

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 081833 9

Année 1997

Thèse n° 309,1

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE



présentée et soutenue publiquement
le 7 Avril 1997

par

Nathalie ECHEGUT

née le 28 décembre 1972

**ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DU PLATINE
DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU MOUTON
A *Trypanosoma brucei brucei* TRAITE PAR LE SELENIOCYANATE DE CIS-Pt
PENTAMIDINE**

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Madame BOSGIRAUD, Professeur Président
Monsieur BOUTEILLE, Maître de Conférences-Praticien Hospitalier Juge
Monsieur LOISEAU, Maître de Conférences Juge
Monsieur COUQUET, Docteur Vétérinaire Juge
Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **GHESTEM**

- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur **HABRIOUX**
Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences

Personnel enseignant :

* PROFESSEURS DES UNIVERSITES

| | |
|-----------------------------|--|
| BENEYTOUT Jean-Louis | Biochimie |
| BERNARD Michel | Physique-Biophysique |
| BOSGIRAUD Claudine | Microbiologie |
| BROSSARD Claude | Pharmacotechnie |
| BUXERAUD Jacques | Chimie Organique, Chimie Thérapeutique |
| CARDOT Philippe | Chimie Analytique et Bromatologie |
| CHULIA Albert | Pharmacognosie |
| CHULIA Dominique | Pharmacotechnie |
| DELAGE Christiane | Chimie Générale et Minérale |
| GHESTEM Axel | Botanique et Cryptogamie |
| HABRIOUX Gérard | Biochimie |
| LACHATRE Gérard | Toxicologie |
| MOESCH Christian | Hygiène et Santé Publique |
| LOUDART Nicole | Pharmacodynamie |

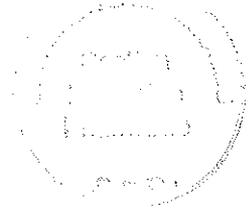
Professeur émérite :

PENICAUT Bernard Chimie Analytique et Bromatologie

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE, CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A notre Président de Thèse



Madame le Professeur C. BOSGIRAUD,
Service de Bactériologie-Virologie-Parasitologie,

*Nous vous remercions pour l'honneur
que vous nous avez fait en acceptant
de présider ce jury de soutenance.*

*Nous vous remercions pour l'aide
que vous nous avez apportée
dans la réalisation de nos travaux.*

*Veuillez accepter ici l'expression
de notre profonde et respectueuse
reconnaissance.*

A notre Directeur de Thèse

Monsieur le Docteur G. DREYFUSS,
Maître de Conférences,
Habilité à diriger des recherches,
Service de Bactériologie-Virologie-Parasitologie,

*Vous nous avez fait l'honneur
de diriger ce travail.*

*Nous vous remercions sincèrement
pour votre accueil, votre aide
et vos conseils tout au long
de ce travail.*

A nos Juges

Monsieur le Docteur Philippe LOISEAU,
Maître de Conférences,

Laboratoire de Biologie des Organismes Parasites,
Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, Université de Paris XI.

Monsieur le Docteur Bernard BOUTEILLE,
Maître de Conférences, Praticien Hospitalier,

Faculté de Médecine de Limoges.

Monsieur le Docteur- Vétérinaire COUQUET,

Directeur du Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherches
de la Haute-Vienne.

*Nous vous sommes très reconnaissante
d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous vous remercions pour votre
participation à ce Jury.*

Nous adressons nos remerciements les plus vifs :

- à M. le Professeur D. G. CRACIUNESCU, de la Faculté de Pharmacie de Madrid (Espagne),

pour la fourniture du composé organo-métallique sur lequel nous avons travaillé, et pour les données chimiques et toxicologiques le concernant,

- à M. le Professeur J. A. NICOLAS, Professeur émérite de l'Université de Limoges, *pour l'accueil bienveillant qu'il a réservé dans sa propriété à nos animaux d'expérience, et pour leur entretien quotidien,*

- à Monsieur CARASSUS et à Madame BOURGNEUF, du Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherches de la Haute-Vienne,

pour leur accueil et leur aide précieuse dans la réalisation des dosages chimiques,

- à Madame MOUZET, du Service de Bactériologie-Virologie-Parasitologie, Faculté de Pharmacie de Limoges,

pour son aide matérielle importante dans la réalisation des prélèvements sanguins et des extractions analytiques.

- à Messieurs VIGNOLES, Maître de Conférences d'Informatique, Faculté de Pharmacie de Limoges, et AUGOT, doctorant,

pour leur contribution à l'utilisation efficace du matériel informatique.

A tous, nous exprimons notre gratitude.

A mes parents

A mes grands-parents

Avec toute mon affection

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 3 |
| CHAPITRE PREMIER : RAPPELS SUR LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES ET LEUR TRAITEMENT | 5 |
| 1. LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES HUMAINES ET ANIMALES. | |
| 1.1. <i>Les espèces responsables.</i> | 6 |
| 1.2. <i>Importance médicale, économique et sociale de la maladie.</i> | 8 |
| 1.3. <i>Les problèmes du contrôle de la maladie.</i> | 10 |
| 1.4. <i>Thérapeutique trypanocide.</i> | 13 |
| 2. TRAITEMENT TRYPANOCIDE. | 17 |
| 2.1. <i>Médicaments actifs en phase lymphatico-sanguine.</i> | 17 |
| 2.2. <i>Médicaments actifs en phase méningo-encéphalique.</i> | 19 |
| 2.3. <i>Médicaments en expérimentation en laboratoire.</i> | 21 |
| 2.4. <i>Les composés en développement.</i> | 25 |
| CHAPITRE DEUXIEME : MATERIELS ET METHODES | 26 |
| 1. MATERIELS. | 27 |
| 1.1. <i>Matériel chimique.</i> | 27 |
| 1.2. <i>Matériel biologique.</i> | 29 |
| 1.3. <i>Autre matériel.</i> | 31 |
| 2. PROTOCOLE. | 31 |
| 2.1. <i>Infestation des moutons.</i> | 31 |
| 2.2. <i>Traitement.</i> | 32 |
| 2.3. <i>Surveillance des moutons.</i> | 33 |
| CHAPITRE TROISIEME : RESULTATS | 37 |
| 1. ACTIVITE TRYPANOCIDE. | 38 |
| 2. PHARMACOCINETIQUE SERIQUE. | 38 |
| 2.1. <i>Valeurs expérimentales.</i> | 40 |
| 2.2. <i>Courbes expérimentales de cinétique sérique du platine.</i> | 42 |
| CHAPITRE QUATRIEME : DISCUSSION | 43 |
| 1. JUSTIFICATION DES PROTOCOLE ET METHODES. | 44 |
| 1.1. <i>Préparation du médicament trypanocide.</i> | 44 |
| 1.2. <i>Posologies.</i> | 45 |
| 2. ACTIVITE TRYPANOCIDE. | 45 |
| 3. CINETIQUE SERIQUE DU PLATINE. | 47 |
| 3.1. <i>Commentaires sur les courbes expérimentales.</i> | 47 |

| | | |
|----------------------|---|----|
| 3.2. | <i>Pharmacocinétique de la pentamidine.</i> | 47 |
| 3.3. | <i>Pharmacocinétique du cis-platine.</i> | 49 |
| 3.4. | <i>Comparaison avec la cinétique du platine après injection de l'iodure de cis-platine pentamidine.</i> | 49 |
| 3.5. | <i>Comparaison avec la cinétique du platine après injection de chlorure de cis-platine pentamidine.</i> | 51 |
| 3.6. | <i>Comparaison avec la cinétique du thiocyanate de cis-platine pentamidine.</i> | 52 |
| CONCLUSION | | 55 |
| BIBLIOGRAPHIE | | 57 |

INTRODUCTION

Les trypanosomoses africaines, plus connues sous le nom de "Maladie du sommeil" sont des parasitoses déterminées par des protozoaires flagellés extracellulaires : les trypanosomes.

Le cycle de développement du trypanosome s'accomplit chez un hôte vertébré d'une part, et chez des Diptères du genre *Glossina*, appelés communément mouches Tsé-tsé d'autre part. Après l'inoculation du parasite chez l'hôte définitif, on observe deux phases, une phase précoce lymphatico-sanguine suivie d'une phase méningo-encéphalique.

Malgré de nombreux travaux de synthèse organique, le choix de médicaments trypanocides est limité surtout pour la phase méningo-encéphalique. Des résistances aux traitements existants sont apparues et l'élaboration d'un vaccin semble impossible du fait des antigènes de surface variables qui permettent aux trypanosomes d'éluder la réponse immune (Wéry, 1995).

Dans l'objectif d'améliorer les ressources thérapeutiques de ces maladies, nous nous sommes proposé d'étudier l'activité trypanocide et la cinétique sérique chez le mouton d'un complexe organo-métallique original de la pentamidine : le séléniocyanate de cis-Pt(II) pentamidine qui a déjà fait l'objet d'une étude préliminaire chez la souris.

Notre mémoire comporte six parties.

Après une introduction rappelant l'importance de la maladie, nous ferons un rappel sur les

thérapeutiques trypanocides dans le premier chapitre. Puis, dans le deuxième chapitre, nous décrirons les matériels et les méthodes utilisés, et le protocole suivi. Nous présenterons nos résultats dans le chapitre troisième, et enfin, dans le quatrième, nous les comparerons aux données de la littérature. Nous terminerons ce mémoire par une conclusion générale et un inventaire bibliographique.

CHAPITRE PREMIER

**RAPPELS SUR LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES
ET LEUR TRAITEMENT**

Alors que la trypanosomose africaine était devenue relativement rare vers 1960, cette affection est actuellement en recrudescence et constitue un véritable problème de santé publique. Ses conséquences médicales, économiques et sociales sont très graves. C'est une affection létale en l'absence de traitement.

Ce chapitre comprend deux parties : la première est consacrée à une présentation des trypanosomoses et de leur contrôle ; la deuxième dresse un inventaire simplifié de l'arsenal thérapeutique disponible et des médicaments en développement.

1. LES TRYPANOSOMOSES AFRICAINES HUMAINES ET ANIMALES.

Les paragraphes successifs de cette partie abordent une description des parasites responsables, l'importance des maladies, leur contrôle et les principaux moyens thérapeutiques.

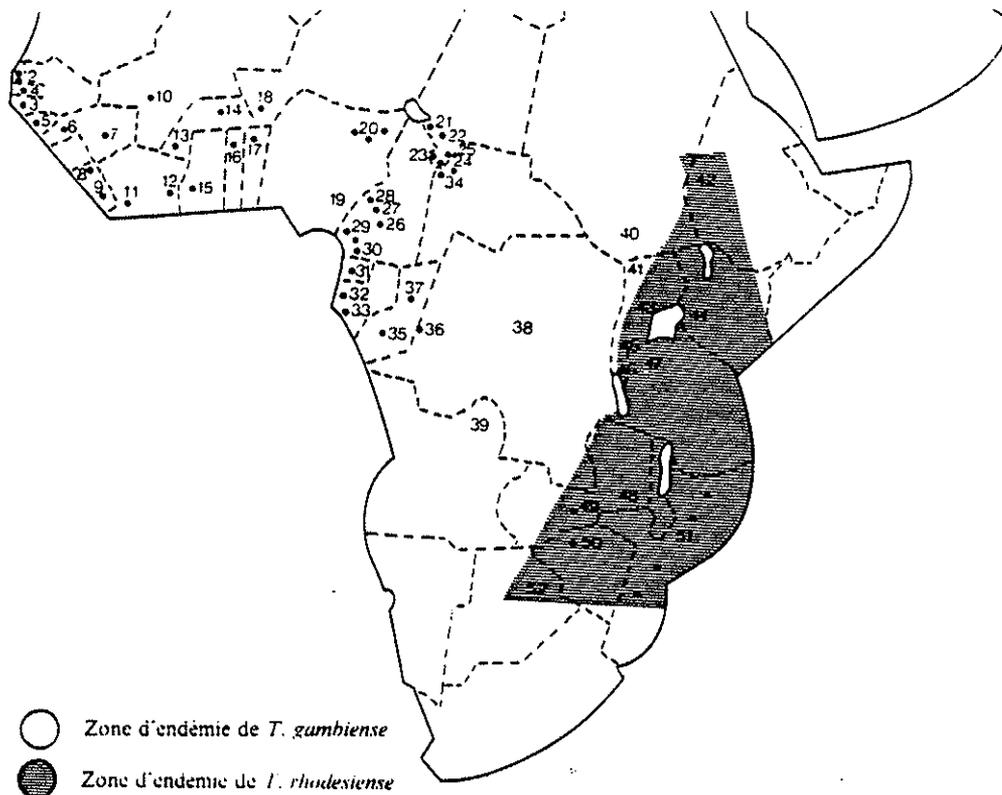
1.1. Les espèces responsables.

1.1.1. Les trypanosomoses humaines.

La trypanosomose humaine africaine ou maladie du sommeil ne se rencontre que du 15^{ème} degré de latitude Nord au 15^{ème} degré de latitude Sud (Figure n°1, page suivante).

Les deux sous-espèces responsables de la maladie chez l'homme sont :

- *Trypanosoma brucei gambiense*, responsable d'une maladie essentiellement anthroponotique, bien qu'il existe quelques réservoirs animaux comme le porc sauvage. Il sévit en Afrique centrale et



- Répartition géographique des foyers de trypanosomioses africaines en activité ou éteints. En Afrique occidentale, la situation est relativement contrôlée. Certains foyers, M' Bour, Sangalkam, au Sénégal (foyers de la Somone), sont éteints; de même Say, au Niger. Mais des mesures énergiques doivent être maintenues ou reprises pour endiguer toute recrudescence au niveau de ces foyers qui risquent de s'enflammer à nouveau. On ne dispose d'aucun renseignement pour la Guinée et la Guinée-Bissau. La tendance générale est à la décroissance, mais « l'éradication de la maladie du sommeil dépasse les possibilités actuelles des médecins dits de secteurs, pour des raisons techniques (nécessite d'un matériel sophistiqué, onéreux et fragile), sociales (motivation insuffisante de la population), politico-économiques (déplacements importants de main-d'œuvre), politico-économiques (déplacements importants de main-d'œuvre mal surveillée au plan sanitaire) » (P. Lozac'Hmeur, OCCGE).

- | | | | |
|---|--------------------------------|---|------------|
| 1. foyer de M'bour | } Sénégal | 26. foyer de Bafia | } Cameroun |
| 2. foyer de Sangalkam | | 27. foyer de Dschang | |
| 3. foyer de la Casamance | | 28. foyer de Fontem (Manfe) | |
| 4. foyers de Gambie | | 29. foyer de Douala | } Gabon |
| 5. foyers de Guinée Bissau | | 30. foyer de Kribi | |
| 6-7. foyers de Guinée | | 31. foyer de Guinée équatoriale | |
| 8. foyers de Nord-Est | } du Libéria | 32. foyer de l'estuaire (Libreville) | } Gabon |
| 9. foyers de la province centrale | | 33. foyer de Port Gentil | |
| 10. foyer de Bamako (Mali) | | 34. foyer de R.C.A. | |
| 11. foyer de Daloa-Bouaflé | } Côte d'Ivoire | 35. foyer de Jacob | } Congo |
| 12. foyer d'Abengourou | | 36. foyer du Couloir | |
| 13. foyer de Tagouara (district d'Orodara) | } Burkina-Faso | 37. foyer de Gambona | |
| 14. foyer de Mane-Korsimoro (district de Kaya) | | 38. foyers du Zaïre nombreux et importants mais mal délimités | |
| 15. foyers du Ghana | | 39. foyer de l'Angola (près de la frontière avec le Zaïre) | |
| 16. foyers du Nord Togo (Nagbeni, Galangachi, Bidjenba) | | 40. foyer du Soudan (Sud) | |
| 17. foyers du Nord-Bénin (Bénin) | | 41. foyer de l'Ouganda (Nord) | |
| 18. foyer de Say (Niger) | | 42. foyer de Gambela (Ethiopie) | |
| 19. foyer du Biafra | } Nigeria | 43. foyer de l'Ouganda (Sud-Est) | |
| 20. foyer de Jos | | 44. foyer du Kenya (Ouest) | |
| 21. foyer de Dressa | | 45. foyer du Ruanda (Est) | |
| 22. foyer de Bahr-Erguig | } Tchad | 46. foyer du Burundi (Est) | |
| 23. foyer de Deli | | 47. foyers de Tanzanie (Nord-Ouest) | |
| 24. foyer de Timberi, Bekan et Goré | | 48. foyer vallée de la Luapua | } Zambie |
| 25. foyer de Bekamba et Dobadene | 49. foyer vallée de la Luangwa | | |
| | | 50. foyer du Lac Kariba (Zimbabwe) | |
| | | 51. foyers dispersés du Mozambique | |
| | | 52. foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana) | |

Figure n°1

Répartition géographique des trypanosomoses humaines africaines.

(Gentilini et Duflo, 1986).

occidentale, depuis le Sénégal au nord-ouest et le Soudan au nord-est jusqu'au Zaïre et l'Angola au sud. Il évolue sur un mode chronique.

- *Trypanosoma brucei rhodesiense* sous-espèce zoonotique qui touche tous les grands mammifères herbivores de l'Afrique orientale depuis le Botswana jusqu' à l'Éthiopie en évoluant sur un mode aigu.

1.1.2. Les trypanosomoses animales.

Quant aux animaux, pratiquement tous les mammifères sont atteints par différentes sous-espèces (Euzéby 1986).

Les espèces les plus importantes, dans la pathologie des bovins en Afrique, sont *T. congolense* et *T. vivax*, qui n'infectent pas l'homme. S'ils ne sont pas traités, les animaux malades meurent en trois à quatre semaines ou, plus fréquemment, développent une maladie chronique avec fièvre intermittente, anémie et amaigrissement progressif.

T. b. brucei est l'agent d'une maladie aiguë sévissant chez le cheval, le chien et les camélidés. Elle entraîne anémie, œdèmes et amaigrissement.

Une autre trypanosomose, sévissant entre autres en Afrique, est déterminée par *T. evansi*, transmis par des tabanidés. Cette espèce est tout particulièrement pathogène pour les camélidés, le cheval et le chien (Acha et Szyfres 1989).

1.2. **Importance médicale, économique et sociale de la maladie.**

1.2.1. Les trypanosomoses humaines.

Les trypanosomoses humaines africaines sont répandues dans trente-six pays subsahariens, et 50 millions de personnes courent le risque de contracter la maladie. Le nombre de nouveaux cas enregistrés chaque année est de l'ordre de 25 000 mais ce nombre est largement sous-estimé (Wéry 1995).

Le pronostic médical des trypanosomoses humaines est toujours très grave : que l'évolution soit aiguë ou chronique, elles n'ont aucune tendance à la guérison spontanée car, du fait de la variabilité antigénique, les trypanosomes échappent aux défenses de l'organisme, et elles aboutissent inexorablement à la mort.

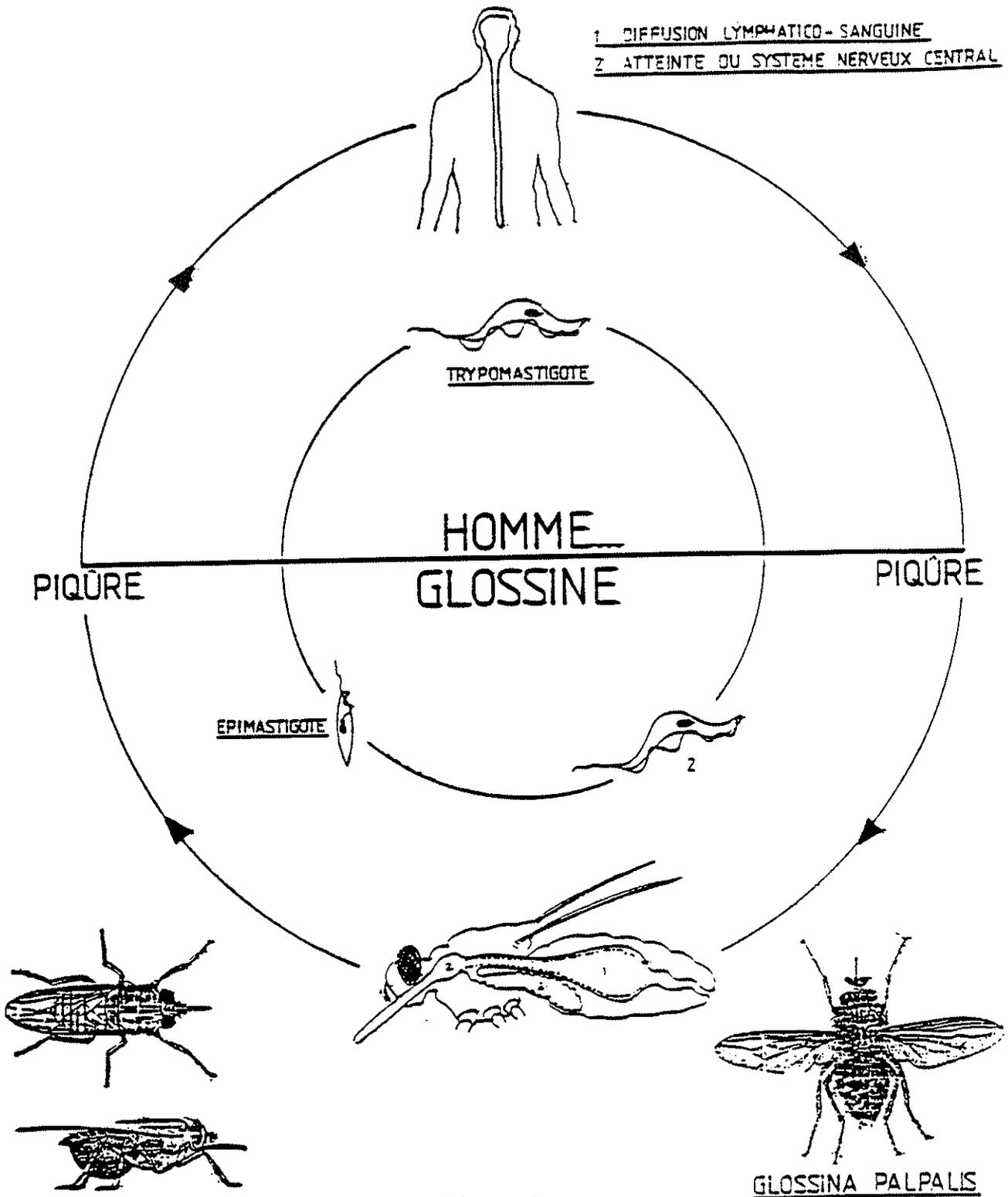


Figure n°2.
Cycle de développement des trypanosomes africains.
(Enseignement de Parasitologie ; Faculté de Pharmacie de Limoges.)

Ce pronostic est encore aggravé par la coexistence fréquente de maladies intercurrentes et d'un état de malnutrition .

1.2.2. Les trypanosomoses animales.

Les incidences économiques de ces maladies sont dramatiques : avortements, diminution, voire tarissement de la sécrétion lactée, manque de force au travail, sous-pâturage en régions infectées (ce qui entraîne la désertification de certaines zones) et sur-pâturage en aires exemptes de glossines d'où une dégradation des sols (Euzéby 1986).

La diminution de la production de viande entraîne l'aggravation de la carence protéique (Wéry 1995).

1.3. Les problèmes du contrôle de la maladie.

En matière de contrôle, on peut la fois mener une lutte antivectorielle et dépister puis traiter les hôtes définitifs.

1.3.1. La lutte anti-vectorielle.

Plusieurs espèces de glossines ou mouches tsé-tsé jouent le rôle de vecteurs. Certaines vivent dans des galeries forestières et les forêts (*Glossina tachinoides*, *Glossina palpalis*, *Glossina fuscipes*, vecteurs principaux de *T. b. gambiense*); d'autres vivent dans les savanes boisées (*Glossina morsitans*, *Glossina pallidipes*, *Glossina swynnertoni*, vecteurs de *T. b. rhodesiense*).

La glossine se contamine lors d'un repas sanguin en piquant un malade. Elle ingère avec le sang des trypanostigotes qui subissent chez elle un cycle complexe et apparaissent trois semaines plus tard dans ses glandes salivaires sous forme métacyclique infectante (Figure n°2).

La lutte contre les glossines s'effectue au moyen de méthodes très diverses.

Les insecticides tels que DDT, HCH, diéldrine, endosulfan, fenthion, dichlorvos, propoxur, pyréthriinoïdes, utilisés par épandage aérien ou par pulvérisation partir de véhicules, donnent d'excellents résultats (Gentilini et Duflo 1986).

L'utilisation de pièges, tels que les pièges biconiques de Challier-Laveissière, imprégnés d'insecticides constituent un moyen de lutte efficace mais onéreux (Wéry 1995).

Le lâché de mâles stériles est une méthode controversée car laborieuse et coûteuse. Elle consiste à élever des glossines en laboratoires, stériliser les mâles par irradiation, sachant qu'un accouplement primaire avec un mâle stérile prévient des fécondations ultérieures. Cependant, cela entraîne une augmentation transitoire de la population vectrice, car les mâles stériles se nourrissent comme les mâles sauvages et peuvent donc transmettre les trypanosomes (Euzéby 1986).

La modification de l'environnement, par le débroussaillage des bords des rivières et des lacs, où les glossines établissent leur habitat, est proscrit pour des raisons écologiques (Gentilini et Duflo 1986).

Il existe aussi :

- le diflubenzuron (DIMILIN®), régulateur de croissance peu toxique pour les vertébrés, et qui inhibe la croissance des larves de Diptères ;
- les médicaments antihelminthiques du groupe de l'ivermectine, dépourvus de toxicité pour les vertébrés et mortels pour les glossines ;
- les phéromones sexuelles qui attirent les mâles et évitent la fécondation (Wéry 1995).

1.3.2. Le dépistage des trypanosomoses chez l'homme.

Pour réduire la transmission d'humain à humain, une surveillance médicale régulière des populations à risque et le traitement systématique des malades est nécessaire (Goldsmith et Heyneman 1989).

L'interrogatoire du patient et la clinique constituent la première étape dans la démarche diagnostique :

* Pour *T. b. gambiense*, la piqûre infectante peut passer inaperçue. Elle provoque un chancre d'inoculation ou trypanome de type papule érythémateuse, prurigineuse ou douloureuse, accompagnée parfois d'adénopathies satellites.

Après l'inoculation, d'une durée variable, on observe une phase lymphatico-sanguine qui correspond à la dissémination des trypanosomes dans le sang et la lymphe, et se caractérise par de la fièvre modérée, 38°C, quasi-constante, des adénopathies au niveau des chaînes cervicales et sus-claviculaires, une hépatosplénomégalie modérée et inconstante, des

| DCI | Utilisation | Posologies | Voie d'administration |
|---|---|--|-----------------------|
| Médicaments actifs en phase hémolympatique | | | |
| Pentamidine | curatif lors des premiers jours suivant l'inoculation | 5 - 6 injections toutes les 24 - 48 h | voie parentérale |
| | préventif | une injection tous les 4 - 6 mois | |
| Suramine sodique | préventif et curatif | 2 mg/kg/sem. pendant 5 - 10 sem. | IV |
| Acéturate de diminazène | médicament vétérinaire surtout | 2 mg/kg/j, 7 - 10 jours | IM |
| Médicaments actifs en phase méningo-encéphalique | | | |
| Mélarsozol | curatif | 3,6 mg/kg/j (200 mg maximum), tous les 2 jours : série de 3 injections qui peuvent être répétées en respectant un intervalle de 15 jours | IV |
| Eflornitine | curatif | 400 mg/kg/j, 15 jours | perfusion de 6 h |
| | | 300 mg/kg/j, 3 sem. | orale |
| Nifurtimox | trypanosomoses résistant au mélarsozol | 15 - 20 mg/kg en 3 prises par jour, 20 - 30 jours | orale |

Tableau n°1.

La thérapeutique trypanocide humaine

Abréviations : DCI = Dénomination commune internationale ;

IV = Intra-veineuse; IM = Intra-musculaire.

signes cutanés visibles surtout sur peau blanche : placards érythémateux.

Lors du stade nerveux, les trypanosomes envahissent le compartiment extra-vasculaire ce qui se traduit par des troubles sensitifs : hyperesthésie, troubles du sommeil avec inversion du rythme nycthéral, puis état d'hébétéude permanent, troubles moteurs, troubles neuro-endocriniens (Gentilini et Duflo 1986).

En l'absence de traitement, on aboutit à la cachexie sommeilleuse terminale, le coma, puis la mort due à une affection intercurrente.

* Pour *T. b. rhodesiense*, l'évolution est souvent subaiguë et aboutit à la mort en 3 à 6 mois avant la diffusion extra-vasculaire du parasite.

Le diagnostic est confirmé par la mise en évidence du parasite dans le sang ou la lymphe pendant la phase aiguë, ou dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) pendant la phase chronique.

La goutte épaisse et la concentration sur résine permettent de mettre en évidence le parasite si la parasitémie est faible.

Le diagnostic sérologique ne donne que des arguments de présomption. Son usage est limité en raison des variations antigéniques qui se produisent au cours de la crise (Acha et Szyfres 1989).

1.4. Thérapeutique trypanocide.

1.4.1. Traitement des trypanosomoses humaines.

En matière de thérapeutique trypanocide, on distingue habituellement les médicaments actifs uniquement en phase lymphatico-sanguine, qui ne passent pas la barrière hémato-méningée et les médicaments actifs sur les deux phases de la maladie, qui atteignent les tissus nerveux.

Les principaux médicaments trypanocides actuels sont présentés dans le tableau n°1.

Les médicaments actifs en période hémolymphatique, tels que la suramine, la pentamidine ou l'acéturate de diminazène, ne sont plus utilisés en monothérapie.

Les médicaments actifs en toute circonstance sont le mélarsoprol, le nifurtimox et l'éflornithine.

Généralement, on combine plusieurs médicaments. Le traitement comprend successivement

| Animaux parasités | Espèces parasitaires | Composés | Posologie | Voie d'administration |
|-------------------|---|--|--|-------------------------|
| Bovins et ovins | <i>T. vivax</i> <i>T. congolense</i> | diminazène | 3,5 mg/kg | IM |
| | <i>T. brucei</i> | diminazène | 7 mg/kg | IM |
| | <i>T. congolense</i> | méthylsulfate de quinapyramine | 5 mg/kg | SC |
| Camélidés | <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i> | suramine | 7 - 10 mg/kg, 2 - 3 inj. 1 sem. d'intervalle | IV |
| Cheval | <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i> <i>T. vivax</i> <i>T. congolense</i> <i>T. equiperdum</i> | méthylsulfate de quinapyramine | 5 mg/kg | SC |
| Porc | <i>T. simiae</i> | diminazène | 5 mg/kg | IM |
| | <i>T. brucei</i> <i>T. simiae</i> | méthylsulfate de quinapyramine + diminazène | 7,5 mg/kg + 5 mg/kg | SC |
| Chien | <i>T. brucei</i> <i>T. evansi</i> | isométamidium | 1 mg/kg | IM profonde ou IV lente |
| | | bromure de pyrithidium | 2 mg/kg | IM profonde |

Tableau n°2.
Principaux médicaments utilisés contre les trypanosomoses animales.

l'administration d'une injection de suramine et de 3 ou 4 séries de 3 ou 4 injections IV (suivant le résultat de l'examen du LCR) de 3,6 mg/kg de mélarsoprol une semaine d'intervalle.

La suramine et le nifurtimox en combinaison ont été utilisés avec succès pour traiter les patients ayant rechuté après le mélarsoprol.

La meilleure connaissance du métabolisme des trypanosomes a permis d'élaborer de nouveaux schémas thérapeutiques actuellement en expérimentation :

- Eflornithine + mélarsoprol : la déplétion en polyamines provoquée par le premier facilite l'action du second.
- Eflornithine + 2-nitro-imidazolés (Wéry 1995).

1.4.2. Traitement des trypanosomoses animales.

On dispose aujourd'hui des médicaments suivants (Tableau n°2).

- La suramine est presque exclusivement utilisée chez les camélidés. Elle est bien tolérée mais son utilisation prolongée peut être néphrotoxique. Son prix élevé en limite l'utilisation.

- Le diminazène (BERENIL®) a d'excellentes propriétés curatives sur toutes les espèces de trypanosomes. Une seule intervention suffit généralement.

- L'isométymidium (TRYPAMIDIUM®, SAMORIN®) est actif sur tous les parasites des bovins, et il détruit aussi les parasites en évolution chez le vecteur qui les a absorbés chez un animal traité (observation faites chez *Glossina palpalis palpalis*, avec *T. vivax*). Une seule intervention suffit.

- Le bromure d'homidium (ETHIDIUM®).

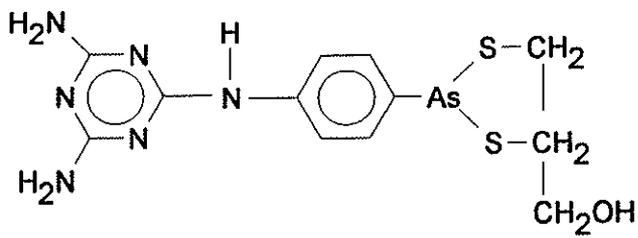
- Le bromure de pyrithidium (PROTHIDIUM®).

- Le chlorure d'homidium (NOVIDIUM®).

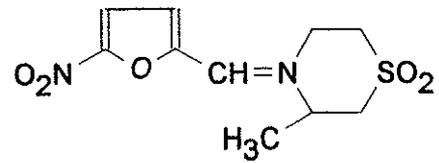
- Le méthyl-sulfate de quinapyramine (TRYPACIDE®) (Euzéby 1986).

On utilise des molécules différentes en fonction de l'espèce parasitaire et de l'animal atteint.

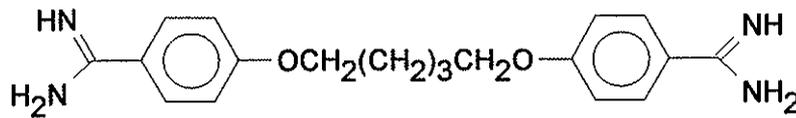
Toutefois aucun médicament n'est utilisé pour traiter les formes nerveuses tardives, dues aux parasites ayant franchi la barrière méningée. Ceci peut expliquer les rechutes, même en l'absence de ré-infection, qui se produisent 2-3 mois après le traitement et qui sont dues au passage du parasite



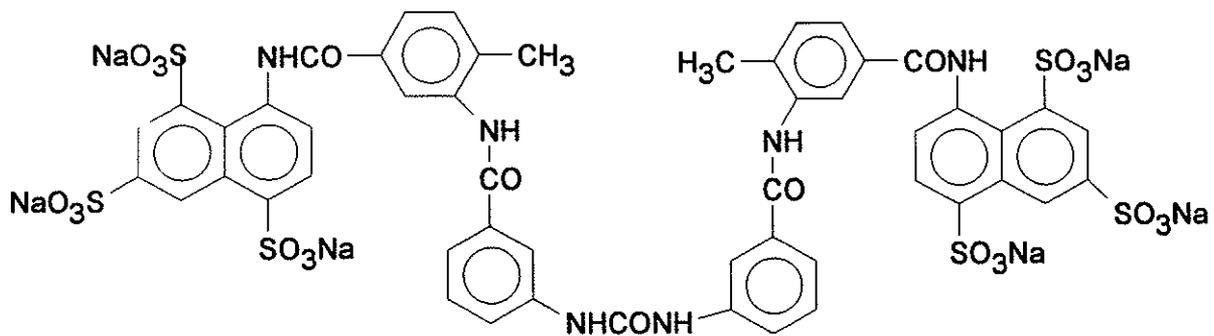
Mélarsoprol



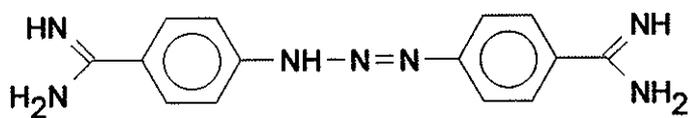
Nifurtimox



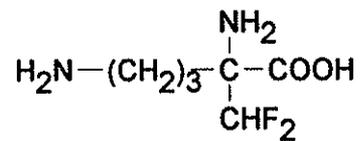
Pentamidine



Suramine



Diminazène



Alphadifluorométhyl ornithine

Figure n°3.
Formules développées de molécules de médicaments trypanocides.

du LCR dans le sang.

L'utilisation du mélarsoprol présente un rapport bénéfice/coût trop élevé pour être intéressant étant donné l'état des animaux déjà très gravement tarés par cette forme du processus pathologique.

2. TRAITEMENT TRYPANOCIDE.

Dans cette seconde partie, nous présentons successivement les caractéristiques des médicaments trypanocides disponibles et en développement (figure n°3).

2.1. Médicaments actifs en phase lymphatico-sanguine.

2.1.1. La pentamidine.

Il existe deux présentations :

- mésylate de pentamidine (LOMIDINE®),
- diiséthionate de pentamidine (PENTACARINAT®).

La pentamidine est une diamidine aromatique. Elle permet d'obtenir jusqu' 90% de guérison en phase lymphatico-sanguine (Gentilini et Duflo 1986).

* **Mécanisme d'action** : Elle agit à différents niveaux du métabolisme du trypanosome par inhibition enzymatique :

- elle provoque le blocage du catabolisme glucidique (Euzéby 1986) ;
- elle inhibe la synthèse protéique grâce aux groupements amidines de la molécule (Fairlamb 1989) ;
- elle interagit avec l'ADN du trypanosome (Goodman *et al.*, 1990).

* **Pharmacocinétique** : La molécule est rapidement absorbée par voie parentérale. Sa demi-vie est voisine de 6 heures (Laroche 1992).

* **Effets secondaires** : Localement, elle peut provoquer des douleurs ou une impotence fonctionnelle pendant quelques jours. On observe assez souvent, après l'injection, un malaise avec sueurs, sialorrhée, nausées, douleurs abdominales, voire collapsus ou coma.

2.1.2. La suramine.

Suramine sodique (MORANYL®, GERMANIN®).

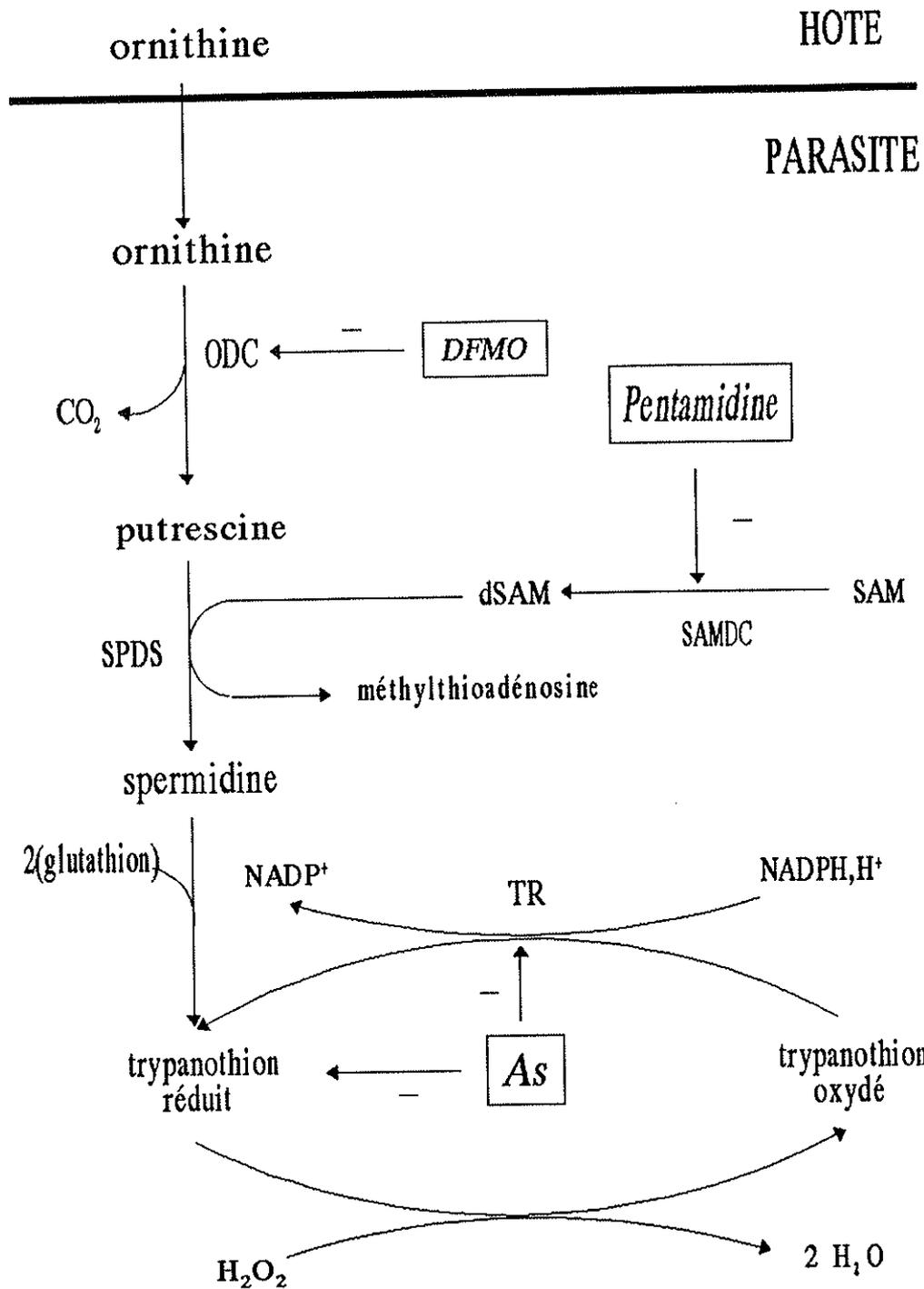


Figure n°4.

Métabolisme du trypanothion et cibles de trypanocides (D'après Landry et Gies, 1993).
 Abréviations (As: dérivés arsénicaux; dSAM: décarboxyl-S-adenosyl-méthionine; ODC: ornithine décarboxylase; SAMDC: S-adenosyl-méthionine décarboxylase; SPDS: spermidine synthétase; TR: trypanothion réductase).

C'est un uréide complexe.

* **Mécanisme d'action** : Son activité semble liée à l'inhibition de certaines enzymes du trypanosome, d'où blocage du catabolisme glucidique et du catabolisme protidique (Euzéby 1986).

* **Pharmacocinétique** : Après administration par voie IV, la suramine est véhiculée dans l'organisme par voie sanguine et elle est éliminée, principalement non dissociée. Cette élimination est très lente, ce qui explique le pouvoir préventif du composé.

* **Effets secondaires** : Les accidents d'intolérance sont évités en évaluant la sensibilité du patient par une faible dose. La néphrotoxicité de la suramine implique la recherche d'une protéinurie avant chaque injection (Gentilini et Duflo 1986).

2.1.3. Acéturate de diminazène.

Spécialisé sous le nom de BERENIL®.

Cette diamidine a prouvé son efficacité contre les trypanosomoses animales (Manson et Bell 1990). Surtout utilisée chez l'animal, elle a parfois été administrée à l'homme.

* **Mécanisme d'action** : Elle agit par blocage du catabolisme glucidique, et blocage du métabolisme protidique par inhibition de la synthèse des acides nucléiques (Euzéby, 1986).

2.2. *Médicaments actifs en phase méningo-encéphalique.*

2.2.1. Le mélarsoprol.

Spécialisé sous le nom d'ARSOBAL®.

Cette molécule résulte de la combinaison d'un composé arsénical trivalent le mélarsen oxyde avec du british anti-lewisite ou BAL (Gentilini et Duflo 1986). Elle est efficace à tous les stades de la maladie.

* **Mécanisme d'action** : Le mélarsoprol bloque la glycolyse par inhibition des enzymes glycolytiques : pyruvate-kinase et glycér phosphate deshydrogénase (Euzéby 1986). C'est un chélateur potentiel de thiols cellulaires, dont le trypanothion, en formant un complexe dithiocarbamate, mais c'est aussi un inhibiteur de la trypanothion réductase et de la glutathion réductase de l'hôte (Fairlamb *et al.* 1989). Or le trypanothion est un cofacteur composé de spermidine et de glutathion jouant le rôle d'agent anti-oxydant intracellulaire.

Le métabolisme du trypanothion est schématisé dans la figure n° 4.

* **Pharmacocinétique** : Cette molécule est suffisamment apolaire pour traverser la barrière hémato-encéphalique (Landry et Gies, 1993). Une petite, mais significative, part de la dose injectée par voie IV se retrouve dans le liquide céphalo-rachidien (Goodman et Gillman 1991). Le mélarsoprol et ses métabolites sont éliminés en cinq jours, par voies biliaire et urinaire (Bouteille 1990).

* **Effets secondaires** : Cette molécule présente une grande toxicité.

On observe en particulier :

- des accidents locaux : thrombose veineuse, nécrose cutanée,
- des accidents d'intolérance : malaise général fébrile, troubles digestifs, éruptions cutanées,
- L'encéphalopathie arsénicale dans 2 à 5 % des cas (Gentilini et Duflo 1986).

C'est pourquoi le traitement nécessite des précautions : injection strictement IV, traitement préalable des affections associées, surveillance hospitalière du malade.

2.2.2. Eflornithine (ORNIDYL®).

L'éflornithine ou α -difluorométhylornithine (ou DFMO) est un analogue structural de l'ornithine.

* **Mécanisme d'action** : Elle inhibe de façon irréversible et spécifique l'ornithine décarboxylase, ce qui a pour conséquence une limitation de la synthèse du trypanothion (Landry et Gies, 1993).

* **Pharmacocinétique** : La molécule, hydrosoluble, est bien absorbée par voie digestive. Elle est peu métabolisée et éliminée par voie urinaire.

* **Effets secondaires** : Ce produit est bien toléré. On observe : des diarrhées, des douleurs abdominales, une anémie, qui ne nécessitent pas l'arrêt du traitement (Manson et Bell 1990).

2.2.3. Nifurtimox (LAMPIT®).

C'est un dérivé du nitrofurane.

* **Mécanisme d'action** : Il inhibe la trypanothion réductase et augmente ainsi la quantité intracellulaire de peroxydes (Goodman et Gilman 1991).

* **Pharmacocinétique** : Ce médicament est administré par voie orale. Seules de faibles

concentrations sont retrouvées dans le sang et dans l'urine.

* **Effets secondaires** : Son usage est limité par le risque d'hémolyse médicamenteuse chez les sujets déficitaires en glucose 6-phosphate deshydrogénase, nombreux en Afrique Noire (Gentilini et Duflo 1986).

2.3. Médicaments en experimentation en laboratoire.

Deux classes de médicaments trypanocides originaux sont présentés dans ce paragraphe: les spiroarsoranes et les dérivés organométalliques.

2.3.1. Les spiroarsoranes.

Les dérivés arsénicaux, principalement organoarséniés sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique. Mais ils présentent une neurotoxicité importante limitant considérablement leur emploi.

Par contre, grâce la cyclisation de la molécule, les spiroarsoranes, dérivés arsénicaux pentavalents (Loiseau *et al.* 1993) sont peu toxiques.

Le principe de la synthèse de ces produits (figure n°5) repose sur l'estérification des acides arsoniques par des α -diols, des catéchols, ou des α -hydroxyacides (Dreyfuss *et al.* 1988).

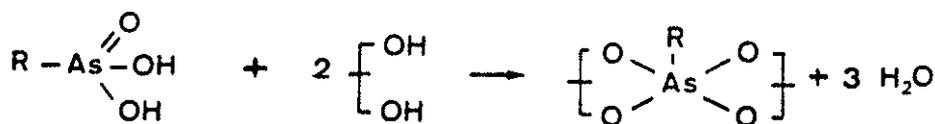


Figure n° 5: Synthèse des spiroarsoranes.

Le spiroarsorane n°5 : octaméthyl-2,2,3,3,7,7,8,8 tétraoxa-1,4,6,9 arsa-5 anilino-5 spiro-4,4 nonane a été plus particulièrement étudié. C'est un trypanocide puissant, actif dose unique chez le mouton sur les deux phases de la maladie, dans la mesure où l'infection n'est pas généralisée. Il est peu coûteux, peu toxique et possède un coefficient de lipophilie assez élevé ce qui explique sa diffusion vers le système nerveux central et son accumulation relative dans les organes profonds (Dreyfuss *et al.* 1990).

| COMPLEXE ORGANOMETALLIQUE | SPECTRE D'ACTIVITE | MODELE ANIMAL | POSOLOGIES ACTIVES | REFERENCES |
|--|---|---------------|---|----------------------------------|
| Ir ^{III} (L1) ₃ | <i>T. evansi</i> | souris Swiss | 400 mg/kg | Craciunescu <i>et al.</i> (1991) |
| | <i>T. evansi</i> | | 600 mg/kg | |
| Ir ^{III} (L2) ₃ | <i>T. evansi</i> | | 400 mg/kg | |
| Ir ^{III} (L3) ₃ | <i>T. evansi</i> | | 400 mg/kg | |
| Ir ^{III} (L4) ₃ | <i>T. evansi</i> | | 600 mg/kg | |
| [Ir ₂ (COD) ₂ L4] ²⁺ , 2X1 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | souris Swiss | 200 mg/kg | Craciunescu <i>et al.</i> (1993) |
| | <i>T. evansi</i> | | 400mg/kg | |
| [Ir ₂ (COD) ₂ L5] ²⁺ , 2X1 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 200 mg/kg | |
| [Ir ₂ (COD) ₂ L6] ⁺ , X1 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 600 mg/kg | |
| [Ir ₂ (COD) ₂ L4] ²⁺ , 2X3 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 400 mg/kg | |
| [Ir ^I (COD)(L7) ₂] ⁺ , X1 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 400 mg/kg | |
| [Ir ^I (COD)(L7) ₂] ⁺ , X2 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 600 mg/kg | |
| [Rh ^I (COD)(L7) ₂] ⁺ , X1 ⁻ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 800 mg/kg | |
| Rh(CO) ₂ (DPA-dtc) | <i>T. b. brucei</i> | souris Swiss | 100 mg/kg | Craciunescu <i>et al.</i> (1991) |
| | <i>T. equinum</i> <i>T. equiperdum</i> | | 200 mg/kg | |
| Rh(CO) ₂ (DCH-dtc) | <i>T. equiperdum</i> | | 200 mg/kg | |
| [Ru ^{III} Cl ₄ (L11) ₂] ⁺ [L11H] ⁺ | <i>T. b. rhodesiense</i> | souris Swiss | 200 mg/kg | Craciunescu <i>et al.</i> (1992) |
| [Ru ^{III} Cl ₄ (L12) ₂] ⁺ [L12H] ⁺ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 400 mg/kg | |
| | <i>T. evansi</i> | | 600 mg/kg | |
| [Ru ^{III} Cl ₄ (L10) ₂] ⁺ [L10H] ⁺ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 200 mg/kg | |
| | <i>T. evansi</i> | | 400 mg/kg | |
| [Ru ^{III} Cl ₄ (L13) ₂] ⁺ [L13H] ⁺ | <i>T. b. rhodesiense</i> | | 400 mg/kg | |
| [Os ^{IV} (L3) ₂ Cl ₂] | <i>T. b. rhodesiense</i> | 600 mg/kg | | |
| IrCl ₆ ²⁻ -stilbamidine | <i>T. b. brucei</i> | mouton | 2 mg/kg | Troubat (1994) |
| Ac. cis-diammine Pt ^{II} glutamique | <i>T. congolense</i> | souris | dose équivalente à 5 mg/kg de Pt/j pdt 5j, puis 20 mg à J ₁ , J ₃ et J ₆ | Meshnick <i>et al.</i> (1984) |

Tableau n°3.
Activité trypanocide de quelques composés organométalliques (1^{ère} partie).

| COMPLEXE ORGANOMETALLIQUE | SPECTRE D'ACTIVITE | MODELE ANIMAL | POSOLOGIES ACTIVES | REFERENCES |
|---|---------------------|---------------|--------------------|-------------------------------|
| Cis-Pt ^{II} pentamidine Cl ₂ | <i>T. b. brucei</i> | souris mouton | 12,5 mg/kg | Dreyfuss <i>et al.</i> (1988) |
| Cis-Pt ^{II} pentamidine Cl ₂ | <i>T. b. brucei</i> | souris CD1 | 20 mg/kg | Loiseau <i>et al.</i> (1992) |
| Pt ^{IV} Br ₆ H ₂ pentamidine | <i>T. b. brucei</i> | | 8 mg/kg | |
| Cis-Pt ^{II} pentamidine I ₂ | <i>T. b. brucei</i> | | 6,5 mg/kg | |
| Cis-Pt ^{II} pentamidine Cl ₂ | <i>T. b. brucei</i> | | 17 mg/kg | |
| [Ir ^{IV} (Cl) ₆] ²⁻ , 2H ⁺ pentamidine | <i>T. b. brucei</i> | | 6 mg/kg | |
| Ir ^I (COD)-pentamidine | <i>T. b. brucei</i> | | 0,78 mg/kg | |
| CisPt ^{II} pentamidine I ₂ | <i>T. b. brucei</i> | mouton | 5 mg/kg | Laroche (1992) |
| Tétraphénylborate d'Ir COD-pentamidine | <i>T. b. brucei</i> | mouton | 1 mg/kg | Tesquet (1994) |

Tableau n°3.
 Activité trypanocide de quelques composés organométalliques
 (2^{ème} partie).

Abréviations:

L1= pyrrolidone dithiocarbamate
 L2= N-éthylaniline dithiocarbamate
 L3= 2-aminothiazol dithiocarbamate
 L4= 2-OH stilbamidine
 L5= stilbamidine
 L6= niridazole
 L7= benznidazole
 L10= Mépacrine
 L11= Primaquine
 L12= Amodiaquine
 L13= Lépidine

COD= 1,3 cyclo-octadiène
 X1= B (C₆H₅)₄ avec B= tétraphénylborate
 X2= Cl-
 X3= NO₃-
 DPA= diphenyl-amine
 DCH= dicyclohexyl
 dtc= dithiocarbamate

| Classe thérapeutique | DCI ou n° de synthèse | Structure chimique | Activité anti-parasitaire |
|-------------------------|-----------------------|---|--------------------------------------|
| | Eflornithine | $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3 - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{CHF}_2 \end{array}$ | <i>T. b. gambiense</i> |
| Bis-triazole | DO870 | | <i>T. cruzi</i> |
| Guanyldrazone | CGP40215 | | <i>T. b. brucei</i> |
| | MDL73811 | | <i>T. b. brucei</i> (SNC) |
| Flavonoïde | Licochalcone A | | Leishmanioses |
| Alkyllyso-phospholipide | Miltefosine | $\text{C}_{16}\text{H}_{33} - \text{O} - \text{P} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O} \end{array} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+ - \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ | Leishmaniose viscérale expérimentale |
| Bis-benzylpolyamine) | MDL27695 | | Leishmaniose viscérale expérimentale |

Tableau n°3^{bis}.

Composés trypanocides en développement (d'après Croft *et al.*, 1997)

Abréviations : SNC = Système nerveux central ; DCI = Dénomination commune internationale.

2.3.2. Les dérivés organométalliques.

Les dérivés organométalliques ont des propriétés anti-cancéreuses en agissant comme intercalant de l'ADN. Les caractéristiques de quelques composés sont présentées dans le tableau n°3.

Or, plusieurs médicaments antitumoraux ont une activité trypanocide parce qu'une propriété commune existe entre les cellules tumorales et les trypanosomes : leur multiplication rapide (Loiseau *et al.* 1992).

Cependant, ces molécules sont toxiques, d'où l'intérêt de les complexer avec des macromolécules connues pour leurs propriétés trypanocides pour diminuer leur toxicité et augmenter leur activité antiparasitaire (Dreyfuss *et al.* 1981).

De nombreux complexes (répertoriés dans le tableau n°3) ont été étudiés *in vitro* et *in vivo* sur le modèle murin et ovin, certains d'entre eux ont montré une activité intéressante.

2.4. *Les composés en développement.*

La structure et l'activité trypanocide de certains produits actuellement en développement sont présentées dans le tableau n°3^{bis} (Croft *et al.*, 1997).

Actuellement, le trypanocide idéal, c'est-à-dire :

- actif la fois titre préventif et curatif tous les stades de la maladie,
- peu toxique,
- peu coûteux,

reste découvrir.

CHAPITRE DEUXIEME
MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre est consacré à la présentation des matériels utilisés et des méthodes mises en oeuvre dans notre étude sur le séléniocyanate de cis-Pt pentamidine. Il comporte deux parties principales : la première décrit les caractéristiques des matériels chimiques, biologiques et analytiques utilisés ; la seconde expose les modalités expérimentales et les protocoles méthodologiques.

1. MATÉRIELS.

Cette première partie décrit les divers types de matériels utilisés au cours des différentes phases de nos essais. Elle est constituée de trois paragraphes, présentant successivement le matériel chimique, puis le matériel biologique, et enfin le matériel analytique.

1.1. Matériel chimique.

Nous consacrons ce paragraphe à la présentation du produit étudié : le séléniocyanate de cis-Platine (II) pentamidine. Sa structure chimique est présentée sur la figure n° 6 (Page suivante).

Ce complexe organo-métallique original a été synthétisé au laboratoire de chimie minérale et analytique de la Faculté de Pharmacie de Madrid (Espagne), sous le direction du Professeur Craciunescu. Il fait partie d'une importante série de chélates de diamidines aromatiques, à propriétés trypanocides connues, et de métaux nobles (Pt, Os, Ru, Rh, Pd, Ir). L'anion est généralement un halogénure, un cyanate, un thiocyanate, un séléniocyanate, ou quelquefois le tétraphénylborate.

Sa masse moléculaire approchée est de 993,7.

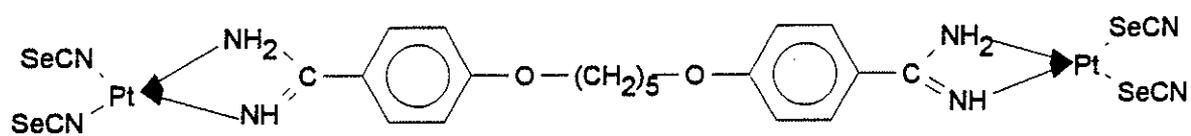


Figure n° 6.
Structure chimique du sélénocyanate de cis-platine (II) pentamidine.

Du point de vue organoleptique, le produit se présente sous forme d'une poudre cristallisée de couleur brune.

Ce complexe a déjà fait l'objet d'un criblage préalable de l'activité trypanocide chez la souris. Ces essais ont été réalisés à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry, par les chercheurs du laboratoire de Parasitologie. Les résultats n'ont pas encore été publiés.

Les propriétés trypanocides et toxiques du produit sur le modèle murin sont présentées dans le tableau ci-dessous.

| Composé | MM | Posologie | | Temps de survie en jours (m ± σ) | Nb guéris/ Nb traités | Activité trypanocide | Dose maximale tolérée (mg/kg) | Indice chimiothérapeutique |
|---------------------------------|-------|-----------|-------|----------------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------------|----------------------------|
| | | μmol/kg | mg/kg | | | | | |
| Cis-Pt pentamidine bromure | 695 | 6 | 4,2 | > 30 | 6/6 | ++ | 200 | 200 |
| | | 3 | 2,1 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 1,5 | 1 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 0,75 | 0,5 | 8,4 ± 2,7 | 1/6 | + | | |
| Cis-Pt pentamidine thiocyanate | 1808 | 6 | 10,8 | > 30 | 6/6 | ++ | 450 | 166 |
| | | 3 | 5,4 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 1,5 | 2,7 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 0,75 | 1,3 | 4,2 ± 1,5 | 0/6 | - | | |
| Cis-Pt pentamidine tétracyanate | 993,7 | 6 | 6 | > 30 | 6/6 | ++ | 180 | 60 |
| | | 3 | 3 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 1,5 | 1,5 | 8,6 ± 2,4 | 4/6 | + | | |
| | | 0,75 | 0,75 | 3,5 ± 1,3 | 0/6 | - | | |
| pentamidine iséthionate | 592 | 12 | 7,1 | > 30 | 6/6 | ++ | 45 | 13 |
| | | 6 | 3,5 | > 30 | 6/6 | ++ | | |
| | | 3 | 1,75 | 5,2 ± 2,3 | 0/6 | - | | |
| | | 1,5 | 0,87 | 3,5 ± 1,4 | 0/6 | - | | |
| | | 0,75 | 0,43 | 3,5 ± 1,1 | 0/6 | - | | |

Abréviation : MM = Masse moléculaire.

Le composé est actif contre *T. b. brucei* par injection sous-cutanée d'une suspension dans la CMC + Tween 80 à la concentration de 1,5 à 1,75 mg/kg.

1.2. Matériel biologique.

1.2.1. Le modèle animal.

L'étude antiparasitaire et pharmacocinétique que nous avons effectuée a été menée sur le modèle de trypanosomose ovine, décrit par Bouteille (1990). Après infestation avec une souche de *Trypanosoma brucei brucei*, l'évolution clinique et biologique est très proche de la maladie humaine (Bouteille *et al.* 1986).

On utilise quatre moutons mâles de même race qui ont subi un examen clinique et un

traitement antihelminthique préalable. Pendant toute la durée de l'expérimentation, ils sont maintenus isolés en stabulation dans l'exploitation agricole du Professeur Nicolas. Ils reçoivent une alimentation classique.

Les animaux sont identifiés, pesés, et tondus. Nous avons choisi au hasard :

- un témoin qui est infecté, mais qui ne sera pas traité ;
- un animal qui n'est pas infecté, mais qui sera traité, pour étudier la cinétique sérique du platine chez l'animal sain ;
- deux autres moutons qui reçoivent un traitement par le composé organo-métallique administré à des doses différentes.

Les schémas thérapeutiques sont précisés dans le tableau n°4 (page suivante).

| Numéro des moutons | Poids corporel (en kg) | Infestation | Traitement |
|--------------------|------------------------|-------------|------------|
| 1 | 26 | oui | 2 mg/ kg |
| 2 | 26 | oui | 5 mg/ kg |
| 3 | 20 | non | 2 mg/ kg |
| 4 | 23 | oui | 0 |

Tableau n°4.

Poids corporel respectif et traitement appliqué à chaque animal dans l'expérience.

On sélectionne uniquement des moutons mâles afin d'observer l'éventuelle apparition d'une orchite, symptôme caractéristique de la trypanosomose ovine.

1.2.2. Le parasite.

On utilise *Trypanosoma brucei brucei*. La souche ANTAT 1-9 provient de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Professeur Wéry).

Elle est conservée dans l'azote liquide à -180°C. Pour lui rendre sa pathogénicité, on applique le protocole suivant : on décongèle rapidement un échantillon à 37°C. Puis, on inocule la suspension parasitaire à une souris Swiss par injection intra-péritonéale.

Toutes les 48 heures, on contrôle la parasitémie. Pour cela, on recueille une goutte de sang après section de l'extrémité de la queue de la souris. On observe ce liquide biologique à l'état frais

entre lame et lamelle.

Généralement, 2 à 3 jours après l'infestation, on compte 5 à 10 trypanosomes par champ microscopique à l'objectif 40. A ce stade, on pratique des repiquages: on injecte à deux nouvelles souris 200 µl de suspension de sang dilué dans une solution physiologique.

On réalise ainsi pendant 15 jours des repiquages successifs tous les 2 à 3 jours.

Les souris meurent en général, 3 à 4 jours après l'inoculation et les trypanosomes apparaissent très mobiles lors de l'observation microscopique ce qui confirme la virulence des souches.

1.3. Autre matériel.

Matériel d'inoculation: seringues type insuline, aiguilles.

Préparation du produit à étudier : solution de CMC (carboxyméthylcellulose) à 1 %, mortier et pilon, verrerie.

Recueil du sang ovin: - tubes héparinés pour évaluer la parasitémie,
- tubes secs pour doser le produit, "tulipe", aiguilles.

Matériel analytique: on dose par spectrométrie d'absorption atomique, à l'aide :

- d'un spectrophotomètre Perkin-Elmer 1100,
- d'un four graphite Perkin-Elmer HGA-400,
- d'une lampe à cathode creuse Pt Perkin-Elmer.

2. PROTOCOLE.

2.1. Infestation des moutons.

Pour vérifier que la parasitémie est suffisante, on effectue un comptage sur cellules de Malassez à partir d'une suspension de 2 gouttes de sang prélevées à la queue de la souris et diluées dans 2 ml de solution physiologique.

Le même type de suspension est injecté par voie sous-cutanée, au niveau de l'ars des moutons numéro 1, 2, et 4.

2.2. Traitement.

A J_R, période où le parasite est en phase lymphatico-sanguine, chaque animal sauf le témoin est traité.

Préparation du produit: On réalise une suspension du produit dans une solution de CMC à 1 % à l'aide d'un mortier afin d'obtenir une suspension de particules de granulométrie homogène.

On mélange 298,50 mg du produit dans 12 ml de CMC. La suspension obtenue a donc une concentration de 24,875 mg/mL.

Cependant, entre le moment où on la prépare et celui où on l'injecte, c'est-à-dire pendant 12 heures environ nous conservons la préparation au réfrigérateur et on note que la suspension s'est rétractée : son nouveau volume est de 6 ml soit une concentration de 49,750 mg/mL.

Injection du produit: Chaque mouton reçoit une injection sous cutanée, dans l'ars, de la suspension, suivant la posologie indiquée dans le tableau n°5.

| Moutons | 1 | 2 | 3 | 4 |
|------------------------------|------|------|-----|-----|
| infestation | oui | oui | non | oui |
| poids | 26 | 26 | 20 | 23 |
| posologies en mg/kg | 2 | 5 | 2 | 0 |
| doses injectées en ml | 1,04 | 2,36 | 0,8 | 0 |

Tableau n°5.
Schéma thérapeutique expérimental.

2.3. Surveillance des moutons.

2.3.1. Contrôle de la parasitémie.

On contrôle la parasitémie à J_R:

On effectue un prélèvement au niveau de la veine jugulaire de l'animal. Le sang est recueilli dans un tube hépariné.

Les échantillons sont examinés ensuite :

- à l'état frais entre lame et lamelle,

- après concentration sur DEAE-cellulose selon la technique de Lanham et Godfrey (1970).

2.3.2. Surveillance clinique.

On effectue une surveillance clinique régulière pendant 120 jours. D'après Bouteille (1990), les signes principaux que l'on peut observer sont : une anémie, une perte de poids, des lésions oculaires, l'apparition tardive d'une orchite, des troubles nerveux, une hyperthermie, l'apparition d'adénopathies, une modification du comportement général.

2.4. Etude pharmacocinétique.

2.4.1. Prélèvements pour l'étude pharmacologique:

Afin de pouvoir déterminer la cinétique d'élimination du produit, on effectue les prélèvements sanguins au niveau de la veine jugulaire du mouton à des horaires déterminés (tableau n°6). Le sang est recueilli dans des tubes secs.

| Numéro des prélèvements | Horaires des prélèvements en heures | | |
|-------------------------|-------------------------------------|----------|----------|
| | Mouton 1 | Mouton 2 | Mouton 3 |
| T 0 | 0 | 0,017 | 0,05 |
| T 0,5 | 0,56 | 0,6 | 0,67 |
| T 1 | 1,017 | 1,034 | 1,06 |
| T 2 | 2,12 | 2,2 | 2,24 |
| T 4 | 3,98 | 3,983 | 4,05 |
| T 6 | 6,32 | 6,36 | 6,4 |
| T 8 | 8,12 | 8,26 | 8,32 |
| T 12 | 11,7 | 11,75 | 11,8 |
| T 24 | 24,5 | 24,55 | 24,6 |
| T 48 | 48,45 | 48,49 | 48,52 |
| T 72 | 72,02 | 72,05 | 72,08 |
| T 96 | 96,77 | 96,8 | 96,82 |
| T 120 | 120,3 | 120,34 | 120,38 |
| T 720 | 720 | 720 | 720 |

Tableau n°6.

Chronologie des prélèvements sériques chez les moutons traités par le produit.

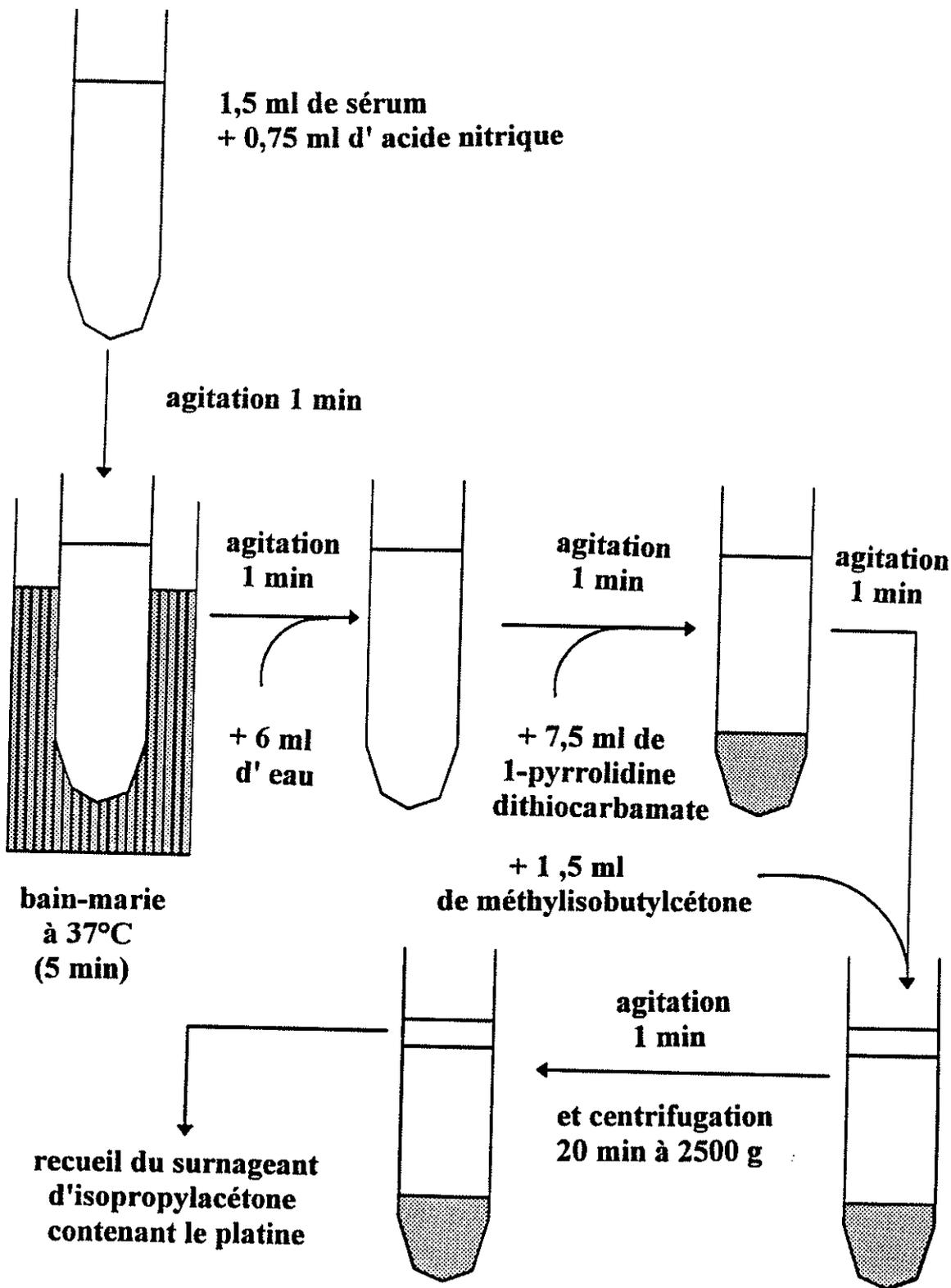


Figure n° 6.
Schéma de la méthode d'extraction du platine sérique
selon le protocole de Hull *et al.* modifié.

2.4.2. Préparation des échantillons:

Pour permettre la rétraction du caillot, on laisse les tubes de recueil à température ambiante une demi-journée environ. Le sérum est ensuite décanté à l'aide d'une pipette pasteur.

Après une centrifugation qui permet d'éliminer toutes les cellules sanguines, le sérum est placé dans des tubes à hémolyse soigneusement étiquetés et conservés à - 18 °C au congélateur.

2.4.3. Méthode analytique: dosage du platine par absorption atomique.

On utilise la méthode de Hull *et al.*(1981), adaptée par Dreyfuss *et al.*(1988). Un certain nombre de difficultés nous ont amenées à apporter les modifications suivantes à cette technique:

- Le prélèvement du surnageant de méthylisobutylcétone s'étant avéré difficile du fait de son faible volume, nous avons utilisé un plus grand volume de prise d'essai pour les échantillons.

La durée de centrifugation a également été augmentée pour améliorer la séparation des phases organiques et aqueuses. Cette centrifugation a été réalisée à basse température pour réduire la volatilité du solvant d'extraction.

- Nos extractifs sont recueillis dans des tubes type Ependorff en polypropylène car d'une part le platine s'absorbe sur le verre et d'autre part les tubes en chlorure de polyvinyle ou en polyéthylène sont dégradés par le méthylisobutylcétone (voir figure n°6).

Extraction:

La méthode nécessite une extraction préalable du platine à partir du sérum:

Après décongélation des échantillons à +4°C pendant 24h, on rajoute 0,75 mL d'acide nitrique pur, puis on mélange au vortex. On chauffe 5 minutes au bain-marie bouillant. Après refroidissement, on ajoute 6 mL d'eau désionisée, on agite à nouveau 1 minute avant l'addition de 7,5 mL de pyrrolidine dithiocarbamate. Le complexe platine-1-pyrrolidine dithiocarbamate est ensuite extrait dans 1,5 mL de méthylisobutylcétone. On agite une minute et on procède à une centrifugation de 20 minutes à 2500 G. Le surnageant de méthylisobutylcétone est recueilli dans des tubes type Ependorff à l'aide de pipettes Pasteur.

Dosage:

La spectrophotométrie d'absorption atomique permet de connaître l'absorbance des échantillons. Donc, pour déterminer la concentration en platine dans nos prélèvements, il est nécessaire de réaliser une gamme étalon préalablement au dosage.

Deux types de gammes étalons sont préparées:

- une gamme étalon dans l'eau: solution aqueuse de PtCl₂ à 0,1µg/mL; 0,25µg/mL; 0,5µg/mL; 1µg/mL; 1,5µg/mL; 2µg/mL; 2,5µg/mL; 3µg/mL; 4µg/mL.

- une gamme étalon dans le sérum bovin: une solution aqueuse de PtCl₂ à 0,1µg/mL; 0,25µg/mL; 0,5µg/mL; 0,75µg/mL; 1µg/mL; 1,5 µg/mL; 2µg/mL; 2,5µg/mL; 3µg/mL est mise en contact pendant 24 heures afin de réaliser la fixation protéique du platine. Les dilutions de PtCl₂ dans le sérum ainsi obtenues subissent une extraction identique à celle des échantillons.

Dosage proprement dit:

La programmation du four est décrite dans le tableau n°7 . Le volume d'échantillon prélevé est de 30 µL. Les extractums sont dosés en intercalant un étalon tous les quatre à cinq échantillons. Le spectrophotomètre d'absorption atomique fournit deux paramètres : la hauteur et la surface du pic d'absorbance, seule la hauteur du pic d'absorbance sera retenue.

| Phase | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------------------------------|-------------|------|------|------|----|------|
| Température (°C) | 100 | 1500 | 1500 | 2700 | 20 | 2700 |
| Montée en T° (s) | 10 | 10 | 0 | 0 | 10 | 4 |
| Temps de maintien en température (s) | 60 | 20 | 2 | 5 | 5 | 4 |
| Lecture (s) | | | 1 | | | |
| Mini-flow | | | | | | |
| Stop-flow | | + | + | | | |
| Temps d'intégration | 6 secondes. | | | | | |

Tableau n°7.

Programmation du four graphite en spectrophotométrie d'absorption atomique.

Le volume d'échantillon prélevé est de 30 µL.

CHAPITRE TROISIEME

RESULTATS

Ce chapitre comporte deux parties. Le premier paragraphe rend compte de l'activité antiparasitaire du séléniocyanate de pentamidine. Dans la deuxième partie, nous présentons les résultats expérimentaux concernant la cinétique sérique du platine, d'une part chez le mouton sain et d'autre part chez le mouton parasité.

1. ACTIVITÉ TRYPANOCIDE.

L'activité a été étudiée uniquement en phase initiale (lymphatico-sanguine) de la maladie. En effet, le traitement est administré 8 jours après l'infestation à la dose unique de 2 mg/kg chez le mouton sain, et respectivement de 2 et 5 mg/kg chez les moutons parasités.

Nous avons évalué l'activité trypanocide par l'observation des signes cliniques de la trypanosomose chez les moutons et par la surveillance de la parasitémie à J_8 .

La recherche des parasites dans le sang de mouton par l'observation microscopique à l'état frais entre lame et lamelle s'est avérée négative.

Lors de la surveillance clinique régulière, nous avons observé, à J_{40} , chez le témoin, un larmolement qui a duré une dizaine de jours. Les autres animaux n'ont présenté aucun des signes caractéristiques de la maladie décrits par Bouteille (1990) : lésions oculaires, orchite, oedèmes, perte de poids, troubles comportementaux.

Tous les moutons ont survécu plus de 3 mois après leur infestation.

2. PHARMACOCINÉTIQUE SÉRIQUE.

Ce paragraphe comporte deux parties : la première partie regroupe les valeurs expérimentales sous forme de tableaux. La deuxième présente les courbes de cinétique sérique.

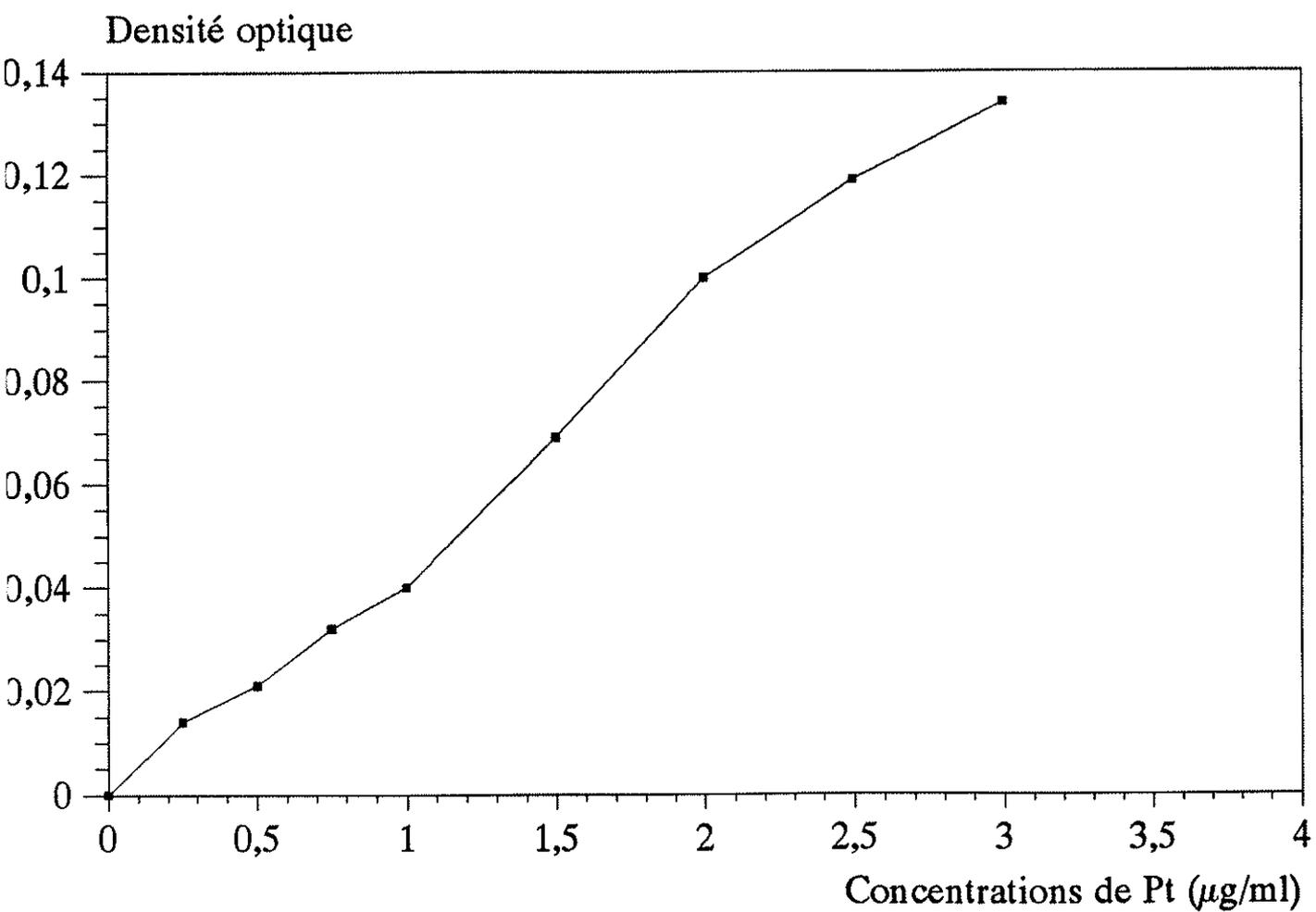


Figure n°7.
Courbe d'étalonnage du platine dans le sérum de bovin.

2.1. Valeurs expérimentales.

2.1.1. Etalonnage : gamme dans le sérum.

Cette gamme étalon permet de déterminer la concentration sérique de platine dans les échantillons de sérums en fonction de l'absorbance. Les résultats sont présentés dans le tableau n°8 ci-dessous et sur la figure n°7.

| | | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentration en Pt ($\mu\text{g/mL}$) | 0,25 | 0,5 | 0,75 | 1 | 1,5 | 2 | 2,5 | 3 |
| Absorbance | 0,014 | 0,021 | 0,032 | 0,040 | 0,069 | 0,100 | 0,119 | 0,134 |

Tableau n° 8: Gamme étalon.

2.1.2. Concentrations sériques en platine.

Les valeurs expérimentales figurent dans les tableaux n°9 à 11 (ci-dessous).

Abréviations : **H** : Horaires des prélèvements en heure.

A : Absorbance multipliée par 1000.

C : Concentration en platine en $\mu\text{g/L}$.

| | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| H | 0 | 0,6 | 1 | 2 | 4 | 6,3 | 8,1 | 12 | 25 | 49 | 72 | 97 | 120 | 720 |
| A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1,2 | 0 | 0 |
| C | 0 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | 120 | 150 | 340 | 600 | 300 | 250 | <20 | <20 |

Tableau n°9.

Cinétique sérique du platine chez le mouton n°1 traité à 2 mg/kg.

| | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|-------|-----|
| H | 0 | 0,7 | 1,1 | 2,3 | 4 | 6,4 | 8,3 | 11,8 | 24,6 | 48,5 | 72,1 | 96,8 | 120,4 | 720 |
| A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 21 | 43 | 17 | 24 | 18 | 0 |
| C | 0 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | <20 | 200 | 450 | 920 | 360 | 500 | 380 | <20 |

Tableau n°10.

Cinétique sérique du platine chez le mouton n°2 traité à 5 mg/kg.

| | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-----|------|-------|-----|
| H | 0 | 0,6 | 1 | 2,2 | 4 | 6,4 | 8,3 | 11,8 | 24,6 | 48,5 | 72 | 96,8 | 120,3 | 720 |
| A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 6 | 5 | 15 | 26 | 6 | 10 | 2 | 0 |
| C | 0 | <20 | <20 | <20 | <20 | 60 | 120 | 100 | 320 | 530 | 120 | 210 | 40 | <20 |

Tableau n° 11.

Cinétique sérique du platine chez le mouton n°3 traité à 2 mg/kg.

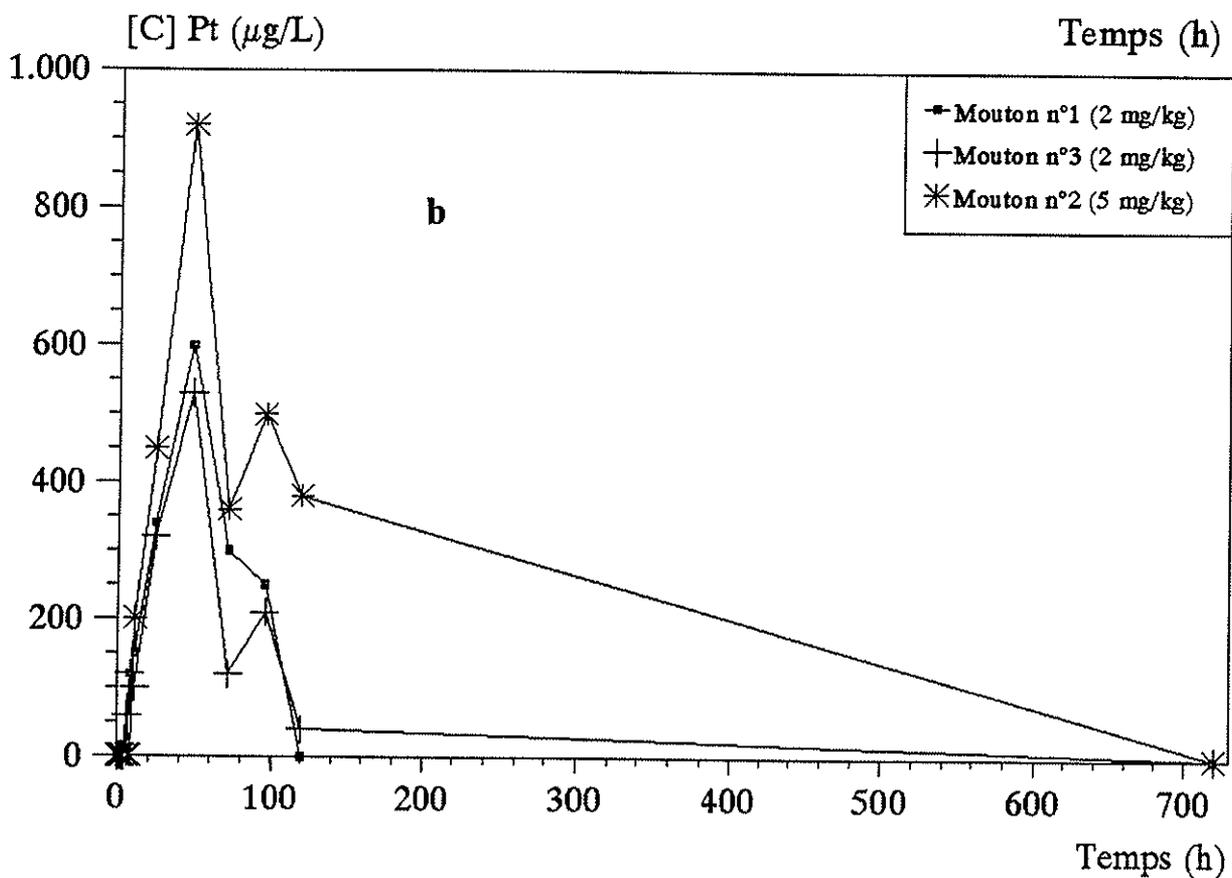
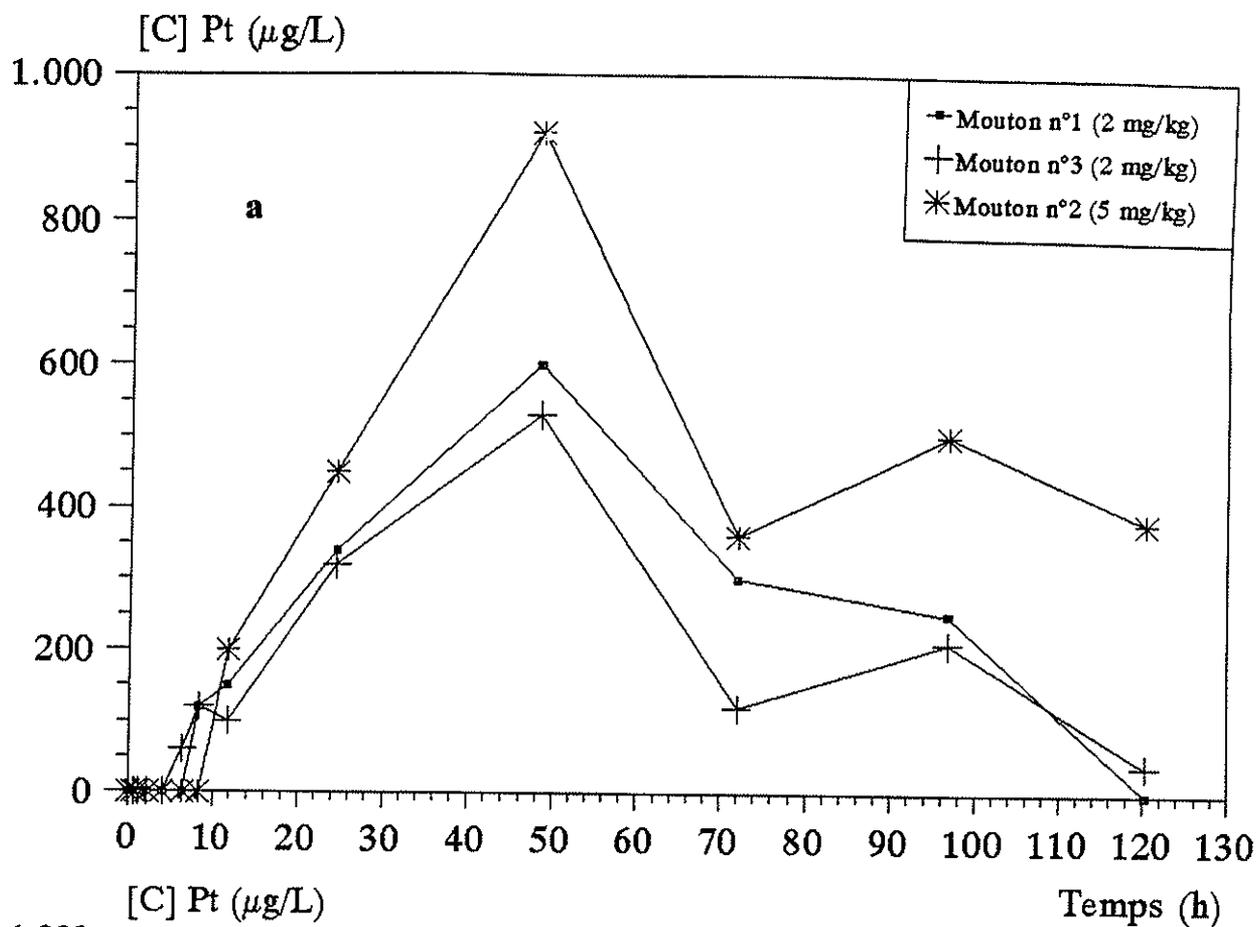


Figure n°8.
Cinétique sérique du platine chez le mouton parasité ou sain :
- a. Entre 0 et 130 heures,
- b. Entre 0 et 720 heures.

2.2 Courbes expérimentales de cinétique sérique du platine.

Les courbes de cinétique sérique du platine sont obtenues par traitement informatique des valeurs obtenues précédemment (figures n° 8a et 8b).

Les trois courbes présentent une allure générale comparable.

* MOUTON N°1 : animal infesté, traité à 2 mg/kg. Le platine est détectable dans le sérum à partir de la 8^{ème} heure, puis sa concentration augmente régulièrement pour atteindre un maximum de 600 µg/L vers la 48^{ème} heure. Elle décroît lentement jusqu'à ne plus être détectable à partir de la 120^{ème} heure.

* MOUTON N°2 : animal infesté, traité à 5 mg/kg. La détection du platine sérique n'est possible qu'à partir de la 12^{ème} heure environ. Nous observons ensuite une croissance rapide de la concentration sérique qui atteint un maximum de 920 µg /L vers la 48^{ème} heure. On note une décroissance rapide jusqu'à la 72^{ème} heure, puis une augmentation vers un deuxième pic à 500 µg/L vers la 96^{ème} heure.

A partir de ce pic, la concentration diminue à nouveau, lentement, et n'est plus détectable 30 jours après l'administration.

* MOUTON N°3 : animal non infesté, traité à 2 mg/kg. Le platine est dosable dans le sérum aux environs de la 6^{ème} heure.

Un premier pic plasmatique de 530 µg/L est atteint vers la 48^{ème} heure. On note ensuite une décroissance jusque vers la 72^{ème} heure, un deuxième pic apparaît vers la 96^{ème} heure, après quoi s'effectue une décroissance lente. Le platine n'est plus détectable à la 720^{ème} heure.

CHAPITRE QUATRIEME

DISCUSSION

Ce chapitre comporte trois parties :

- la première présente les justifications du protocole et des méthodes, en précisant la part relative des différents composés du complexe étudié ;

- dans la deuxième partie, nous comparons l'activité trypanocide du complexe à celle d'autres trypanocides étudiés antérieurement ;

- la dernière partie est consacrée à la comparaison de la cinétique sérique du séléniocyanate de pentamidine avec les cinétiques sériques d'autres complexes organo-métalliques décrits dans la littérature.

1. JUSTIFICATION DES PROTOCOLE ET METHODES.

1.1. Préparation du médicament trypanocide.

Bien que le séléniocyanate de pentamidine soit soluble dans une solution de DMSO à 5% dans de l'eau distillée, nous avons choisi de réaliser une suspension dans la CMC à 1% pour deux raisons principales :

- la CMC, du fait de sa consistance de gel, permet, après une injection par voie sous-cutanée, une diffusion plus lente dans les tissus et donc une élimination plus ralentie du principe actif.

- la quantité de DMSO à 5% nécessaire pour dissoudre le produit est trop importante pour un traitement sous-cutané et l'injection d'une solution à 70% provoque une importante douleur au point d'injection et une impotence temporaire du membre (Laroche 1992).

1.2. Posologies.

Deux moutons ont été traités à 2 mg/kg et un mouton à 5 mg/kg.

Les poids moléculaires (PM) du produit et de ses composants sont :

- PM du produit : 1156,
- PM du platine : 195,
- PM de la pentamidine base : 340.

On constate donc que, dans le poids moléculaire du complexe, le platine représente 34 %, et la pentamidine 30 %.

A l'aide de ces données, nous avons calculé les quantités de platine et de pentamidine administrées à chaque mouton.

Ces précisions sont rassemblées dans le tableau n°12 ci-dessous :

| | Mouton n°1 | Mouton n°2 | Mouton n°3 |
|---|------------|------------|------------|
| Doses injectées (mg/kg) | 2 | 5 | 2 |
| Dose de platine injectée (mg/kg) | 0,67 | 1,7 | 0,67 |
| Dose de pentamidine injectée (mg/kg) | 0,58 | 1,5 | 0,58 |
| Infestation | oui | oui | non |

Tableau n° 12: Doses de platine et de pentamidine injectées à chaque mouton.

2. ACTIVITÉ TRYPANOCIDE.

L'activité trypanocide du composé platiné a été démontrée chez la souris : le séléniocyanate de pentamidine est actif contre *T.b.brucei* par injection intra-péritonéale d'une suspension dans le tween à la concentration de 1,5 à 1,75 mg/kg.

Au cours de notre étude, tous les moutons ont survécu plus de 90 jours. On peut penser que le produit injecté 8 jours après l'infection a été efficace. En effet, d'après Bouteille (1990), le temps de survie moyen d'un mouton parasité est de 75 jours.

Nos travaux confirment donc l'activité trypanocide du produit en phase lymphatico-sanguine.

En revanche, étant donné que ni la pentamidine, ni le platine ne passent la barrière hémato-encéphalique, le complexe est inactif sur la phase méningo-encéphalique, raison pour laquelle nous

avons limité notre étude à la phase initiale de la maladie.

On peut donc conclure que le produit présente une activité trypanocide, en phase lymphatico-sanguine, à la dose de 2 mg/kg, ce qui correspond à 0,67 mg/kg de platine et à 0,58 mg/kg de pentamidine.

Or, la pentamidine est active sous forme d'iséthionate de pentamidine à la dose de 4 mg/kg/j (sans dépasser 300 mg) en 5 à 10 injections, à raison d'une injection intra-musculaire toutes les 24 à 48 heures (Gentilini et Duflo 1986), ce qui correspond à 2,29 mg/kg/j de pentamidine base.

Le fait de complexer la molécule de pentamidine permet donc d'obtenir une bonne efficacité, et ceci en administrant une dose significativement inférieure de pentamidine (près de 4 fois moins par rapport à une seule injection d'iséthionate de pentamidine). De plus, il faut souligner que le complexe permet un traitement à dose unique.

La comparaison de l'activité du séléniocyanate de cis-Pt pentamidine avec quelques autres complexes organométalliques figure dans le tableau n°13 (ci-dessous).

| Molécules trypanocides | Dose active unique (mg/kg) | Dose de Pt correspondante (mg) | Dose de pentamidine base correspondante (mg) | Références |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|-------------------------------|
| Iodure de cis-Pt pentamidine | 5 | 1,2 | 2,09 | Dreyfuss <i>et al.</i> (1993) |
| Chlorure de cis-Pt pentamidine | 12,5 | 3,88 | 7 | Dreyfuss <i>et al.</i> (1988) |
| Bromure de cis-Pt pentamidine | 3 | 0,84 | 1,5 | Brossy (1997) |
| Thiocyanate de cis-Pt pentamidine | 2,5 | 1,08 | 0,47 | Galland (1997) |
| Séléniocyanate de cis-Pt pentamidine | 2 | 0,67 | 0,58 | Nos travaux |

Tableau n°13.

Comparaison de l'activité trypanocide de divers composés organo-métalliques.

La lecture du tableau n°13 montre que l'anion séléniocyanate permet d'obtenir une activité à plus faible dose qu'avec les complexes présentant un anion différent, notamment le chlorure ou l'iode.

Pour le bromure et le thiocyanate, on peut considérer que les doses actives sont voisines.

Cependant avec le thiocyanate, la quantité de platine injectée est nettement supérieure.

3. CINÉTIQUE SÉRIQUE DU PLATINE.

3.1. Commentaires sur les courbes expérimentales.

Les courbes obtenues ont un aspect comparable (figure n°8, page 41) :

- quelle que soit la dose injectée : 2 ou 5 mg/kg,
- que le mouton ait été infesté ou non.

Globalement, pendant les 6 à 8 premières heures, le platine n'est pas détectable. Puis, à partir de la dixième heure environ, on observe une croissance progressive de la concentration sérique de platine, jusque vers la 48^{ème} heure où apparaît un pic sérique. Ceci peut correspondre à la libération progressive du platine à partir du point d'injection.

Ensuite, on peut émettre l'hypothèse qu'il y a passage du produit dans le sang, puis diffusion dans l'ensemble de l'organisme, avec fixation au niveau des organes profonds (poumons, foie, rate,...). Sur la courbe, ceci se traduit par une diminution de la concentration plasmatique.

Autour de la 97^{ème} heure, on observe un deuxième pic plasmatique, moins élevé que le premier, chez les moutons parasités n°2 et n°3. Il pourrait être lié à la libération du platine à partir des sites de fixation dans les organes profonds.

Enfin, on observe une décroissance lente : le platine est encore détectable chez les moutons parasités n°2 et n°3 à la 120^{ème} heure. Chez le mouton n°1, non parasité, on observe une décroissance à partir de la 48^{ème} heure et le platine n'est plus détectable à la 120^{ème} heure.

3.2. Pharmacocinétique de la pentamidine.

La pharmacocinétique de la pentamidine se caractérise par un passage très rapide dans le sang. En effet, après injection intra-musculaire chez l'homme d'une dose de 4 mg/kg de pentamidine, Waalkes *et al.* (1970, 1976) observent un pic sérique une heure après l'injection avec des valeurs comprises entre 0,3 et 1,4 µg/mL.

D'après Ballout (1987), la molécule n'est pas métabolisée et elle subit une très forte fixation sur les tissus hépatiques et rénaux.

Chez la souris et le rat, l'élimination urinaire et fécale est lente (demi-vie supérieure à 6 jours, Launoy *et al.* 1960).

En raison d'un relargage à partir des organes profonds, on peut trouver de la pentamidine dans les urines de l'Homme, 6 à 8 semaines après l'arrêt du traitement (Waalkes *et al.* 1970).

Récemment, une étude pharmacocinétique a été réalisée chez l'Homme, après

Iodure de cis-Pt(II) pentamidine
Cinétique sérique expérimentale

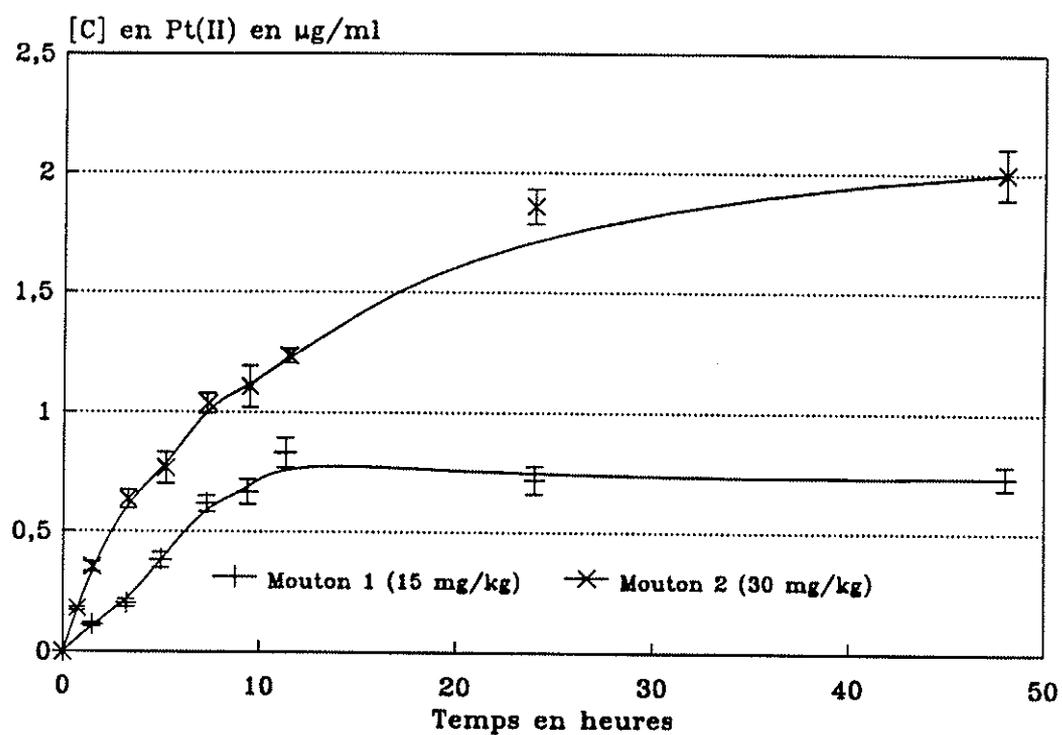


Figure n°9 .

Variations des concentrations sériques de platine dans le plasma après injection sous-cutanée chez le mouton de l'iodure de cis Pt(II) pentamidine (D'après Dreyfuss *et al.* 1993).

administration de pentamidine à dose unique. Chez 11 patients parasités par *Trypanosoma brucei gambiense*, on a administré 3 à 4,8 mg/kg de pentamidine en perfusion IV de 2 heures. Après arrêt de la perfusion, on a observé une diminution exponentielle de la concentration en médicament. La demi-vie moyenne d'élimination a été de 265 heures (Aden Abdi *et al.* 1995).

La comparaison de la cinétique de la pentamidine avec celle du produit est difficile, car les études ont été réalisées dans des conditions différentes : modèle animal, solvant utilisé, voie et site d'injection, posologies. Néanmoins, on remarque que la pentamidine, comme le platine, a une vitesse d'élimination lente.

Par contre, la résorption du produit à partir du point d'injection semble significativement plus lente que celle de la pentamidine, et l'atteinte du pic plasmatique beaucoup plus progressive.

3.3. Pharmacocinétique du cis-platine.

Le cis-platine présente une clairance biphasique. Sa demi-vie plasmatique initiale est de 25 à 50 minutes, alors que le 2^{ème} pic correspond à une demi-vie de 58 à 73 h. Toutefois, on note que cette demi-vie est augmentée lors de l'administration de fortes doses de cis-platine (Goodman et Gilman 1991). Il est peu métabolisé et se fixe chez l'Homme dans les tissus, surtout dans le rein, le foie, le poumon et les organes génitaux (Listterst 1976).

Sa cinétique n'ayant jamais été étudiée chez le mouton, la comparaison avec celle de notre produit paraît hasardeuse. On peut tout de même souligner une persistance sérique importante pour les deux composés.

3.4. Comparaison avec la cinétique du platine après injection de l'iodure de cis-platine pentamidine.

L'étude de la cinétique de l'iodure de cis-platine a été réalisée après l'injection de 15 et 30 mg/kg de complexe (Dreyfuss *et al.* 1993), ce qui représente respectivement des posologies de:

- 3,6 mg/kg et 7,23 mg/kg de platine,
- 6,3 mg/kg et 12,6 mg/kg de pentamidine.

En ce qui concerne les 50 premières heures, la cinétique du platine issu de l'iodure de cis-platine est globalement comparable à celle du platine issu du séléniocyanate de pentamidine (figure n°9). Avec l'iodure de cis-platine, on observe des courbes qui croissent régulièrement à partir du moment de l'injection.

A la dose de 15 mg/kg, la concentration plasmatique maximale est atteinte vers la 12^{ème} heure après le traitement. On observe ensuite une lente décroissance jusqu'à la 24^{ème} heure, suivie

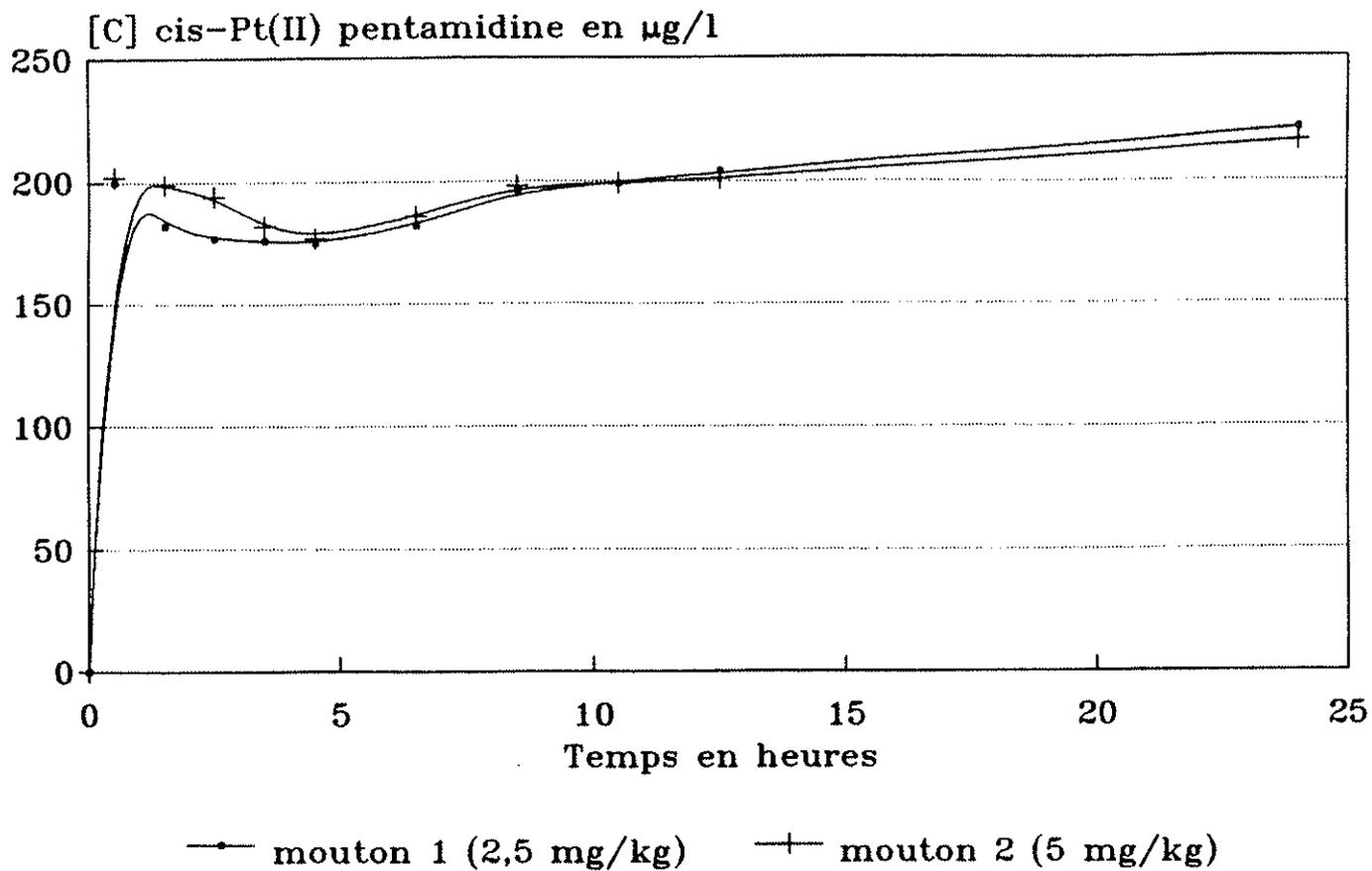


Figure n°10.

Cinétique sérique expérimentale du platine chez le mouton après injection sous-cutanée de chlorure de cis-Pt(II) pentamidine (D'après Dreyfuss *et al.* 1990).

d'un plateau entre la 24^{ème} et la 48^{ème} heure, proche de la concentration maximale.

A la dose de 30 mg/kg, la valeur maximale de concentration plasmatique semble située à plus de 48 heures après l'injection.

Avec notre complexe, l'allure des courbes est voisine quelle que soit la dose injectée. On note, comme avec le complexe iodé, une croissance régulière de la concentration sérique. Un premier pic est atteint aux environs de la 48^{ème} heure. Cependant, le platine n'est détectable dans le sérum qu'à partir de la 6^{ème} heure.

On peut penser que les différences observées entre ces deux complexes sont dues:

- à la différence des doses de platine injectées (0,67 et 1,7 mg/kg de platine pour notre produit),

- mais surtout au solvant utilisé : l'iodure de cis-platine pentamidine a été injecté sous la forme d'une solution dans le DMSO à 70%. Ce solvant étant très irritant, il entraîne une inflammation et une hypervascularisation au niveau de l'ars, ce qui facilite le passage du platine vers le compartiment sanguin. Au contraire, notre produit a été injecté en suspension dans la CMC à 1%, dont la consistance a tendance à retarder la diffusion du principe actif à partir du point d'injection. Ceci explique le décalage vers la droite de la courbe de cinétique sérique.

Avec le mouton n°2, qui a reçu 1,7 mg/kg de platine sous forme de complexe sélénocyané, on retrouve une concentration sérique maximale de 920 µg/L. Par contre, avec le mouton qui a reçu 3,6 mg/kg de platine sous forme de complexe iodé, on retrouve une concentration sérique maximale de 830 µg/L. On peut donc supposer que le platine complexé au sélénocyanate diffuse mieux du site d'injection vers le compartiment sanguin que le platine complexé à l'iodure.

3.5. Comparaison avec la cinétique du platine après injection de chlorure de cis-platine pentamidine.

Le chlorure de cis-platine pentamidine a été injecté aux doses de 2,2 et 5 mg/kg (Dreyfuss *et al.* 1990). Ceci correspond à des posologies de :

- 0,68 et 1,56 mg/kg de platine : valeurs très voisines de celles administrées dans notre étude,

- 1,18 et 2,7 mg/kg de pentamidine.

Le complexe chloré donne lieu à l'apparition d'un pic sérique entre 45 et 60 minutes (figure n°10). Puis, on constate une décroissance jusqu'à un minimum entre 3 et 4 h, suivie d'une nouvelle

croissance sérique, maximale à 24 h, avant de décroître lentement vers zéro, en plusieurs jours.

La cinétique obtenue avec le séléniocyanate est voisine, tout en étant décalée dans le temps. On pourrait imputer cette différence à l'utilisation de la CMC à 1% dans notre étude. Mais, comme on ne retrouve pas une résorption aussi rapide avec le complexe iodé (Dreyfuss *et al.*, 1993), on peut conclure que l'apparition d'un pic dès la 3^{ème} heure pour le chlorure est due en partie à la présence de chlore dans la molécule.

Pour des doses voisines de platine injectées, on obtient des concentrations sériques plus de 2 fois plus élevées avec le complexe séléniocyané qu'avec le complexe chloré. Il semble donc que le platine soit plus facilement libéré à partir du séléniocyanate de cis-Pt pentamidine qu'à partir du chlorure de cis-Pt pentamidine.

3.6. Comparaison avec la cinétique du thiocyanate de cis-platine pentamidine.

L'étude de l'activité trypanocide et de la cinétique du complexe thiocyané a été effectuée après administration, à dose unique à différentes concentrations. La comparaison des doses de thiocyanate et de séléniocyanate injectées figure dans le tableau n°14 .

| | Thiocyanate de cis-Pt pentamidine | | | Séléniocyanate de cis-Pt pentamidine | | |
|---|-----------------------------------|------|------|--------------------------------------|-----|------|
| N° Moutons | 837 | 807 | 805 | 1 | 2 | 3 |
| Dose de complexe (mg/kg) | 10 | 5 | 2,5 | 2 | 5 | 2 |
| Dose de Pt correspondante (mg/kg) | 4,3 | 2,15 | 1,08 | 0,67 | 1,7 | 0,67 |
| Dose de pentamidine correspondante (mg/kg) | 1,88 | 0,94 | 0,47 | 0,58 | 1,5 | 0,58 |

Tableau n°14.
Comparaison des doses de platine et de pentamidine administrées en fonction du complexe injecté.

On remarque que pour une dose voisine de complexe, le thiocyanate renferme plus de platine et moins de pentamidine que le séléniocyanate.

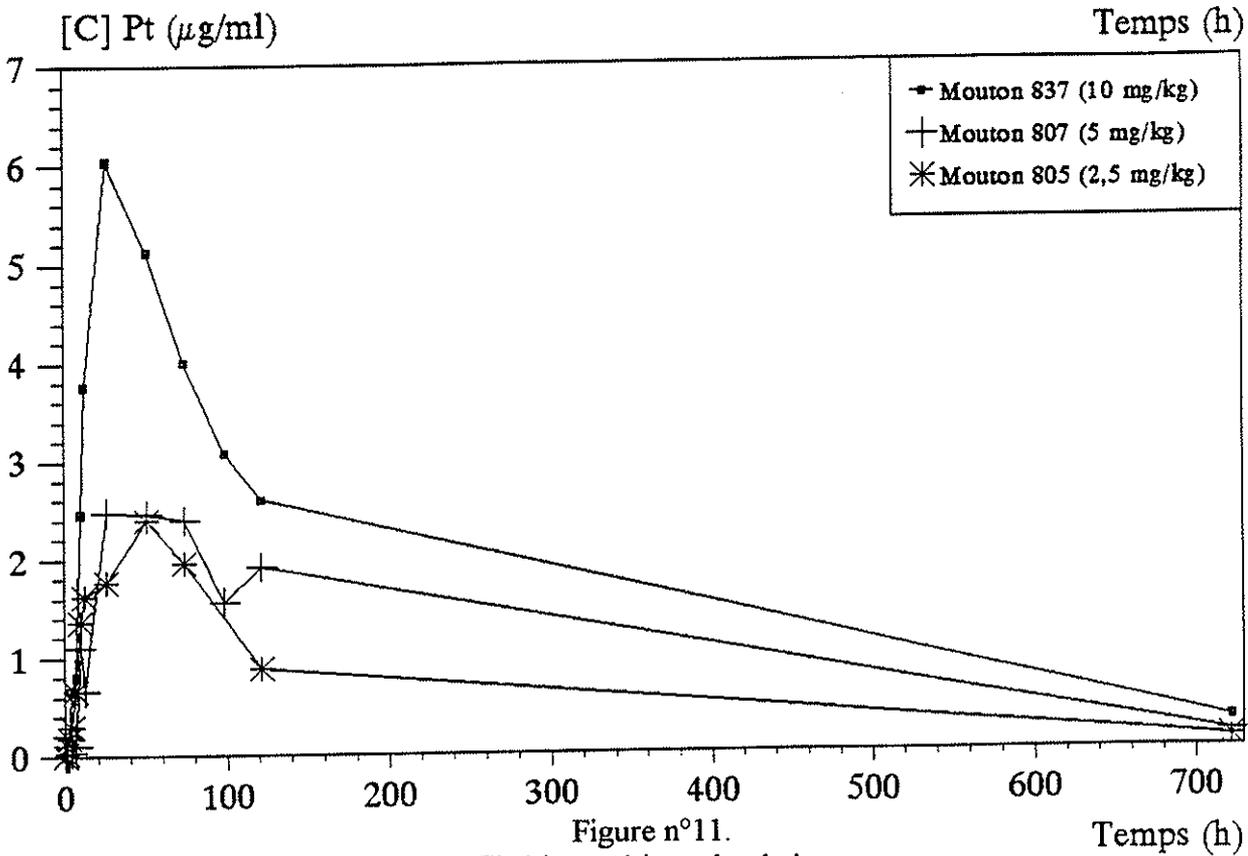
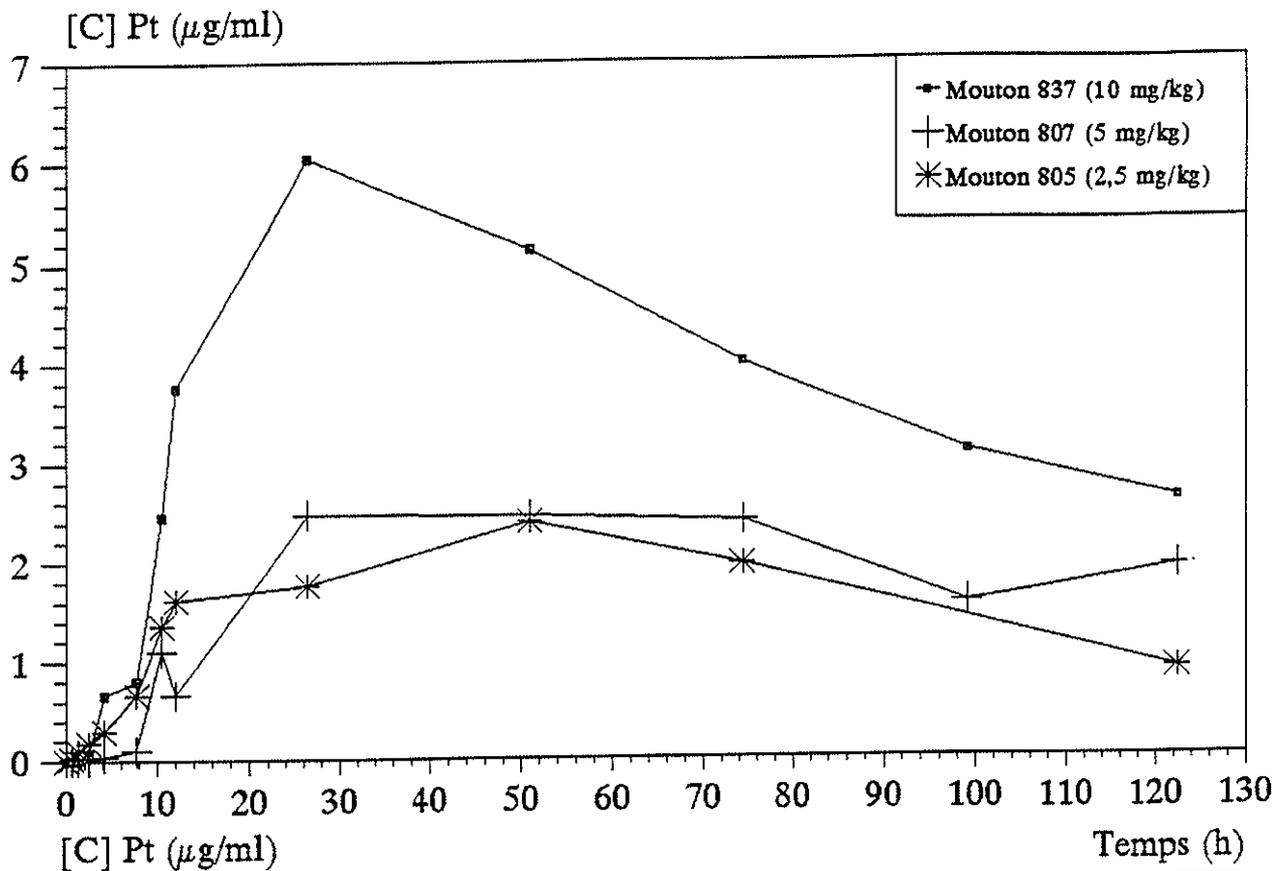


Figure n°11.
Cinétique sérique du platine
après injection de thiocyanate de cis-Pt pentamidine :
-a. Entre 0 et 120 heures,
-b. Entre 0 et 720 heures.
(D'après Galland 1997).

3.6.1. Comparaison des doses injectées aux concentrations de platine sérique retrouvées.

Globalement, le complexe thiocyané a été injecté à des doses supérieures au complexe séléniocyané. Ceci permet d'expliquer que l'on retrouve des concentrations sériques de Pt beaucoup plus élevées après injections de thiocyanate de cis-Pt pentamidine qu'après injection de séléniocyanate.

Cependant, si on compare les moutons n°2 et 805, on constate que le mouton n°2 a reçu une dose de platine supérieure à celle du mouton n° 805. Or la concentration sérique maximale du n° 2 (920 µg/L) est inférieure à celle du n° 805 (2400 µg/L).

On en déduit que le platine complexé au thiocyanate diffuse mieux dans le compartiment sanguin que le platine lié au séléniocyanate.

3.6.2. Comparaison des courbes obtenues.

Les courbes ont une allure générale comparable (figure n°11).

Le platine est détectable plus rapidement avec le complexe thiocyané. Ceci s'explique par les quantités plus importantes de platine injectées et confirme aussi la meilleure diffusion du platine issu de thiocyanate.

Ces mêmes hypothèses permettent d'expliquer que le premier pic plasmatique apparaît plus tardivement avec le séléniocyanate. Dans les deux cas, on observe, après une fixation au niveau des organes profonds, une décroissance lente de la concentration sérique.

Le platine issu du thiocyanate persiste plus longtemps dans le sang que celui issu du séléniocyanate, car il est encore détectable 700 heures après l'injection.

CONCLUSION

On dispose d'un choix thérapeutique limité pour le traitement des trypanosomoses africaines. Dans ce type de pathologie, la préoccupation constante est de disposer d'un médicament efficace, facile à administrer, d'un coût supportable et peu toxique. Actuellement, aucun médicament disponible ne rassemble toutes ces qualités. Ceci explique la nécessité de mettre au point des composés nouveaux à large spectre d'activité, applicables à tous les mammifères parasités, en particulier l'Homme.

Les travaux des chimistes ont conduit à l'élaboration de composés dont la structure laisse supposer une activité trypanocide potentielle. Pour des raisons économiques, les laboratoires ont sélectionné, parmi des produits connus, ceux dont les propriétés physico-chimiques conduisent à évaluer une éventuelle activité trypanocide.

Le souci de limiter la toxicité, et par là même la surveillance post-thérapeutique, explique la synthèse de complexes organo-métalliques comportant une molécule trypanocide reconnue, comme la pentamidine, et un atome métallique à propriété cytotoxique.

Le séléniocyanate de cis-platine pentamidine est un complexe organo-métallique sélectionné selon les critères précédents après criblage chez la souris. Nos travaux montrent qu'il est efficace en phase lymphatico-sanguine de la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*.

Ce composé présente un intérêt certain, car:

- Il est actif à faible dose : 2 mg/kg, ce qui correspond à seulement 0,58 mg/kg de

pentamidine base et à 0,67 mg/kg de platine.

- Il diffuse lentement à partir du point d'injection vers le compartiment sanguin : le platine est détectable dans le sang entre la 6^{ème} et la 12^{ème} heure.

- Du fait de la fixation du platine et de la pentamidine au niveau des organes profonds, leur élimination est lente et leur action est donc prolongée.

Cependant, comme les autres dérivés organo-métalliques, le sélénocyanate ne passe pas la barrière hémato-encéphalique, ce qui limite son intérêt en médecine humaine.

Par contre, on peut envisager son utilisation à titre prophylactique chez les animaux d'élevage, notamment chez les ovins.

Il pourrait être intéressant d'étudier la cinétique de la pentamidine après son administration sous forme complexée de façon à compléter cette étude.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHA P.N., SZYFRES B. (1989).
Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Editions O.I.E. Paris. 1063 p.
- ADEN ABDI. Y., GUSTAFSSON L.L., ERICSSON O., HELLEGREN U. (1995).
Handbook of drugs for tropical parasitic infections, second edition. Taylor & Francis ed., London. 181 p.
- BACCHI C.J., NATHAN H.C., HUNTER S.H., DUCH D.S., NICHOL C.A. (1981).
 Prevention by polyamines of the curative effect of amicarbalide and imidocarb for *Trypanosoma brucei* infections in mice. *Biochem Pharmacol.* **30** 883-886.
- BAYLEY M.M. (1968).
 Oral berenil in the treatment and prophylaxis of human trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **62** 122.
- BALLOUT A. (1987).
 Cis-platinum pentamidine : Méthodes d'études analytiques et application pharmacologique actuelle. *Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Limoges*. 114 p.
- BOUTEILLE B. (1990).
 Le traitement de la trypanosomose humaine africaine. Etude d'un modèle expérimental : le mouton (*Ovis aries*). *Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences Pharmaceutiques, Université de Limoges*, 354 p.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., CATANZANO G., BRETON J.C., NICOLAS J.A., N'DO D.C. (1986).
 Le mouton : modèle expérimental pour l' étude de la trypanosomiase africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **79** 730-738.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., DUMAS M., CATANZANO G., PESTRE-ALEXANDRE M., BRETON J.C., NICOLAS J.A., N'DO D.C. (1988).
 The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. I. Clinical study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **82** 141-148.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., BRETON J.C., NICOLAS J.A., CATANZANO G., MUNOZ M. (1988).
 The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. II. Biological study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **82** 149-158.
- BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., , BRETON J.C., NICOLAS J.A., CATANZANO G., MUNOZ M. (1988).
 Traitement de la trypanosomiase expérimentale du mouton à *T. b. brucei* : recherche d'une dose minimale active de mélarsoprol. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 548-554.
- BRETON J.C., BOUTEILLE B., SONAN T. (1988).
 Le DFMO : alternative thérapeutique de la trypanosomose humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 571-577.

- BRETON J.C., DUMAS M. (1990).
 Traitement de la trypanosomose africaine : place de l'eflornithine (DFMO). *In* "Chimiothérapie des parasitoses", Ed. Arnette Paris. 69-78.
- BROSSY F. (1997).
 Activité trypanocide et cinétique sérique du bromure de cis-platine pentamidine. *Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges*, 66 p.
- CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTIERREZ M.T., ALONSO M.P., PARRONDO IGLESIAS E., DE FRUTOS M.I., DOADRIO LOPEZ A. (1991).
 Estudio de las actividades farmacológicas duales "in vivo" (antitripanosómicas y antitumorales) y de las toxicidades de algunos nuevos complejos neutros del iridio (III) *An. Real. Acad. Farm.* 57 221-256.
- CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTIERREZ RIOS M.T., DE FRUTOS M.I. (1992).
 Estudio de los actividades farmacológicas duales (antitripanosómicas y antitumorales) de los nuevos complejos neutros del Osmio (III), del Osmio (IV), y de los nuevos complejos aniónicos del Rutenio (III). *An. Real. Acad. Farm.* 58 207-231.
- CRACIUNESCU D.G., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTIERREZ RIOS M.T., DE FRUTOS M.I., MOLINA C., LORENZO-MOLINA C., CERTAD FOM BONA G., GASTON DE IRIARTE E. (1993).
 Estudio de las actividades farmacológicas duales (antitripanosómicas y antitumorales) desplegadas por los nuevos complejos organometálicos y catiónicos del Iridio (I) y del Rodio (I). *An. Real. Acad. Farm.* 59 73-97.
- CRACIUNESCU D.G., SCARCIA V., FORLANI A., PAPAIOANNOV A., PARRONDO-IGLESIAS E., ALONSO M.P. (1991).
 Pharmacological and toxicological studies on new Rh (I) organometallic complexes. *In vivo* 5 329-332.
- CROFT S., URBINA J.A., BRUN R.
 Chemotherapy of human leishmaniasis and trypanosomiasis, in "Trypanosomiasis and Leishmaniasis", G. Hide, J.C. Mottram, G.H. Coombs, P.H. Holmes, eds, CAB International, London, 1997, 245-257.
- CURTIS C.F. (1991).
Control of disease vectors in the community, Wolfe publishing Ltd., ed. London. 233 p.
- DREYFUSS G., GAYRAL P., DUBOST G., NICOLAS J.A., CRACIUNESCU D.G. (1988).
 Activité anti-parasitaire du Cis-Pt(II) pentamidine dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 626-631.
- DREYFUSS G., LOISEAU P., WOLF J.G., BORIES C., GAYRAL P., NICOLAS J.A. (1988).
 Une nouvelle série d'organoarséniés antiparasitaires : les spiroarsoranés. Activité trypanocide expérimentale. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 561-570.

- DREYFUSS G., PENICAUT B., PARRONDO-IGLESIAS E., CRACIUNESCU D.G., DUBOST G., NICOLAS J.A. (1990).
Activité trypanocide et cinétique plasmatique du Cis-Pt(II) pentamidine chez le mouton parasité. *Bull. Soc. Path. Ex.* **83** 367-375.
- DREYFUSS G., PENICAUT B., WOLF J.G., DUBOST G., NICOLAS J.A. (1990).
Cinétique plasmatique d'un spiroarsorane trypanocide chez le mouton parasité. *Bull. Soc. Path. Ex.* **83** 360-366.
- DREYFUSS G., PENICAUT B., NICOLAS J. A., CRACIUNESCU D.G., LOISEAU P. (1993).
Trypanocidal activity and platinum plasma kinetics of cis-platinum pentamidin iodine in *Trypanosoma brucei* sheep model. *Trop. Med. Parasitol.* **44** 95-98.
- DUMAS M., BRETON J.C., PESTRE-ALEXANDRE M., GIRARD P.L., GIORDANO C. (1985).
Etat actuel de la thérapeutique de la trypanosomiase humaine africaine. *Presse Med.* **14** 253-256.
- DUMAS M., LEGER J.M., PESTRE-ALEXANDRE M. (1986).
Trypanosomiase humaine africaine. Rapport de neurologie. *Manifestations neurologiques et psychiatriques des parasitoses*, Ed. Masson, Paris, 152-162.
- EUZEBY Y.J. (1984).
Les parasitoses humaines d'origine animale. Caractères épidémiologiques. Ed, Flammarion Médecine Science, Paris. 58-67.
- EUZEBY Y.J. (1986).
Protozoologie médicale comparée, Vol. 1. Fondation Marcel Mérieux ed., Lyon, 465 p.
- FAIRLAMB A.H., HENDERSON G.B., CERAMI A. (1989).
Trypanothione is the primary target for arsenical drugs against African trypanosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86** 2607-2611.
- FURET Y., DUONG T.H., COMBESCOT C., BRETEAU M. (1987).
Une molécule nouvelle en thérapeutique antiparasitaire : l'alphadifluorométhylornithine. *Path. Biol.* **35** 398-404.
- GALLAND I. (1997).
Activité trypanocide et cinétique sérique du Thiocyanate de cis-platine pentamidine. *Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges*, 68 p.
- GENTILINI M., DUFLO B. (1986).
Médecine tropicale. Flammarion ed., Paris, 840 p.
- GOODMAN-GILMAN A., RALL T.W., NIES A.S., TAYLOR P. (1991).
The pharmacological basis of therapeutics. 8th ed., Pergamon Press ed., New York, 1811 p.

- GOLDSMITH R., HEYNEMAN D. (1989).
Tropical medicine and parasitology. Prentice Hall International ed., London, 942 p.
- HULL D.A., MUHAMMAD N., LANESE J.G., REICH S.D., FINKELSTEIN T.T., FANDRICH S. (1981).
 Determination of platinum in serum and ultrafiltrate by flameless atomic absorption spectrophotometry. *J. Pharm. Sci.* **70** 500-502.
- KAZYUMBA G.L., RUPPOL J.F., TSHEFRI A.K., NKANGA N. (1988).
 Arsénorésistance et difluorométhylornithine dans le traitement de la trypanosomiase humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **81** 591-594.
- KINNAMON K.E., STECK E.A., RANE D.S. (1979).
 Activity of antitumor drugs against African trypanosomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **15** 157-160.
- LABAUNE J.P. (1991).
Propriétés pharmacocinétiques des médicaments. Masson ed., Paris, 454 p.
- LANDRY Y., GIES J.P. (1993).
Pharmacologie moléculaire. Mécanisme d'action des médiateurs et des médicaments, 2ème édition. Arnette ed., Paris. 800 p.
- LANHAM S., GODFREY D.G. (1970).
 Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. *Exp. Parasitol.* **28** 521-531.
- LAROCHE F. (1992).
 Activité trypanocide et cinétique plasmatique du Platine chez le mouton traité par l'iode de Cis-Pt Pentamidine. *Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Limoges*. 78 p.
- LAUNOY L., GUILLOT M., JONCHERE H. (1960).
 Etude du stockage et de l'élimination de la pentamidine chez la souris et le rat blanc. *Ann. Phar. Fr.*, **18** 424-439.
- LEONARD B.J., ECCLESTON E., JONES D., TODP P., WALPOLE A. (1971).
 Antileukaemia and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature*, **234** 43-45.
- LOISEAU P.M., BORIES C., GAYRAL L.P., WOLF J.G. (1988).
 Trypanocidal activity of a new series of arsenid compounds, the spiroarsoranes. *Farmaco [Sci]* **43**: 657.663.
- LOISEAU P.M., BORIES C., TRABELSI M., GAYRAL P., WOLF J.G. (1994).
 Contribution of N, N'- dialkyl benzamide groups to trypanocidal properties of spiroarsoranes. *Parasitol. Res.*, **80**: 708-710.

- LOISEAU P.M., CRACIUNESCU D.G., DOADRIO-VILLAREJO J.C., CERTAD-FOMBONA G., GAYRAL P. (1992).
Pharmacomodulations on new organometallic complexes of Ir, Pt, Rh, Pd, Os, : *in vitro* and *in vivo* trypanocidal study against *T. b. brucei*. *Trop. Med. Parasitol.* **43** 110-114.
- MAES L., BAJYANA SONGA E., HAMERS R. (1998).
Organometallic compounds, process for producing them and pharmaceutical compositions containing them. *Fr. Pat.* n°88/16406.
- MAES L., BAJYANA SONGA E., HAMERS R. (1993).
IMOL 881, a new trypanocidal compound. *Acta Trop.* **54**, 261-269.
- MANSON-BAHR P.E.C. et BELL D.R. (1987).
Manson's tropical diseases, nineteenth edition. Baillere Tindall ed., London, 1557 p.
- MARIE-DARAGON A. (1993).
Essais d'activité antiparasitaire de 17 composés et du Mégazole dans la trypanosomose expérimentale à *T. b. brucei* de la souris. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*. 195 p.
- MESA-VALLE C.M., MORALEDA-LINDEZ V., CRACIUNESCU D., ALONSO M.P., OSUNA A. (1993).
In vitro action of new organometallic compounds against *Trypanosomatidae* protozoa. ECV. Editio Cantor Verlag . *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **43** (II) 9 1010-1013.
- MOENS F., DE WILDE M., NGATO K. (1984).
Essai de traitement au nifurtimox de la trypanosomiase humaine africaine. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* **64** 37-43.
- MESHNICK S.R., BROWN D., SMITH G. (1984).
Capacity of a Cis-diamine platinum(II)-polyglutamic acid complex to cure *Trypanosoma congolense* infections in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **3** 286-288.
- PEGG A.E. (1986).
Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.* **234** 249-262.
- PEPIN J., MILORD F., GUERN C., SCHECHTER P.j. (1987).
Difluoromethylornithine for arsenoresistant *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. *Lancet* **II** 1431-1432.
- PAGOT J. (1974).
Les races trypanotolérantes. IEMVT : Les moyens de lutte contre les Trypanosomes et leurs vecteurs. *C.R. Colloque de Paris (France)*, 12-15 mars, 235-248.
- REMY-KRISTENSEN A. PESSON B. (1993).
Mécanisme d'action des antiparasitaires, in LANDRY Y. et GIES J.P. *Pharmacologie moléculaire. Mécanisme d'action des médiateurs et des médicaments*, 2ème éd., Arnette, Paris, 800 p.

- RILEY C.M., STERNSON L.A., REPTA A.J.(1983).
High performance liquid chromatography of cis-platinum. *J. Pharm. Sci.* **72** 351-355.
- SINA G.C., TRIOLO N., CRAMET B., SUH-BANDY M. (1982).
L'adrénaline dans la prévention et le traitement des accidents de l'arsobalthérapie. A propos de 775 cas de T.H.A. dans les formations sanitaires du foyer de Fontem (R.U. du Cameroun). *Méd. Trop.* **42** 531-536.
- STANGELLINI A. (1988).
La trypanosomiase à *T. b. gambiense*: méthodes de lutte. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 637-644.
- TAELMAN H., MARCELIS L., SONNET J., KAZYYUMBA G., VAN DEN ENDEN E., WERY M., SCHECHTER P.J. (1988).
Traitement de la trypanosomiase humaine à *Trypanosoma brucei gambiense* par l'alpha-difluorométhylornithine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 578-588.
- TESQUET (1993).
Activité trypanocide et cinétique plasmatique du tetraphenylborate d'iridium-cyclooctadiène-pentamidine dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*, 73 p.
- TROUBAT (1993).
Activité trypanocide et cinétique plasmatique de l'hexachloroiridiate de stilbamidine dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*, 54 p.
- URQUART G.M. (1980).
The pathogenesis and immunology of African trypanosomiasis in domestic animals. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **74** 726-729.
- WAALKES T.P., DE VITA V.T. (1970).
The determination of Pentamidine in plasma, urine, and tissues. *J. Lab. Clin. Med.* **75** 871-878.
- WAALKES T.P., MABULU D.P. (1976).
Pharmacologic aspects of Pentamidine. *Nat. Cancer Instit.* **43** 171-177.
- WANG C.C. (1989).
Parasite pharmacology. In the biology of parasitism. England. P.T. and Sher A., Eds Alan R. Liss Inc., New York. 413-429.
- WERY M. (1995).
Protozoologie médicale. Agence francophone pour l'enseignement et la recherche. De Boeck Université ed., Bruxelles, 273 p.
- W.H.O.(1986).
La trypanosomiase africaine : épidémiologie et lutte. W.H.O., Service de Rapport Technique n°739.

WOLF J.G., MADAULE Y., LOISEAU P., GAYRAL P.(1984).

Arsénicaux antiparasitaires. Nouveaux dérivés de l'arsenic, leur préparation et leur application notamment comme médicaments antiparasitaires. Brevet n° FR 84-16-784 du 2 Novembre 1984.

YAKOUB A.A., LARS L.G., ORJAN E., URBAN H. (1995).

Handbook of drugs for tropical parasitic infections. Taylor and Francis ed., 2nd Ed., Londres, 179 p.

ZINSTAG J., BRUN R., CRACIUNESCU D.G., PARRONDO IGLESIAS E. (1991).

In vitro activity of organometallic complexes of Ir, Pt, and Rh on *Trypanosoma b. gambiense*, *T. b. rhodesiense* and *T. b. brucei*. *Trop. Med. Parasitol.* 42 41-44.

ECHEGUT Nathalie. ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DU PLATINE DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU MOUTON A *Trypanosoma brucei brucei* TRAITÉ PAR LE SELENIOCYANATE DE CIS-Pt PENTAMIDINE.

Université de Limoges, 1997. 64 p.

Le sélénocyanate de cis-Pt pentamidine a une activité trypanocide en phase lymphatico-sanguine, chez le mouton parasité par *Trypanosoma brucei brucei*. Ce composé est efficace après administration sous-cutanée d'une dose unique de 2 mg/kg, soit une dose en pentamidine de 0,58 mg/kg, dose inférieure à celle préconisée dans le traitement des trypanosomoses africaines.

La cinétique sérique du platine est caractérisée par une concentration maximale située entre la 6^{ème} et la 12^{ème} heure après l'injection, puis par un stockage dans les organes profonds, suivi par un relargage progressif dans le sang pendant au moins un mois.

Le produit étudié ne franchit pas la barrière hémato-méningée. Néanmoins, il pourrait être utilisé en prophylaxie des trypanosomoses africaines de l'animal. Une étude clinique serait intéressante à développer sur ce sujet.

MOTS-CLÉS. Trypanosomose africaine expérimentale. Modèle ovin. Sélénocyanate de cis-Pt pentamidine. Cinétique sérique du platine.

BON A IMPRIMER N° 9

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

ECHEGUT Nathalie. ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DU PLATINE DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU MOUTON A *Trypanosoma brucei brucei* TRAITÉ PAR LE SELENIOCYANATE DE CIS-Pt PENTAMIDINE.

Université de Limoges, 1997. 64 p.

Le sélénocyanate de cis-Pt pentamidine a une activité trypanocide en phase lymphatico-sanguine, chez le mouton parasité par *Trypanosoma brucei brucei*. Ce composé est efficace après administration sous-cutanée d'une dose unique de 2 mg/kg, soit une dose en pentamidine de 0,58 mg/kg, dose inférieure à celle préconisée dans le traitement des trypanosomoses africaines.

La cinétique sérique du platine est caractérisée par une concentration maximale située entre la 6^{ème} et la 12^{ème} heure après l'injection, puis par un stockage dans les organes profonds, suivi par un relargage progressif dans le sang pendant au moins un mois.

Le produit étudié ne franchit pas la barrière hémato-méningée. Néanmoins, il pourrait être utilisé en prophylaxie des trypanosomoses africaines de l'animal. Une étude clinique serait intéressante à développer sur ce sujet.

MOTS-CLÉS. Trypanosomose africaine expérimentale. Modèle ovin. Sélénocyanate de cis-Pt pentamidine. Cinétique sérique du platine.