



Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones

Mahama OUATTARA^{1*}, Drissa SISSOUMA², William YAVO³ et Mamidou W. KONE⁴

¹ Département de Chimie Thérapeutique, UFR Sciences des Pharmaceutiques,
Université Félix Houphouët-Boigny, 01 BP V 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Chimie Organique Structurale, UFR SSMT, Université Félix Houphouët-Boigny,
22 BP 582 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³ Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme, Institut National de Santé Publique de Côte d'Ivoire,
01 BP V 47 Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴ Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, 01 BP 1303 Abidjan, Côte d'Ivoire.

* Auteur correspondant, E-mail : mahama.ouattara@univ-fhb.edu.ci ; Tel : +225 08 74 10 23.

RESUME

Une série d'hybrides de chalcones (6a-6g) associant le noyau benzimidazole et le groupement arylpropénone a été synthétisée par condensation entre des méthylcétones à support benzimidazole et des arylaldéhydes. L'analogie cyclohexénone (6h) a par ailleurs été préparé à l'aide de l'acétoacétate d'éthyle. Les structures chimiques des composés ont été déterminées par spectrométries RMN et de masse ESI. Leur criblage antiplasmodial vis-à-vis d'isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensible et chloroquino-résistant montrent que la benzimidazolyl-chalcone est un excellent pharmacophore antiplasmodial. Les activités étaient paradoxalement toutes plus efficaces sur les isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistants que chloroquino-sensibles. Leur amélioration serait assujettie à l'introduction d'un chlore en C5 du benzimidazole et ne serait pas nécessairement liée, ni à la nature de l'azote pyrrolique du benzimidazole ni à la cyclisation de la propénone en cyclohexénone. La benzimidazolyl-chalcone (6e) avec une valeur de CI₅₀ de 5,63 µM, avait le meilleur profil antiplasmodial sur l'isolat de *P. falciparum* chloroquino-sensible. Le composé 6f avec des valeurs de CI₅₀ de 10,65 et 0,78 µM s'est révélé être la meilleure chalcone antiplasmodiale quel que soit le statut des isolats de *P. falciparum*. Ce dernier pourrait constituer une tête de série pour le développement de nouveaux agents antipaludiques.

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Benzimidazole, Chalcone, Activité antiplasmodiale, Chloroquino-résistance, *Plasmodium falciparum*.

INTRODUCTION

En dépit du recul actuel de la mortalité due au paludisme dans le monde grâce notamment à l'avènement des dérivés de l'artémisinine et de leur association aux antipaludiques classiques (OMS, 2013c, 2014a, 2014b), l'on risque cependant de se retrouver dans l'avenir sans autre traitement

efficace avec des conséquences catastrophiques. En effet, la situation s'aggrave essentiellement pour 2 raisons : les moustiques vecteurs du paludisme deviennent résistants aux insecticides employés pour les détruire et les parasites deviennent résistants aux médicaments antipaludiques utilisés pour traiter les patients. C'est le cas des foyers de

© 2015 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i3.48>

Plasmodium falciparum résistants à l'artémisinine identifiés dans la sous-région du Grand Mékong de la région Asie-Pacifique (OMS, 2010; Ashley et al., 2014). La mise en cause de la stratégie thérapeutique de combinaison à base d'artémisinine menace ainsi les grands progrès réalisés dans la lutte antipaludique et pourrait créer un pool de parasite de plus en plus difficile à traiter et à éliminer. Cette pharmacorésistance aux dérivés de l'artémisinine et sa probable propagation en Afrique sub-saharienne, où la plupart des décès se produisent, seraient un désastre en termes de santé publique et provoqueraient des millions de morts. Dans un tel contexte, la chimiothérapie par l'élaboration de nouvelles molécules antipaludiques susceptibles d'être plus performantes, s'avère essentielle car malgré les annonces de l'avènement d'un vaccin antimalarique efficace, celles-ci sont sans cesse repoussées pour des difficultés de mise au point (Sirima et al., 2011). C'est à cette fin que les travaux sur les chalcones et l'hétérocycle benzimidazole en tant que précurseurs pharmacochimiques potentiels de nouveaux antipaludiques ont été initiés. Le regain d'intérêt en chimie médicinale pour les chalcones ou 1,3-diphénylpropénones, est survenu depuis la mise en évidence de la forte potentialité antiplasmodiale de la licochalcone A par Chen et al., (1994) (Figure 1), un produit naturel isolé d'une réglisse chinoise. En effet, les chalcones posséderaient de bonnes propriétés anti-infectieuses qui pourraient être mises à profit pour l'élaboration de médicaments antiviraux, antimicrobiens et antiparasitaires dont des médicaments antipaludiques (Jain et Triveti, 2010; Bijo et al., 2014). Les chalcones déploieraient leurs activités antiplasmodiales par des mécanismes différents de ceux connus à savoir l'inhibition de la cystéine protéase plasmodiale, l'inhibition de l'hydrolyse de la globine ou encore l'inhibition de la formation d'hémozoïne (Dominguez et al., 2005). Quant au benzimidazole, du fait de son analogie structurale avec la purine, il constitue le noyau diaza-hétérocyclique de très nombreux

médicaments notamment des médicaments anthelminthiques (Jacobs et Taylor, 2001). Par ailleurs, l'on lui attribue des propriétés antiplasmodiales intéressantes depuis les essais de criblage systématique des benzimidazolés anthelminthiques (Mebendazole, Albendazole) (Dow et al., 2000; Canete et al., 2009) (Figure 1), et surtout de celui de l'Astémizole (Figure 1), médicament antihistaminique (Chong et al., 2006). Aussi, nous proposons dans ce travail, la synthèse puis l'évaluation des activités antiplasmodiales de nouveaux hybrides de chalcones obtenus par suite de la juxtaposition du benzimidazole en sa position 2 avec l'enchaînement arylpropénone des chalcones (Ouattara et al., 2011). Il s'agira également dans ce travail d'identifier à la suite d'une analyse de type relations structure-activité, des têtes de série pharmacochimique dans la perspective de leur développement en tant que candidat-antipaludique.

MATERIEL ET METHODES

Chimie

Pour tous les composés caractérisés, les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton ^1H (300MHz) et du carbone ^{13}C (75 MHz) ont été enregistrés sur un appareil Brücker Avance 300. Le tétraméthylsilane (TMS) est utilisé comme référence des déplacements exprimés en ppm. La description des spectres RMN fait appel aux symboles suivant : singulet = s; doublet = d; doublet dédoublé = dd; triplet = t; quadruplet = q; quintuplet = quint.; multiplet = m. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre JEOL JMS DX300 en mode ESI (ionisation par électrospray/quadrupolaire). Les points de fusion (PF) ont été déterminés au moyen d'un banc de Kofler et ne sont pas corrigés. Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaques de silice Macherey-Nagel Sil G/UV₂₅₄ ou sur alumine Macherey-Nagel ALOX N/UV₂₅₄. Les produits sont ensuite révélés à l'iode. Les solvants et les réactifs y compris les

benzaldéhydes utilisés, proviennent de chez Acros Organics (France) ou de chez Aldrich (France). La Chloroquine, médicament antipaludique, fourni sous forme de poudre pure, provient de chez Sigma Chemical Co. (USA).

Méthode générale de préparation des 2-acétylbenzimidazoles 4a-c

A une solution d'*o*-phénylènediamine convenablement choisi (4,8 g ; 42 mmol) dans 50 mL d'une solution d'acide chlorhydrique 4N est ajouté de l'acide lactique (4,5 mL ; 60 mmol). La solution est chauffée à reflux pendant 45 mn. Le mélange réactionnel refroidi est ensuite neutralisé par de l'ammoniaque. Le précipité formé est filtré, lavé avec de l'eau et recristallisé avec le même solvant pour donner 5,94 g de 2-hydroxyéthylbenzimidazole. Ce dernier (3,5 g ; 22 mmol) en solution dans 30 mL d'acide acétique avec 10 mL d'une solution aqueuse de bichromate de potassium (3 g, 11 mmol) est chauffé à reflux durant 45 mn. Le mélange réactionnel refroidi est ensuite neutralisé avec de l'ammoniaque pour donner un précipité. Ce dernier est filtré puis repris par du chloroforme. La phase organique est ensuite lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium puis évaporée sous pression réduite. Le résidu est finalement purifié par chromatographie sur gel de silice (élution : CH₂Cl₂/AcOEt : 95:5).

Méthode de préparation du *N*-benzyl-2-acétylbenzimidazole 4d

A une solution froide (0-5°C) de 2-acétylbenzimidazole 4a dans 25 mL de Diméthylformamide (DMF), sont ajoutés par petites portions 1,1éq (34,38 mmol) d'hydrure de sodium. Le mélange est laissé sous agitation pendant une heure, puis à la suspension froide sont ajoutés goutte à goutte 1,1éq (34,38 mmol) de chlorure de benzyle. Le mélange réactionnel est laissé à température ambiante et sous agitation pendant 20 h. Après quoi la solution est versée sur de la glace pulvérisée. Le précipité formé est filtré, séché puis recristallisé avec un

mélange éthanol/eau (2:3) pour donner le composé *N*-benzylé 4d.

Méthode générale de préparation des benzimidazolyl-chalcones 6a-h

A une solution éthanolique de soude (75 mmol de soude dans 40 mL d'éthanol) de 2-acétylbenzimidazoles 4a-d (1,5 g, 10 mmol), est ajouté l'arylaldehyde (10,1 mmol) convenablement choisi. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 à 5 h. La neutralisation du milieu avec une solution d'acide acétique à 30% donne un précipité qui est filtré, séché puis recristallisé.

Méthode de préparation de l'analogue cyclohexénone 6h

A une solution d'éthanol refroidie vers -10 °C de la chalcone 6a, sont ajoutés 1,2 éq d'acétoacétate d'éthyle. Au mélange, est additionné goutte à goutte 1 mL de pipéridine. La solution est ensuite laissée sous agitation jusqu'à ce que la température revienne à 25 °C (environ 3 h). Le précipité obtenu est essoré et séché puis purifié par recristallisation dans un mélange éthanol/toluène (1:4).

Méthode de criblage antiplasmodial

Les essais d'évaluation des activités antiplasmodiales des benzimidazolyl-chalcones (6a-6h) ont été réalisés suivant le dosage colorimétrique de la production de la protéine riche en histidine 2 (HRP2) par ELISA (WorldWide, 2011; Noedl et al., 2004). Ce dosage de HRP2 qui reflète la croissance spécifique de *Plasmodium falciparum*, a été réalisé vis-à-vis de deux isolats cliniques de *P. falciparum* : l'un était sensible à la chloroquine et l'autre était résistant à la chloroquine. Pour se faire, nous avons utilisé le kit malaria Ag CELISA™. A partir du prélèvement de sang parasité, nous avons préparé un inoculum (sang parasité lavé + RPMI 1640 avec HEPES et bicarbonate de Na + BSA +/- GRS O lavé). Un échantillon d'inoculum (200 µl) en duplicata a été mis en culture sur des plaques contenant au préalable

50 µL de chalcones à tester à différentes concentrations ($C_4 = 50 \mu\text{g}$, $C_3 = 10 \mu\text{g/mL}$, $C_2 = 2 \mu\text{g/mL}$, $C_1 = 0,4 \mu\text{g/mL}$) et de chloroquine ($C_1 = 12,5 \mu\text{g/mL}$, $C_2 = 25 \mu\text{g/mL}$, $C_3 = 50 \mu\text{g/mL}$, $C_4 = 100 \mu\text{g/mL}$, $C_5 = 200 \mu\text{g/mL}$, $C_6 = 400 \mu\text{g/mL}$, $C_7 = 800 \mu\text{g/mL}$). Après 72 h d'incubation à 37°C, l'activité antiplasmodiale des chalcones a été déterminée par la méthode colorimétrique à l'HRP2.

RESULTATS

Chimie

Pour préparer les chalcones à support benzimidazole 6a-6g (Tableau 1), nous avons utilisé la condensation de Claisen-Schmidt entre des méthylcétone et des aldéhydes. L'accès aux dérivés cétoniques à savoir les 2-acétylbenzimidazoles (Figure 2) a été réalisé en deux étapes à partir de l'*o*-phénylènediamine ou d'un de ses dérivés (1) convenablement choisi. En effet, la condensation du composé 1 avec l'acide lactique 2 selon la méthode de Phillips (1928) conduit aux intermédiaires 1-(1*H*-benzimidazol-2-yl) éthanols (3a-3c). L'oxydation chromique de ces derniers suivie de leur neutralisation à l'aide de l'ammoniaque permet d'obtenir les dérivés cétoniques à supports benzimidazole 4a-4c attendus avec des rendements variant entre 65 à 75%.

2-acétylbenzimidazole 4a

Rendement = 72%. RMN ¹H (DMSO, δ ppm) : 13,31 (s, 1H, N-H) ; 7,81 (1H, d, J = 7,8 Hz, H_{ar}) ; 7,54 (1H, d, J = 7,8 Hz, H_{ar}) ; 7,30-7,38 (2H, m, H_{ar}) ; 2,70 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (DMSO, δ ppm) : 191,49 (C=O), 148,14 (C=N), 142,73 (C_{ar}), 134,60 (C_{ar}), 125,37 (C_{ar}), 122,94 (C_{ar}), 121,02 (C_{ar}), 112,84 (C_{ar}), 25,97 (CH₃). ES⁺ SM : 161 [M+H⁺].

5-Fluoro-2-acétyl benzimidazole 4c

Rendement = 65%. RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 13,40 (s, 1H, N-H) ; 7,71 (1H, s, H_{ar}) ; 7,43 (1H, d, H_{ar}) ; 7,23 (1H, m, H_{ar}) ; 2,68 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 191,11 (C=O) ; 161,28 (C_{ar}) ; 149,32

(C=N) ; 145,22 (C_{ar}) ; 138,34 (C_{ar}) ; 122,40 (C_{ar}) ; 117,38 (C_{ar}) ; 116,94 (C_{ar}) ; 25,92 (CH₃).

5-Chloro-2-acétylbenzimidazole 4b

Rendement = 75%. RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 13,40 (s, 1H, N-H) ; 7,72 (1H, s, H_{ar}) ; 7,43 (1H, d, H_{ar}) ; 7,21 (1H, m, H_{ar}) ; 2,68 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 191,16 (C=O) ; 161,22 (C_{ar}) ; 149,32 (C=N) ; 145,0 (C_{ar}) ; 138,75 (C_{ar}) ; 122,40 (C_{ar}) ; 117,08 (C_{ar}) ; 116,02 (C_{ar}) ; 25,93 (CH₃).

A partir de la méthylcétone 4a, nous avons procédé à une *N*-benzylation de l'azote pyrrolique de son noyau benzimidazole (Figure 2). La réaction a eu lieu à l'aide du chlorure de benzyle et de l'hydrure de sodium. Par suite de purification par recristallisation, le dérivé benzylé 4d a été isolé avec un rendement de 71%.

N-benzyl-2-acétylbenzimidazole 4d

RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 7,94 (1H, m, H_{Ar}) ; 7,44 (3H, m, H_{Ar}) ; 7,27 (3H, m, H_{Ar}) ; 7,15 (2H, m, H_{Ar}) ; 5,87 (2H, s, CH₂) ; 2,85 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 193,15 (C=O) ; 146,76 (C=N) ; 141,77 (C_{Ar}) ; 136,66 (2C_{Ar}) ; 136,60 (C_{Ar}) ; 128,75 (C_{Ar}) ; 127,74 (C_{Ar}) ; 126,80 (C_{Ar}) ; 126,27 (C_{Ar}) ; 123,94 (C_{Ar}) ; 122,04 (C_{Ar}) ; 111,29 (2C_{Ar}) ; 48,67 (CH₂) ; 28,25 (CH₃). SM [IE, 70 eV, m/Z (rel, int)] : 250 ([M]⁺, 100) ; 207 ([M-CH₃CO]⁺, 27) ; 91 ([CH₂-Φ]⁺, 100).

La préparation à proprement parler des benzimidazolyl-chalcones 6a-6g, (Figure 3) a consisté à soumettre durant 4 à 5 h, les méthylcétone à support benzimidazole (4a-4d) à l'action de divers aldéhydes aromatiques (5) au sein d'un mélange éthanolique de soude à 7,5 équivalents. La neutralisation du milieu réactionnel par une solution d'acide acétique diluée a permis d'isoler les composés sous forme de précipité. La purification de ces derniers par recristallisation au sein de solvants convenablement choisis a conduit aux chalcones 6a-6g dans des proportions de 50 à 78%.

1-(1H-benzimidazol-2-yl)-3-phénylprop-2-én-1-one 6a

Rendement = 78%. PF = 216°C (Toluène). RMN ¹H (DMSO, δ ppm) : 14 (1H, s, N-H) ; 8,28 (1H, d, J = 16 Hz, CH=C \overline{H}) ; 8,15 (1H, d, J = 16 Hz, C \overline{H} =CH) ; 8,02 (2H, m, H_{ar}) ; 7,90 (2H, m, H_{ar}) ; 7,2 (2H, m, H_{ar}) ; 7,09 (2H, m, H_{ar}) ; 7,06 (1H, m, H_{ar}). RMN ¹³C (DMSO, δ ppm) : 181,13 (C=O), 149,49 (C=N) ; 143,97 (CH=C \overline{H}) ; 139,87 (C_{ar}) ; 134,75 (2C_{ar}) ; 128,77 (C_{ar}) ; 124,22 (2C_{ar}) ; 122,51 (2C_{ar}) ; 122,70 (2C_{ar}) ; 121,69 (C \overline{H} =CH) ; 117,03 (2C_{ar}). ES⁺ SM: 249 [M+H⁺].

1-(1H-benzimidazol-2-yl)-3-(pyridin-3-yl)prop-2-én-1-one 6b

Rendement = 50%. PF = 244°C (Toluène). RMN ¹H (DMSO, δ ppm) : 13,60 (1H, s, N-H) ; 9,0 (1H, d, J = 2 Hz, H_{ar}) ; 8,80 (1H, d, J = 2 Hz, H_{ar}) ; 8,65 (1H, m, H_{ar}) ; 8,35 (1H, m, H_{ar}) ; 8,25 (1H, d, J = 16,2 Hz, CH=C \overline{H}) ; 8,05 (1H, d, J = 16,2 Hz, C \overline{H} =CH) ; 7,60 (2H, m, H_{ar}) ; 7,35 (2H, m, H_{ar}). RMN ¹³C (DMSO, δ ppm) : 182,13 (C=O) ; 154,02 (C_{ar}) ; 150,77 (C_{ar}) ; 150,09 (C=N) ; 144,27 (CH=C \overline{H}) ; 139,87 (C_{ar}) ; 134,75 (2C_{ar}) ; 124,22 (C_{ar}) ; 122,51 (2C_{ar}) ; 121,69 (C \overline{H} =CH) ; 120,89 (C_{ar}) ; 117,03 (2C_{ar}). ES⁺ SM : 250 [M+H⁺].

1-(1H-benzimidazol-2-yl)-3-(2-furyl)prop-2-én-1-one 6c

Rendement = 72%. PF = 213-215 (Lavage hexane). RMN ¹H (DMSO, δ ppm) : 13,92 (1H, s, NH) ; 8,71 (1H, d, J = 16,2 Hz, COCH=C \overline{H}) ; 8,55 (1H, d, H_{ar}) ; 8,46-8,86 (4H, m H_{ar}) ; 7,97 (1H, d, J = 16,2 Hz, COC \overline{H} =CH) ; 7,58 (1H, d H_{ar}) ; 7,50 (1H, m H_{ar}). RMN ¹³C (DMSO, δ ppm) : 183,03 (C=O) ; 161,52 (C_{ar}) ; 151,89 (C=N) ; 145,02 (CH_{ar}) ; 141,25 (COCH=C \overline{H}) ; 138,52 (2C_{ar}) ; 134,38 (COC \overline{H} =CH) ; 124,01 (2CH_{ar}) ; 117,38 (2CH_{ar}) ; 114,55 (CH_{ar}) ; 105,55 (CH_{ar}) ; MS (m/z) : 239 (M⁺)

1-(1-benzyl-1H-benzimidazol-2-yl)-3-phénylprop-2-én-1-one 6d

Rendement = 54%. PF = 212°C (Lavage dans l'hexane). RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 8,25 (1H, d, J = 15,8 Hz, CH=C \overline{H}) ; 6,5- 7,9 (15H, m, H_{Ar}) ; 5,8 (2H, m, CH₂).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 182,8 (C=O) ; 141,20 (C=N) ; 136,57 (CH=C \overline{H}) ; 136,07 (2C_{Ar}) ; 128,69 (C_{Ar}) ; 128,48 (C_{Ar}) ; 127,99 (C_{Ar}) ; 127,78 (C_{Ar}) ; 127,64 (C_{Ar}) ; 126,55 (C_{Ar}) ; 126,24 (C_{Ar}) ; 125,79 (C_{Ar}) ; 123,27 (2C_{Ar}) ; 122,01 (C \overline{H} =CH) ; 121,36 (C_{Ar}) ; 110,85 (2C_{Ar}) ; 48,59 (CH₂). SM: [EI, 70 eV, m/z (rel, int)]: 188 ([M- (O=C-CH=CH-Φ)]⁺, 100) ; 91 ([ΦCH₂]⁺, 100). [IC, NH₃, m/z] : 339 ([M+H]⁺, 100).

1-(5-fluoro-1H-benzimidazol-2-yl)-3-phénylprop-2-én-1-one 6e

Rendement = 77%. PF = 220°C (eau/éthanol 1:1). RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 13,50 (1H, s, N-H) ; 8,10 (1H, d, J = 16 Hz, CH=C \overline{H}) ; 7,96 (1H, d, J = 16 Hz, C \overline{H} =CH) ; 7,86 (1H, m, H_{ar}) ; 7,76 (1H, m, H_{ar}) ; 7,47-7,52 (4H, m, H_{ar}) ; 7,23 (1H, m, H_{ar}). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 181,19 (C=O) ; 158,24 (C_{ar}) ; 150,25 (C=N) ; 144,50 (CH=C \overline{H}) ; 135,45 (C_{ar}) ; 133,20 (C_{ar}) ; 130,90 (C_{ar}) ; 125,70 (C_{ar}) ; 124,22 (2C_{ar}) ; 122,70 (2C_{ar}) ; 121,69 (C \overline{H} =CH) ; 119,03 (C_{ar}) ; 117,03 (C_{ar}). SM: [IC, NH₃, m/z] : 267 ([M+H]⁺, 100).

1-(5-chloro-1H-benzimidazol-2-yl)-3-phénylprop-2-én-1-one 6f

Rendement = 78%. PF = 228°C (eau/éthanol (1:1)). RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 13,50 (1H, s, N-H) ; 8,10 (1H, d, J = 16 Hz, CH=C \overline{H}) ; 7,97 (1H, d, J = 16 Hz, C \overline{H} =CH) ; 7,85 (1H, m, H_{ar}) ; 7,76 (1H, m, H_{ar}) ; 7,46-7,51 (5H, m, H_{ar}) ; 7,25 (1H, m, H_{ar}). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm) : 181,19 (C₁) ; 153,72 (C=N) ; 143,97 (CH=C \overline{H}) ; 143,82 (C_{ar}) ; 142,55 (C_{ar}) ; 141,29 (C_{ar}) ; 139,90 (C_{ar}) ; 128,77 (C_{ar}) ; 124,61 (C_{ar}) ; 124,22 (2C_{ar}) ; 122,51 (C_{ar}) ; 122,70 (2C_{ar}) ; 121,69 (C \overline{H} =CH) ; 117,03 (C_{ar}). SM: [IC, NH₃, m/z] : 283 ([M+H]⁺, 100)

1-(5-chloro-1H-benzimidazol-2-yl)-3-pyridin-3-ylprop-2-én-1-one 6g

Rendement = 61%. PF = 188°C. RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm) : 13,55 (1H, s, N-H) ; 9,36 (1H, s, H_{ar}) ; 9,22 (1H, d, H_{ar}) ; 8,57 (1H, s, H_{ar}) ; 8,46 (1H, d, H_{ar}) ; 8,29 (1H, d, H_{ar}) ; 8,27 (1H, d, COC \overline{H} =CH) ; 8,22 (1H, d, H_{ar}) ; 8,05 (1H, m, H_{ar}) ; 7,55 (1H, d, COCH=C \overline{H}). RMN ¹³C (DMSO, δ ppm) : 184,16 (C=O) ;

154,31 (C=N); 149,37 (COCH=CH); 148,56 (2CH_{ar}); 137,44 (2C_{ar}); 132,43 (C_{ar}); 131,72 (CH_{ar}); 127,41 (CCl); 124,54 (CH_{ar}); 123,40 (CH_{ar}); 122,87 (COCH=CH); 120,02 (CH_{ar}); 118,22 (CH_{ar}). ES⁺ SM: 284 [M+H⁺].

Pour accéder à l'analogue cyclohexénone 6h de la chalcone 6a (Tableau 1), nous avons soumis ce dernier à l'action de l'acétoacétate d'éthyle en milieu éthanolique de pipéridine à froid. Le précipité obtenu a été purifié par recristallisation dans un mélange éthanol/toluène (1:4) pour donner le dérivé de la cyclohexénone 6h (Figure 3).

4-(1H-benzimidazol-2-yl)-2-oxo-6-phénylcyclohex-3-én-1-carboxylate d'éthyle 6h

Rendement = 83%. PF = 227-229°C. RMN ¹H (DMSO-d₆, δ ppm): 12,40 (1H, s, NH); 7,14-7,57 (9H, m, H_{Ar}); 6,27 (1H, s, C=CH); 4,26 (1H, d, CHCO); 3,93 (2H, m, OCH₂); 3,78 (1H, d, CH₂ cyclique); 3,44 (1H, d, CH₂ cyclique); 2,67 (1H, m, CHΦ); 0,97 (3H, t, CH₃). RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ ppm): 204,20

(OC=O); 168,77 (C=O); 158,57 (C=CH); 142,77 (C_{Ar}); 142,30 (C=N); 134,07 (2C_{Ar}); 128,51(C=CH); 127,41 (C_{Ar}); 126,87 (C_{Ar}); 122,05 (2C_{Ar}); 121,15 (C_{Ar}); 118,65 (2C_{Ar}); 111,45 (2C_{Ar}); 72,95 (CHCO); 61,85(OCH₂); 59,91 (CH₂ cyclique); 51,14 (CHΦ); 13,94 (CH₃). SM: [IC, NH₃, m/z]: 360 ([M]⁺, 100).

Activité antiplasmodiale

Le dosage de HRP2 de *P. falciparum* a permis d'obtenir des concentrations inhibitrices 50 médianes (CI₅₀), traductrices des activités antiplasmodiales des benzimidazolyl-chalcones. Celles-ci ont été exprimées en micromolaire (μM). Par ailleurs, afin d'apprécier le niveau d'activité antiplasmodiale desdits composés, nous avons fait appel à la classification des chalcones antipaludiques établie par Liu et al. (2003). Les résultats de l'évaluation des activités antiplasmodiales (CI₅₀) et les niveaux d'activité antiplasmodiale des chalcones à support benzimidazole ont été rassemblés dans le Tableau 2.

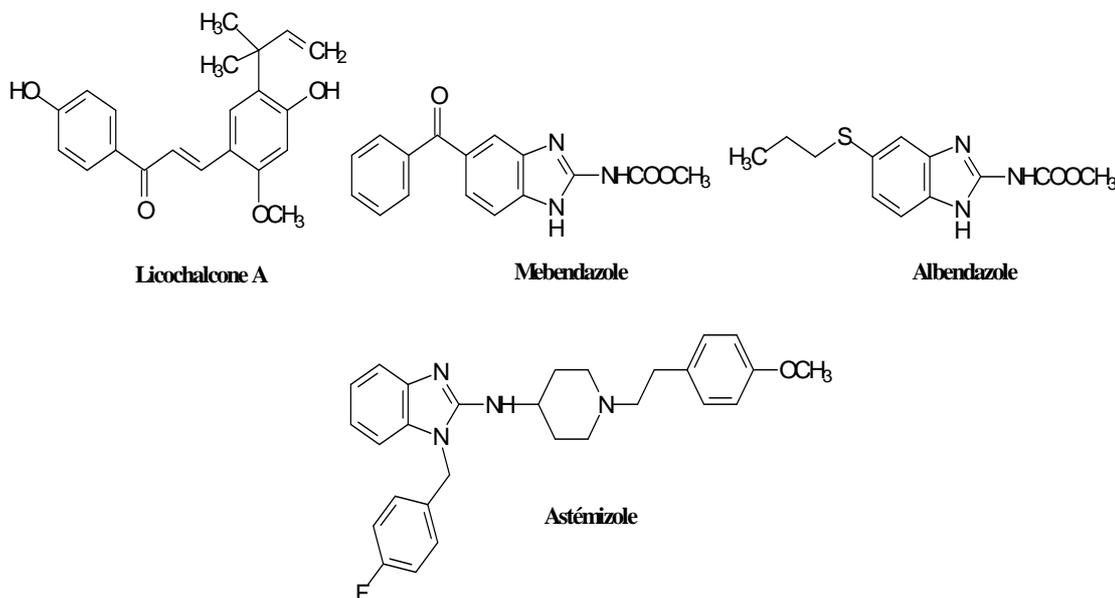
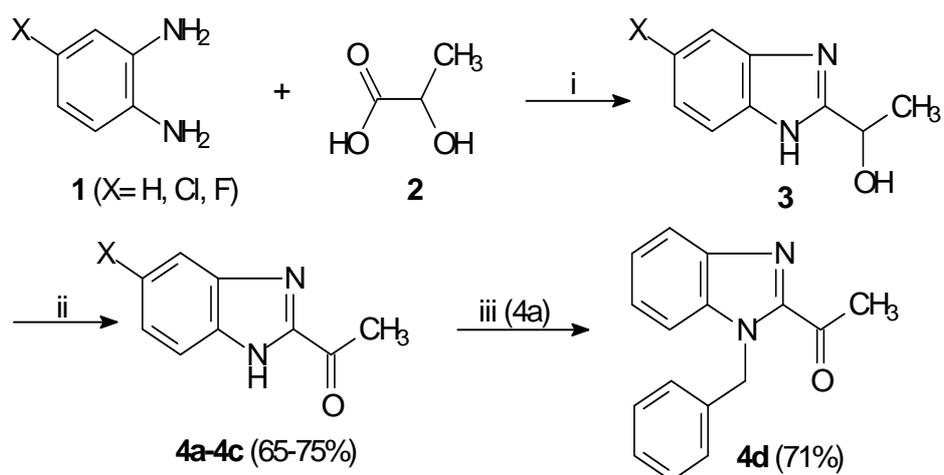
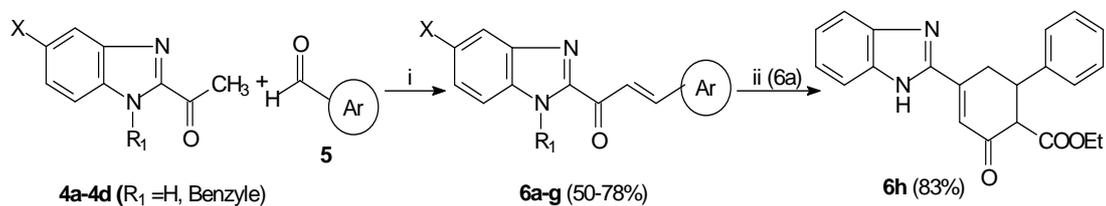


Figure 1 : Structures chimiques de quelques composés antiplasmodiaux.



Réactifs et conditions: (i) HCl 4N, NH₄OH (ii) K₂Cr₂O₇/AcOH, NH₄OH
(iii) Chlorure de benzyle, NaH/DMF.

Figure 2 : Synthèse des méthylcétones à support benzimidazole (4a-4d).



Réactifs et conditions: (i) EtOH/NaOH, AcOH 30% (ii) Acétoacétate d'éthyle, EtOH/pipéridine

Figure 3 : Synthèse des benzimidazolyl-chalcones (6a-6g) et de la cyclohexénone (6h)

Tableau 1 : Structures chimiques des benzimidazolyl-chalcones (6a-6g) et de l'analogue cyclohexénone (6h).

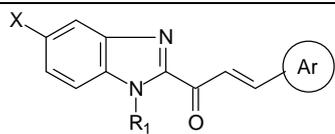
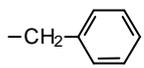
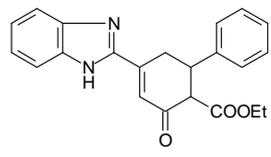
Composés			
	R ₁	X	Ar
6a	H	H	
6b	H	H	
6c	H	H	
6d		H	
6e	H	F	
6f	H	Cl	
6g	H	Cl	
6h			

Tableau 2 : Activités antiplasmodiales *in vitro* des benzimidazolyl-chalcones (6a-6g) et de l'analogue cyclohexénone (6h) vis-à-vis d'isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensible et chloroquino résistant.

Composés	Structures	Isolat de <i>P. falciparum</i> chloroquino-sensible		Isolat de <i>P. falciparum</i> chloroquino-résistant	
		CI ₅₀ (μM)	Niveau d'activité antiplasmodiale*	CI ₅₀ (μM)	Niveau d'activité antiplasmodiale*
6a		44,38	C	6,81	A
6b		43,97	C	3,73	A
6c		45,33	C	8,23	A
6d		31,35	C	2,78	A
6e		5,63	A	35,15	C
6f		10,65	B	0,78	A
6g		29,61	C	22,42	C
6h		39,62	C	3,19	A

* Niveau d'activité antiplasmodiale des chalcones selon Liu et al. (2003) : **A** (Très bonne) : CI₅₀ < 10 μM ; **B** (Bonne) : CI₅₀ = [10-20 μM] ; **C** (Modérée) : CI₅₀ = [20-50 μM] ; **D** (Faible) : CI₅₀ = [50-100 μM] ; **E** (Très faible) : CI₅₀ > 100 μM

DISCUSSION

Les résultats de l'évaluation des activités antiplasmodiales des benzimidazolyl-chalcones 6a-6h (Tableau 2) permettent d'aborder trois types d'analyse pharmacochimiques.

Niveau d'activité antiplasmodiale des benzimidazolyl-chalcones

Les activités antiplasmodiales (CI₅₀) obtenues montrent que quel que soit le statut chloroquino-sensible ou chloroquino-résistant des isolats de *Plasmodium falciparum*, toutes les benzimidazolyl-chalcones (6a-6h) présentent, selon la classification de Liu et al. (2003), des activités antiplasmodiales jugées de « modérées ou C », de « bonnes ou B » ou encore de « très bonnes ou A » (CI₅₀ = 45,33 - 0,78 µM).

Le niveau d'activité antiplasmodiale sur l'isolat chloroquino-sensible était modéré pour six chalcones (CI₅₀ = 45,33 - 29,61 µM) sauf ceux des composés 6e et 6f qui avaient respectivement des activités jugées très bonnes (CI₅₀ = 5,63 µM) et bonnes (CI₅₀ = 10,65 µM). A l'inverse sur l'isolat chloroquino-résistant, l'on obtient majoritairement (six chalcones) de très bonnes activités antiplasmodiales (CI₅₀ = 8,23 - 0,78 µM) sauf avec les composés 6e et 6g qui avaient des activités antiplasmodiales modérées (CI₅₀ = 35,15 et 22,42 µM). Cette inversion d'efficacité antiplasmodiale des benzimidazolyl-chalcones vis-à-vis des isolats chloroquino-sensibles et chloroquino-résistants de *P. falciparum* est inattendue. En effet, l'on devrait plutôt retrouver une meilleure efficacité des composés sur l'isolat chloroquino-sensible que sur l'isolat de *P. falciparum* chloroquino-résistant (Shweta et al., 2013). Le profil hybride de la chalcone serait favorable à une meilleure activité sur les isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistants. Une telle inversion d'efficacité antiplasmodiale a également été observée par Wanare et al. (2010) au cours de leur étude sur d'autres hybrides de chalcone. Un début d'explication pourrait venir de leur possible spécificité d'action vis-à-vis des facteurs de

résistances plutôt que ceux à l'origine de la sensibilité des plasmodies aux médicaments antipaludiques. L'on pourrait également s'orienter vers de possibles modes d'action de ces chalcones non pas sur des enzymes à fonction thiol (Awasthi et al., 2009) mais plutôt vers un possible mécanisme d'action par inhibition du fumarate réductase de *P. falciparum* comme c'est le cas avec la Licochalcone A (Fumika et al., 2005). Au final, la benzimidazolyl-chalcone 6e (CI₅₀ = 5,63 µM), avait un meilleur profil antiplasmodial vis-à-vis de l'isolat de *P. falciparum* chloroquino-sensible. Le composé 6f avec une CI₅₀ de 0,78 µM s'est révélé être la meilleure chalcone antiplasmodiale sur l'isolat de *P. falciparum* chloroquino-résistant. Par ailleurs, quel que soit le statut des isolats de *P. falciparum*, cette même chalcone 6f, présente le meilleur profil antiplasmodial.

Pertinence de la stratégie de mise au point de molécules hybrides anti-infectieuses par juxtaposition d'entités bioactives

Les benzimidazolyl-chalcones ont été conçues par suite de la juxtaposition du noyau benzimidazole et de l'enchaînement arylpropénone des chalcones. Ces deux entités ayant auparavant prouvées leurs fortes potentialités antiplasmodiales. Aussi le composé 6a directement issu dudit concept pharmacochimique par remplacement du phényle en position 1 de la 1,3-diphénylpropénone ou chalcone par le benzimidazole, a également présenté d'excellentes propriétés antiplasmodiales. Effectivement, vis-à-vis de l'isolat chloroquino-résistant de *P. falciparum* le composé 6a a présenté une «très bonne activité» (CI₅₀ = 6,81 µM) même si celle-ci demeure «modérée» sur l'isolat de *P. falciparum* chloroquino-sensible (CI₅₀ = 44,38 µM). Une telle modulation chimique par introduction d'hétérocycle diazoté de nature benzimidazole semble donc être propice à l'induction des activités antiplasmodiales attendues. Les propriétés antiplasmodiales du noyau benzimidazole seraient assurément en

rapport avec sa nature d'hétérocyclique basique, caractéristique chimique nécessaire à l'induction de propriétés antiplasmodiales comme c'est le cas chez tous les antipaludiques à noyau quinoléine (Quinine, Amodiaquine, Chloroquine). En effet, cette basicité pourrait favoriser l'accumulation de nos chalcones dans la vacuole nutritive acide, ce qui serait en accord avec les activités antiplasmodiales d'hybrides de chalcone à support quinoléine (Dominguez et al., 2001; Sharma et al., 2009). Aussi, le concept pharmacochimique de mise au point de nouvelles molécules hybrides par juxtaposition d'entités bioactives demeure effectivement une excellente stratégie de création de nouveaux agents anti-infectieux (Ouattara et al., 2011; Meunier, 2011; Sissouma et al., 2011).

Modulation des activités antiplasmodiales de la benzimidazolyl-chalcone 6a

Les essais d'améliorations des activités antiplasmodiales du composé **6a** ont consisté à introduire soit sur le noyau benzimidazole en position 5 des entités halogénées de type Cl, F ou encore à introduire un groupement benzyle sur l'azote pyrrolique du benzimidazole. Au niveau de la propénone, la principale variation entreprise a consisté en sa cyclisation en cyclohexénone. Quant à l'homocycle benzénique de l'enchaînement arylpropénone, l'on la remplacé par des hétéroaryles de nature pyridinique ou furanique. Ces variations structurales entreprises autour de la chalcone **6a** permettent d'établir que le remplacement de l'homocycle benzénique de la propénone par une 3-pyridinyle (**6b**) ou un 2-furanyle (**6c**) n'améliore pas significativement les activités antiplasmodiales. En effet, de façon globale, l'on obtient toujours des activités modérées et de très bonnes activités antiplasmodiales respectivement sur les isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensibles et chloroquino-résistants comme avec le composé **6a**. Toutefois il est bon de noter que la présence de la pyridine (composé **6b**) en termes de CI_{50} , a permis de multiplier par deux l'efficacité

antiplasmodiale ($CI_{50} = 3,73 \mu M$) vis-à-vis des isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistants.

La *N*-benzylation de l'azote pyrrolique du benzimidazole (composé **6d**) révèle que comparativement aux activités de la chalcone **6a**, il n'y a pas d'impact significatif tant sur les isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensibles que chloroquino-résistants. Cependant, là aussi, l'on assiste, en termes de CI_{50} a une efficacité antiplasmodiale multipliée par deux vis-à-vis des isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistants (chalcone **6d**: $CI_{50} = 2,78 \mu M$). Les activités antiplasmodiales ne sont pas nécessairement liées à la nature secondaire (Mebendazole, Albendazole) ou tertiaire (Asthémizole) de l'azote pyrrolique du benzimidazole.

L'introduction en position 5 d'un atome de fluor sur le noyau benzimidazole (composé **6e**) a entraîné une inversion d'efficacité antiplasmodiale sur les isolats de *P. falciparum*, puisque jusqu'à présent, les chalcones étaient toutes plus efficaces sur isolats chloroquino-résistants que sur isolats chloroquino-sensibles. Le composé **6e** avec une CI_{50} de $5,63 \mu M$ est effectivement 8 fois plus efficace que son analogue **6a** sur les isolats de *P. falciparum* chloroquino sensible. Par contre, sur les isolats chloroquino-résistant ce même composé **6e** (CI_{50} de $35,15 \mu M$) est 5 fois moins efficaces que son analogue non fluoré **6a**.

A l'inverse du fluor, la présence d'un atome de chlore en C5 du benzimidazole (composé **6f**), concourt à l'exaltation des activités antiplasmodiales tant sur isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensible ($CI_{50} = 10,65 \mu M$) que chloroquino-résistant ($CI_{50} = 0,78 \mu M$). Comparativement à son analogue non chloré **6a**, la présence du chlore en C5 du benzimidazole (composé **6f**) a effectivement contribué à l'amélioration des activités antiplasmodiales respectivement d'un facteur de 4 et 9 vis-à-vis des isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensible et chloroquino-résistant. Même si comparativement à l'efficacité antiplasmodiale sur isolats chloroquino-sensible, le dérivé fluoré **6e** est 2 fois plus

performant, il n'en demeure que vis-à-vis des *P. falciparum* chloroquino-résistants le composé chloré 6f est de loin 7 fois plus efficace. Comme en série des benzimidazolés anthelminthiques, le blocage du site potentiel de métabolisation C5 du noyau benzimidazole (Velík et al., 2004) serait également indispensable à l'induction de bonnes performances antiplasmodiales en série des benzimidazolyl-chalcones. De plus, au regard du profil chimique des quinoléines antipaludiques, l'on pourrait suggérer que le groupement 5-chlorobenzimidazole se comporterait comme un pharmacophore antiplasmodiale à l'instar de la 7-chloroquinoléine présente dans la structure de l'Amodiaquine et de la Chloroquine.

Afin d'induire un degré de basicité supplémentaire comme dans le cas du composé 6b, nous avons, tout en maintenant l'atome de chlore en C5 du benzimidazole et dont la présence a été bénéfique aux activités antiplasmodiales, remplacé l'homocycle benzénique de la propénone par une 3-pyridinyle (composé 6g). Une telle variation structurale a contre toute attente, entraîné une perte des activités antiplasmodiales sur tout type d'isolat de *P. falciparum* ($CI_{50} = 29,61$ et $22,42 \mu M$). La présence concomitante du chlore en C5 du benzimidazole et du noyau pyridine sur la propénone ne serait pas favorable à l'amélioration des activités antiplasmodiales attendues ; celles-ci demeurent modérées quel que soit le statut des isolats de *P. falciparum*.

L'introduction d'une contrainte configurationnelle par cyclisation de la propénone en cyclohexénone (composé 6h), ne serait pas nécessaire pour améliorer substantiellement les activités antiplasmodiales. Comme dans le cas du remplacement de l'homocycle benzénique de la propénone par une 3-pyridinyle (6b) et dans celui de la *N*-benzylation de l'azote pyrrolique du benzimidazole (composé 6d), de telles variations structurales de la chalcone 6a ne seraient pas pertinentes. Cependant, à l'instar des dites chalcones 6b et 6d, la cyclisation de la propénone contribuerait en termes de

niveau de CI_{50} , à une efficacité antiplasmodiale multipliée par deux vis-à-vis des isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistant (chalcone 6h : $CI_{50} = 3,19 \mu M$) ; celle-ci demeure « très bonne » comme dans le cas de la benzimidazolyl-chalcone 6a.

Conclusion

Le concept pharmacochimique de mise au point de nouvelles molécules hybrides par juxtaposition d'entités bioactives demeure une excellente stratégie de création de nouveaux agents anti-infectieux notamment antiplasmodiaux. En effet, les pharmacomodulations entreprises autour des chalcones hybrides de type benzimidazolyl-chalcone ont révélé que le groupement 5-chlorobenzimidazole se comporterait comme un pharmacophore antiplasmodial à l'instar de la 7-chloroquinoléine de l'Amodiaquine et de la Chloroquine. De plus, lorsque ce groupement est associé à l'enchaînement arylpropénone, l'on obtient un profil chimique inducteur de très bonnes activités antiplasmodiales. Les dites activités étaient plus performantes sur l'isolat chloroquino-résistant de *Plasmodium falciparum* que sur l'isolat chloroquino-sensible. Elles ne seraient pas nécessairement liées à la nature secondaire ou tertiaire de l'azote pyrrolique du benzimidazole. Par ailleurs, l'introduction d'une contrainte configurationnelle par cyclisation la propénone en cyclohexénone ne serait pas nécessaire pour améliorer substantiellement les activités antiplasmodiales. Au terme de cette étude, l'enchaînement arylpropénone des chalcones associé au noyau benzimidazole constituerait un nouveau groupement pharmacophore antiplasmodial. La benzimidazolyl-chalcone 6e avec une CI_{50} de $5,63 \mu M$, avait le meilleur profil antiplasmodiale vis-à-vis des isolats de *P. falciparum* chloroquino-sensibles. Le composé 6f avec une CI_{50} de $0,78 \mu M$ s'est révélé être la meilleure chalcone antiplasmodiale sur isolats de *P. falciparum* chloroquino-résistants. Par ailleurs, quel que soit le statut des isolats, la benzimidazolyl-chalcone 6f, présente le meilleur profil

antiplasmodial. Ce dernier pourrait dès lors constituer une tête de série pour le développement de nouveaux agents antipaludiques à profil chimique de benzimidazolyl-chalcone.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leurs reconnaissances au Laboratoire CEISAM de l'Université de Nantes pour l'octroi de réactifs chimiques et la réalisation des analyses spectroscopiques ainsi qu'au Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme de Côte d'Ivoire, pour la réalisation du criblage antiplasmodial

REFERENCES

- Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al. 2014. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N. Engl. J. Med.*, **371**(5): 411-423.
- Awasthi S, Nidhi M, Sandeep K. 2009. Antifilarial activity of 1, 3-diarylpropen-1-one: effect on glutathione-S-transferase, a phase II détoxification enzyme. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **80**(5): 764-768.
- Bijo M, Suresh J, Anbazhagan S, Paulraj J, Krishnan GK. 2014. Heteroaryl chalcones: Mini review about their therapeutic voyage. *Biomed. Preventive Nutrition*, **4**(3): 451-458.
- Canete R, Escobedo AA, Almirall P, González ME, Brito K, Cimerman S. 2009. Mebendazole in parasitic infections other than caused by soil-transmitted helminthes. *Trans. R. Trop. Med. Hyg.*, **103**(5): 437-442.
- Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A. 1994. Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**(7): 1470-1475.
- Chong CR, Chen X, Shi L, Liu JO, Sullivan DJ Jr. 2006. A clinical drug library screen identifies Astemizole as an antimalarial agent. *Nat. Chem. Biol.*, **2**(8): 415-416.
- Dominguez JN, Charris JE, Lobo G, Gamboa de Dominguez N, Moreno MM, Riggione F, Sanchez E, Ol son J, Rosenthal PJ. 2001. Synthesis of quinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity. *Eur. J. Med. Chem.*, **36**(6): 555-560.
- Dominguez JN, Leon C, Rodrigues J, Gamboa de Dominguez N, Gut J, Rosenthal PJ. 2005. Synthesis and evaluation of new antimalarial phenylurenyl chalcone derivatives. *J. Med. Chem.*, **48**(10): 3654-3658.
- Dow GS, O'Hara AJ, Newton SC, Reynoldson JA, Thompson RC. 2000. *Plasmodium berghei*: The Antimalarial Activity of Albendazole in Rats Is Mediated via Effects on the Hematopoietic System. *Exp. Parasitol.*, **94**(4): 259-263.
- Fumika M, Hiroko M, Tamaki K, Shinzaburo T, Seiji W, Susumu I, Shoji S, Kiyoshi K. 2005. Parasite mitochondria as a target of chemotherapy: inhibitory effect of licochalcone A on the *Plasmodium falciparum* respiratory chain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1056**: 46-54.
- Jacobs DE, Taylor MA. 2001. *The Veterinary Formulary. Drugs Used in the Treatment and Control of Parasitic Infections*. (Fifth edn), Bishop J (ed). Pharmaceutical Press: London; 219-245.
- Jain D, Trivedi P. 2010. Recent advances in chalcones as anti-infective agents. *Int. J. Chem. Sci.*, **8**: 649-654.
- Liu M, Wilairat P, Croft SL, Lay CA, Go M-L. 2003. Structure-relationship-activity of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorg. Med. Chem.*, **11**(13): 2729-2738.
- Meunier B. 2011. Les molécules hybrides comme stratégie de création de nouveaux agents anti-infectieux. *C. R. Chimie*, **14**(4): 400-405.

- Noedl H, Attlmayr B, Wensdorfer WH, Killarritsh H, Miller RS. 2004. A histidine-rich protein 2-based malaria drug sensitivity assay for field use. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **71**(6): 711-714.
- OMS. 2010. Global report on antimalarial efficacy and drug resistance: 2000-2010.
- OMS. a) Traitement du paludisme- tour d'horizon, Mise à jour le 25 mars 2014. <http://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/fr/>. b) Rapport 2014 sur le paludisme dans le monde. c) Rapport 2013 sur les Objectifs du Millénaire pour le développement.
- Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Menan H, Touré SA, Ouattara L. 2011. Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Trop. J. Pharm. Res.*, **10**(6): 767-775.
- Phillips MA. 1928. The formation of 2-substituted benzimidazoles. *J. Chem. Soc.*, **13**: 2393-2399.
- Sharma M, Chaturvedi V, Manju YK, Bhatnagar S, Srivastava K, Puri SK. 2009. Substituted quinolinylchalcones and quinolinylpyrimidines as a new class of anti-infectives agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **44**(5): 2081-2091.
- Shweta S, Bikash M, Rakesh S. 2013. Chalcones as an Emerging Lead Molecule for Antimalarial Therapy: A Review. *J. Mod. Med. Chem.*, **1**(2): 64-77.
- Sirima SB, Cousens S, Druilhe P. 2011. Protection against Malaria by MSP3 Candidate Vaccine. *N. Engl. J. Med.*, **365**(11): 1062-1064.
- Sissouma D, Ouattara M, Koné MW, Menan H, Adjou A, Ouattara L. 2011. Synthesis and in vitro nematicidal activity of new chalcones vectorised by imidazopyridine. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, **5**(18): 2086-2093.
- Velík J, Baliharová V, Fink-Gremmels J, Bull S, Lamka J, Skálová L. 2004. Benzimidazole drugs and modulation of biotransformation enzymes. *Res. Vet. Sci.*, **76**(2): 95-108.
- Wanare G, Aher R, Kawathekar N, Ranjan R, Kaushik NK, Sahal D. 2010. Synthesis of novel α -pyranochalcones and pyrazoline derivatives as Plasmodium falciparum growth inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**(15): 4675-4678.
- WorldWide. 2011. Antimalarial Resistance Network (WWARN). *P. falciparum* ex vivo drug sensitivity assay using HRP2-ELISA v1.0 procedure.