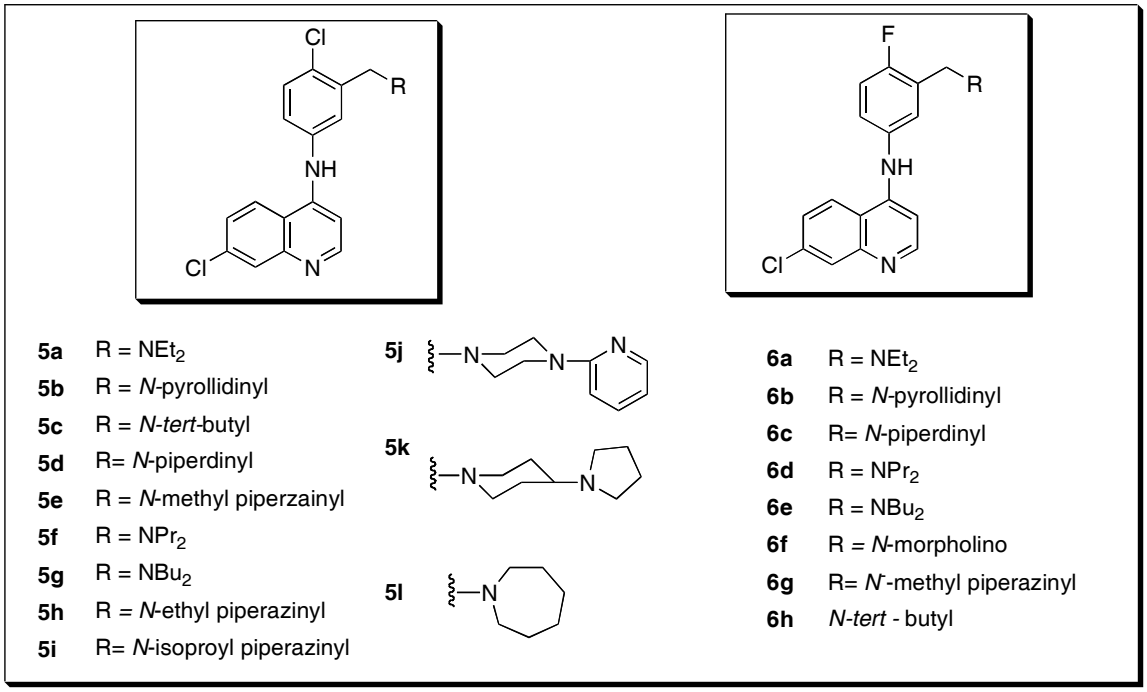
روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی بود. کلیه‌ی امور شیمی دارو در بخش شیمی پزشکی دانشکده‌ی شیمی و امور انگل‌شناسی در بخش انگل‌شناسی دانشکده‌ی بیماری‌های گرمسیری دانشگاه لیورپول صورت گرفت.

الف) شیمی دارو: اگر چه مطالعات دیگری برای ساخت آنالوگ‌های جدید از آمودیاکین انجام شده است اما جایگزینی فلورین با گروه ۴- هیدروکسیل آمودیاکین ترکیب جدیدی است که طی این مطالعه برای اولین بار طراحی و ساخته شده است. در اولین مرحله ۲ فلورو ۵ نیتروتولوئن (نمایندگی Merck در انگلستان) با استفاده از برومین (نمایندگی Merck در انگلستان) و UV برومینه شده و ماحصل ساخت یک کریستال جامد به‌نام به بنزیل بروماید بود. ماده‌ی اخیر با دی اتیل آمید واکنش داده، ماده‌ی ۶ را تولید نمود، این ماده نیز با استفاده از HCL رداکشن داشته، ماده ۷ ساخته شد. در آخرین مرحله‌ی جایگزینی هسته‌ی آروماتیک ۴ کلرین

در ۴- ۷ دی کلروکینولین (نماینـدگی Merck در انگلـستان) بود که منجر بـه سـاخت ترکیـب a ۵ شـد. البتـه دو ترکیـب اضافی دیگـر بنـام N-Tert-Butyl(6M), Pyrollidine(5b) نیز ساخته شد (شکل‌های ۱تا۳). چارت یک اطلاعات ساخت این آنالوگ را به‌صورت ترسیمی نشان می‌دهد. بعد از ساخت دارو، اثر بخشی آن به‌صورت Invitro مورد آنالیز قرار گرفت و سپس ویژگی‌های مختلف هر کدام از آنالوگ‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. آنالوگ‌های 6h و 6b نیز در رقـت‌هـای مختلـف علیه ۱۰ سویه‌ی انگل به روش فوق مورد بررسی قرار گرفـت و پس از تعیین رقت مناسب برای دسترسـی بـه IC50، ایـن رقت مورد استفاده قرار گرفت.

در شکل یک نحوه‌ی تشکیل دارو ترسیم شده است.



شکل ۱: ساختمان شماتیک آنالوگ‌های ۴-کلرو، ۴-فلوئوروآمودیاکین

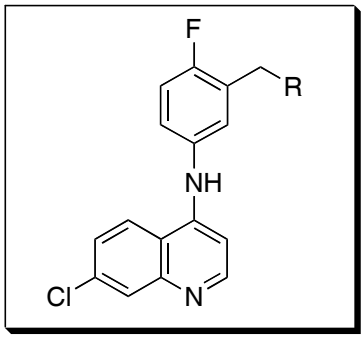
ب) کشت انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم: انگل مالاریا (انگل‌ها از پروفـسور اسـتیو وارد از بخـش انگـل‌شناسـی دانـشکده‌ی بیماری‌های گرمسیری لیورپول دریافت شد) بـر اسـاس روش اصـلاح شـده Trager و Jensen بـرای کـشت انگـل پلاسمودیوم فالسیپاروم در گلبولهای قرمـز انـسان کـشت داده شد (۴). بر اساس این روش پلاسمودیوم فالسیپاروم در محیط کشت مداوم که حاوی گلبول‌های قرمز گروه خونی O انـسان در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ بـه‌اضـافه‌ی ۱۰ درصـد سـرم گروه خونی AB انسانی و با استفاده از گاز ترکیبـی ۳ درصـد دی اکسید کربن،۶ درصد اکسیژن و ۹۱ درصد نیتـروژن بـود، در ۳۷ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد نگهـداری شـد. انگـل‌هـای پلاسمودیوم فالسیپاروم شروع به تولیـد مثـل غیرجنـسی طـی ۴۸ ساعت پس از کشت دادن کردند، اما مدت کوتاهی پس از این تولید مثل اولیه شروع به تولید مرحلـه‌هـای یکـسان مثـل شیزونت نمودند (۱۵). برای ایجاد فـرم‌هـای مرحلـه‌ی رینـگ (Synchronization) از ۵ درصد سوربیتول استفاده گردید.

کلیه‌ی مراحل انجام کار درزیر هودهای Laminar Flow انجام شده، همه وسایل و تجهیزات مورد استفاده استریل شده، و محیط‌های کشت با استفاده از فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتر قبل از استفاده استریل شدند. معمولاً ۰/۵ میلی‌لیتر RBC برای یک فلاسک کشت ۲۵ سانتی‌متر مربع و یا ۱/۵ میلی‌لیتر برای فلاسک‌های ۸۰ سانتی‌متر مربع استفاده گردید. فلاسک‌ها در یک حالت ایستا به‌گونه‌ای نگهداری می‌گردید تا یک لایه سلول در سطح تحتانی آن تشکیل شود و هر روز محیط کشت آنان عوض می‌شد. محیط‌ها به مدت ۶۰ ثانیه هوادهی شده، هر ۳ الی ۴ روز یک‌بار با استفاده از RBC تازه، رقیق می‌گردید. برای چک کردن پارازیتمی هر روز گسترش خونی تهیه و پارازیتمی ثبت می‌گردید.

ج) آزمایش فعالیت آنالوگ‌های جدید ۴ کلرو آمودیاکین علیه انگل: غلظت اولیه دارو به صورت ۱۰۰ درصد با DMSO (Dimethylsulphoxide) آماده گردید و غلظت‌های مناسب برای تست با استفاده از محیط کشت کامل فراهم گردید. آزمایش با استفاده از ۱۰ میکرو لیتر دارو برای هر خانه، در پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای که هر خانه حاوی ۲۰۰ میکرو لیتر از محیط حاوی انگل با پارازیتمی ۲ درصد و هماتوکریت ۰/۵ درصد بود، در مقایسه با گروه کنترل که حاوی رشد کامل انگل بدون حضور دارو بود، انجام گردید. هر رقت دارو در سه خانه تکرار شد (Triplicate). بعد از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد ۰/۵ میکرو لیتر از Ci Hypoxanthine به محیط کشت هر کدام از چاهک‌ها اضافه می‌گردید. محیط‌های کشت به انکوباتور منتقل و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، به روی فیلترهای مخصوص منتقل و به مدت یک ساعت در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک شدند. شمارش انگل‌های دارای هیپوگزانتین با استفاده از دستگاه Wallac 1450 Microbeta Trilux Liquid Scintillation and Luminescence Counter، صورت گرفت. این دستگاه گلبول‌های قرمز پلیت‌های انگل‌دار حاوی هیپوگزانتین را به‌صورت لومینسانس شمارش کرده، حداقل غلظت دارویی که موجب کاهش ۵۰ درصد رشد انگل در گلبول‌های قرمز، نسبت به گروه شاهد با شرایط مساوی ولی بدون دارو، شده باشد به عنوان IC50 در نظر می‌گیرد.

یافته‌ها

در یک فرآیند چهار مرحله‌ای، ۱۰ آنالوگ مختلف فلوروآمودیاکین با موفقیت و در مقیاس‌های مناسبی ساخته شد که به صورت In vitro علیه سویه‌های مقاوم و حساس به کلروکین پلاسمودیوم فالسیپاروم اثرات امیدوار کننده‌ای نشان دادند.



شکل ۲- آمودیاکین

فعالیت ضد مالاریایی آنالوگ‌های آمودیاکین علیه ایزوله‌های 3D7 و TM6 پلاسمودیوم فایسپاروم که به ترتیب حساس و مقاوم به کلروکین می‌باشند، در محیط کشت مالاریا مورد آنالیز قرار گرفت (جدول ۱). همان‌گونه که از داده‌ها بر می‌آید ابتدا آنالوگ‌ها بر روی سویه‌های حساس (3D7) آزمایش شد و بعد بر اساس فرآیند تهیه و مزایای متابولیکی مربوط به گروه‌های موثر پیرولیدین و انترتیل بوتیل ترکیبات فوق، تنها دو آنالوگ 6h و 6b برای بررسی بیشتر اثرات ضد انگلی بر روی سویه‌های مقاوم انتخاب گردید که اثرات آن‌ها را در جداول ۱ و۲ می‌توان یافت. آنالوگ‌های متعددی ساخته شد و از بین آن‌ها بعضی قدرت ضد مالاریایی بیشتری علیه

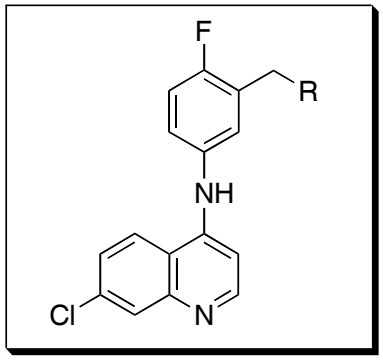
هـر دو ایزولـه حـساس و مقـاوم داشـتند در صـورتی کـه بعضی فقط قدرت ضد مالاریایی متوسطی علیـه پلاسـمودیوم فالیـساروم نـشان دادنـد. آنـالوگ‌هـای‌هـای مختلـف داروی ۴-فلورو آمودیاکین علیـه سـویه‌ی حـساس 3D7 مـوثر بـوده است. اگر چه هیچ‌کدام موثرتر از خود آمودیاکین نبـوده اسـت ولی به دلیل سمیت داروی اخیر آنالوگ‌هـای جدیـد آن مـورد آزمایش قرار گرفته‌اند. همان گونه که در جدول ۲ آمده است. بهترین آنالوگ‌هـا علیـه ۱۰ سـویه‌ی پلاسـمودیوم فالـسیپاروم انتخاب و آزمایش ضد انگلی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفـت، از جمله TM6 که بهترین پاسخ از جانب آنالوگ 6h بـه ایـن سویه داده شد.

جدول ۱: اثرات آنالوگ‌های مختلف داروی جدید ۴ فلوروآمودیاکین بر روی سویه‌ی حساس به کلروکین ایزوله 3D7 پلاسمودیوم فالسیپاروم

شماره‌ی ترکیب	زنجیر جانبی	IC_{50} (nM) 3D7[a]	IC_{50} (nM) TM6[b]
۶a	R = NEt_2	۲۵/۲±۶/۲	
۶b	R = N-pyrrollidinyl	۲۱/۹± ۷/۲	۶۰/۸۸
۶c	R= N-piperidinyl	۲۰/۲ ±۱۱/۲	–
۶d	R = NPr_2	۵۳/۴ ± ۱۳/۴	–
۶e	R = NBu_2	۵۸/۶± ۹/۸	–
۶f	R = N-morpholino	۴۰۰/۵ ± ۲۵/۹	–
۶g	R= N-methyl piperazinyl	۲۳/۹ ± ۸/۹	–
۶h	N-tert butyl	۱۵/۹ ±۵/۳	۲۹/۹۷
کلروکین		۱۲/۲ ± ۱۲/۱	۲۱۲/۰۱
آمودیاکین		۵/۸± ۳/۳	۶/۹۱

[a] 3D7 یک سویه‌ی پلاسمودیوم فالسیپاروم حساس به کلروکین می‌باشد.

[b] TM6 یک سویه‌ی پلاسمودیوم فالسیپاروم مقاوم به کلروکین است.



6b R = *N*-pyrollidinyl

6h *R = N-tert* - butyl

شکل ۳: آمودیاکین و زنجیرهای جانبی برای آنالوگ‌های F۶ و B۶.

جدول ۲: فعالیت ضد مالاریایی داروهای جدید 6h و 6b از ترکیبات ۴-فلورو آمودیاکین در مقایسه با کلروکین و آمودیاکین علیه ایزوله‌های مختلف حساس و مقاوم به کلروکین پلاسمودیوم فالسیپاروم

	TM6 (نانو مولار)	K1 (نانو مولار)	HB3 (نانو مولار)	3D7 (نانو مولار)	PH3 (نانو مولار)	TM4 (نانو مولار)	DD2 (نانو مولار)	V1S (نانو مولار)	7G8 (نانو مولار)	J164 (نانو مولار)
AQ	۶/۹۱	۲۰/۹	۸/۴۸	۴/۳۹	۱۵/۲۱	۱۵/۱۴	۹/۵۵	۸/۹۱	۸/۵۹	۱۸/۵۰
CQ	۲۱۲/۰۱	۱۷۰/۶۹	۱۶/۰۶	۱۰/۷۶	۳۰/۸۶	۱۱۲/۸۳	۵۹/۳۹	۱۵۴/۰۷	۵۷/۰۳	۱۳۳/۵۶
6h	۲۹/۹۷	۳۲/۱۵	۱۷/۶۸	۱۲/۲۶	۲۵/۸۵	۲۷/۳۸	۲۹/۷۱	۳۶/۰۱	۳۲/۳۷۷	۳۹/۲۴
6b	۶۰/۸۸	۴۵/۹۳	۶۳/۷۵	۳۹/۷۷	۲۵/۰۴	۴۶/۹۶	۳۶/۹۸	۵۲/۵۳	۵۷/۴۷	۴۴/۵۳

TM6, K1, TM4, V1S, J164 ایزوله های AQ= آمودیاکین CQ , کلروکین مقاوم به کلروکین و مابقی حساس به کلروکین می باشند.
اعداد داخل جدول غلظت دارو در مقیاس نانو مولار می‌باشد.

بحث

با توجه به مقاومت‌های اخیر علیه کلروکین و نیز سمیت ایجاد شده با مصرف آمودیاکین، مطالعه‌ی حاضر بر آن شده است تا با جایگزینی گروه ۴ هیدروکسیل با فلورین ترکیباتی موثر ایجاد نماید تا علیه سویه‌های مقاوم مورد آزمایش قرار گیرد و در این راستا ترکیب 6h به‌عنوان ترکیبی قوی‌تر، اگر چه معادل یا کمی کمتر از کلروکین و آمودیاکین، از دیگر کاندیداها شناخته شد. در مطالعات انجام شده توسط دیگران آنالوگ موفولینو (6f) بهترین فعالیت ضد مالاریایی را در بین آنالوگ‌های ساخته شده نشان داده بود (۳)، در حالی‌که در مطالعه‌ی حاضر، همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود، آنالوگی که در آن N-Tert-Butyl به‌عنوان زنجیره‌ی جانبی بود (6h) بهترین و موثرترین آنالوگ علیه همه‌ی ایزوله‌های پلاسمودیوم واکنش نشان داد. آنالوگ 6b نیز علیه سویه‌های مقاوم کلروکین قدرت فوق العاده‌ای نشان داد اگر چه این فعالیت به اندازه‌ی فعالیت ضد مالاریایی آمودیاکین علیه هر دو سوش مقاوم و حساس انگل پلاسمودیوم نبوده است. اونیل و همکاران در مطالعه‌ی مشابهی ترکیبات جدیدی از آمودیاکین تولید کردند که در این ترکیبات گروه 4OH با یک اتم کلرین جایگزین گردید و اثرات این دارو علیه سویه‌های مقاوم به کلروکین در حد آمودیاکین بود (۱۹و۱۰). آنالوگ‌های ایزومریک آمودیاکین که با جانشینی 3-OH و زنجیره‌ی جانبی Mannich آمودیاکین توسط اونیل و همکاران ساخته شد به طور قابل توجهی اثرات ضد مالاریایی بر روی هر دو سویه‌ی پلاسمودیوم حساس و مقاوم به کلروکین نشان دادند (۳). در مطالعه‌ی دیگری که بر اساس نتایج مطالعه حاضر طراحی و اجرا گردید سه جایگزینی در هیدروکسیل ۴ با اتمهای کلرین، فلورین و هیدروژن صورت گرفت که آنالوگ‌هایی به عنوان کاندیدای مطالعات بیشتر به دلیل اثرات خوب ضد مالاریایی آن‌ها از بین سری ساخته شده انتخاب شد و یکی از آن‌ها جانشین با اتم فلورین بود (۲۰).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر بر خلاف سایر مطالعات گروه‌های فلورین را جایگزین هیدروکسیل کرده که اثرات اکسید کنندگی و سمیت‌زایی آمودیاکین را کاهش داده‌اند در عین حالی که قدرت ضد مالاریایی آنالوگ‌های مورد بحث با آمودیاکین برابری می‌کند. یکی از مشکلات ۴ آمینوکینولین‌ها داشتن واکنش مقاومتی متقاطع با کلروکین علیه سویه‌های مقاوم به کلروکین پلاسمودیوم فاسیپاروم است که خوشبختانه

بیشتر این آنالوگ‌ها چنین مقاومتی را در مقیاس‌های بسیار ناچیزی نشان دادند. اگر چه چنین نتایجی امیدوار کننده است ولی مطالعات بیشتری لازم است تا اثرات ضد مالاریایی این آنالوگ‌ها علیه ایزوله‌های بیشتری از انگل آزمایش گردد.

تقدیر و تشکر

از پروفسور اونیل رییس بخش شیمی پزشکی دانشگاه لیورپول به خاطر کمک در ساخت دارو، پل استاک مسئول آزمایشگاه بخش شیمی پزشکی دانشگاه لیورپول به خاطر کمک در کارهای مربوط به آزمایشگاه و پروفسور استیو وارد در بخش تحقیقات مالاریا از دانشگاه لیورپول و همکاران ایشان به خاطر کمک در کشت انگل مالاریا تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Foote SJ, Cowman AF. The mode of action and the mechanism of resistance to antimalarial drugs. *Acta Trop*. 1994; 56: 157-71.

2- Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol Ther*. 1998; 79: 55-87.

3- O'Neill PM, Mukhtar A, Stocks PA, et al. Isoquine and related amodiaquine analogues: A new generation of improved 4-aminoquinoline antimalarials. *J Med Chem*. 2003; 46: 4933-45.

4- Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 1976; 193: 673-5.

5- Hawley SR, Bray PG, Oneill PM, Naisbitt DJ, Park BK, Ward SA. Manipulation of the n-alkyl substituent in amodiaquine to overcome the verapamil-sensitive chloroquine resistance component. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1996: 40: 2345-9.

6- Neftel KA, Woodtly W, Schmid M, Frick PG, Fehr J, Amodiaquine induced agranulocytosis and liver damage. *Br Med J*. 1986; 292: 721-3.

7- Lind DE, Levi JA, Vincent PC. Amodiaquine-induced agranulocytosis: Toxic effect of amodiaquine in bone marrow cultures in vitro. *Br Med J*. 1973; 1: 458-60.

8- Vermeulen NP, Bessems JG, Van de Straat R. Molecular Aspects of Paracetamol-induced hepatotoxicity and its mechanism-based prevention. *Drug Metab Rev*. 1992; 24: 367-407.

9- Jewell H, Ruscoe JE, Maggs JL, et al. The effect of chemical substitution on the metabolic activation, metabolic detoxication, and pharmacological activity of amodiaquine in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995; 273: 393-404.

10- O'Neill PM, Harrison AC, Storr RC, Hawley SR, Ward SA, Park BK. The Effect of fluorine substitution on the metabolism and antimalarial activity of amodiaquine. *J Med Chem*. 1994; 37: 1362-70.

11- Harrison AC, Kitteringham NR, Clarke JB, Park BK. The mechanism of bioactivation and antigen formation of amodiaquine in the rat. *Biochem Pharmacol*. 1992; 43: 1421-30.

12- Barnard S, Kelly DF, Storr RC, Park BK. The effect of fluorine substitution on the hepatotoxicity and metabolism of paracetamol in the mouse. *Biochem Pharmacol.* 1993; 46: 841-9.

13- Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated technique. *Antimicrob Agents Chemother.* 1979; 16: 710-8.

14- O'Neill PM, Bray PG, Hawley SR, Ward SA, Park BK. Aminoquinolines- past, present, and future: a chemical perspective. *Pharmaco Therap.* 1998; 77: 29-58.

15- Lambros C, Vanderberg JP. Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *J Parasitol.* 1979; 65: 418-420.

16- Sanchez CP, Stein W, Lanzer M. Trans Stimulation provides evidence for a drug efflux carrier as the mechanism of chloroquine resistance in plasmodium falciparum. *Biochem.* 2003; 42: 9383-94.

17- Ursos LMB, Roepe PD. Chloroquine resistance in the malarial parasite, plasmodium falciparum. *Med Rese Reviews.* 2002; 22: 465-91.

18- Singh C, Malik H, Puri SK. Synthesis and antimalarial activity of a new series of trioxaquines. *Bio Med Chem.* 2004; 12: 1177-82.

19- Asadollahy E. Synthesisis and biological assessment of an array of novel dehydroxy analogues of amodiaquine, in medicinal chemistry. [dissertation]. Liverpool: University of Liverpool; 2005.

20- O'Neill P, Shone AE, et al. Synthesis, antimalarial activity, and preclinical pharmacology of a novel series of 4'-fluoro and 4'-chloro analogues of amodiaquine. Identification of a suitable "back-up" compound for N-tert-butyl isoquine. *J Med Chem.* 2009: 52: 1828-44.

Synthesis And Evaluation of 4-Fleuroamodiaquine, A Novel Antimalarial Drug Against Sensitive and Resistant Strains of Plasmodium Falciparum

Asdollahy E[1], Khosravi A[2], O'Neil P[3]

[1]Dept. of Biochemistry, Faulty of Medicine, Ilam University of Medical Science, Ilam, Iran.

[2]Dept. of Immunology, Faulty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.

[3]Dept. of Parasitology, University of Liverpool, Liverpool, England.

***Corresponding Author*:** Khosravi A, Dept. of Immunology, Faulty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran.

E-mail: afrakhosravi@yahoo.co.uk

Received: 20 Apr 2009 **Accepted:** 3 Jan 2010

Background and Objective: Resistance to chloroquine (CQ) in *Plasmodium falciparum* malaria has become a major health concern in the developing countries. This problem has prompted investigators for finding alternative antimalarials that may be effective against resistant strains. Amodiaquine (AQ) is an antimalarial which is effective against many chloroquine-resistant strains of *P. falciparum*. However, clinical use of AQ has severely been restricted because of its hepatotoxicity and agranulocytosis side effects. The aim of this study was to design and examine the effects of new analogues of amodiaquine.

Materials and Methods: A successful four-step synthesis of a new series of 4-fluoro analogues was designed and applied to the synthesis of an array of 10 analogues. Antimalarial activity of these agents was assessed against chloroquine-resistant (TM6) and sensitive strains (3D7) of *P. falciparum.*

Results: Several analogues have shown potent antimalarial activity against sensitive 3D7 strain of the parasite. The 6h analogue was superior to the pyrollidino analogue 6b against all of the strains examined. The *N-tert* butyl analogue 6b was potent against chloroquine resistant strains, though it was not quite as active as amodiaquine (AQ) against both chloroquine sensitive and resistant parasites.

Conclusion: From the different analogues made, it was shown that the analogue 6h was more potent than the others. However, this analogue has equal or slightly less potent than amodiaquine and chloroquine against *P. falciparum*. Further studies on the metabolism and pharmacokinetics of 6h are recommended.

Key words: Chloroquine, Amodiaquine, Analogues, Plasmodium falciparum, Antimalarial activity