

G. MAJORI (\*)

## Nuove prospettive terapeutiche per la malaria (\*\*)

### INTRODUZIONE

I primi casi di resistenza di *Plasmodium falciparum* alla clorochina sono stati riscontrati nel 1959-60 in Thailandia e Colombia. Da allora il fenomeno ha assunto proporzioni enormi per intensità e diffusione. L'Organizzazione Mondiale della Sanità, gli organismi di ricerca pubblici e privati e le industrie farmaceutiche hanno profuso sforzi notevoli nello sviluppo di nuovi farmaci antimalarici. In particolare, il Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) negli Stati Uniti d'America ha realizzato il maggior programma di ricerca nel settore esaminando più di 300.000 composti.

Dai dati di letteratura risultano esservi numerosi composti nelle diverse fasi di sperimentazione; alcuni, per la verità pochi, hanno già completato la valutazione clinica e sono già disponibili; altri sono in fase più avanzata di valutazione clinica e preclinica ed infine vi è una serie numerosa di interessanti molecole.

### *Nuovi antimalarici già sottoposti a prove cliniche*

Il gruppo di composti di maggior interesse è rappresentato dai chinolino-metanoli. Durante la seconda guerra mondiale il primo chinolinometanolo prodotto e sperimentato (negli USA) è stato l'SN 10.275, che pur essendosi rivelato un composto attivo, non è stato più prodotto a causa della sua fototossicità. Negli anni '60 si sono ripresi in esame nuovi omologhi, non fototossici, in grado di conservare le loro proprietà antimalariche.

Uno dei composti maggiormente attivi prodotto nel corso di questi studi è stato il WR 30.090, già sottoposto a sperimentazione clinica, che ha dimostrato

(\*) Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

(\*\*) Presentato al Convegno «Sanità Militare e Farmaci Orfani», (Firenze, 7 ottobre 1989).

buone proprietà antimalariche ma, allo stesso tempo, scarsa biodisponibilità e lento assorbimento che hanno richiesto una somministrazione di almeno 6 gg.

Tra gli altri chinolinometanoli sintetizzati e sperimentati è stato scelto per una ulteriore sperimentazione il WR 142.290 (racemico eritro-a-(2-piperidil)-2,8-bis(trifluorometil)-4-chinolinometanolo successivamente denominato meflochina (1983).

#### *Meflochina*

Questo derivato della 4-aminochinolinometanolo è stato sottoposto ad approfonditi esami preclinici tossicologici che hanno dimostrato un sufficiente margine di sicurezza da consentirne l'ulteriore sviluppo.

Studi farmacocinetici hanno dimostrato che l'assorbimento della meflochina è rapido, 0,36-2,00 ore (Dejardins *et al.*, 1979) che la concentrazione plasmatica è di circa 1,0 mg/litro 2-12 ore dopo la somministrazione, con una emivita di 17,35 gg (in media 22,5) (Schwartz *et al.*, 1982). Oltre il 99 % della meflochina contenuta nel plasma è legata alle proteine, con una concentrazione maggiormente elevata (circa il 70% di quella nel plasma) nei o sugli eritrociti dove circa la metà appare legata alla membrana cellulare (Smith, 1973). Vi sono anche prove sufficienti a dimostrare che la meflochina è un potente schizonticida ad azione prolungata, attivo su *P. falciparum* e *P. vivax*. Tra l'altro, presenta l'enorme vantaggio di risultare efficace in dose unica, evitando così complicazioni per il paziente.

Le prove cliniche con la meflochina sono cominciate nel '72, nell'ambito del programma di ricerca del WRAIR e sono riprese nel '76 in occasione di un impegno congiunto tra il Programma Speciale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità e Banca Mondiale sulle Malattie Tropicali (TDR/CHEMAL), il WRAIR e la casa farmaceutica Hoffman-La Roche.

La meflochina viene generalmente ben tollerata ed assicura un buon margine di sicurezza; presenta una potente attività schizonticida contro i parassiti resistenti agli altri antimalarici, come la clorochina e la pirimetamina. I tassi di guarigione sono risultati superiori al 95% utilizzando singole dosi da 750 mg o 1000 mg del farmaco base. Il farmaco presenta generalmente un'emivita lunga, anche se variabile. Ciò giustifica il suo impiego terapeutico in singole somministrazioni. Ciononostante, le comuni dosi di impiego o anche più elevate possono risultare inefficaci a causa di fattori intrinseci del paziente. Gli effetti collaterali, transitori e generalmente lievi, sono rappresentati da nausea, vertigini, vomito e diarrea. Alcuni pazienti hanno riportato una bradicardia sinusale asintomatica della durata di poche settimane che non ha richiesto alcun trattamento.

Non sono state rilevate anomalie biologiche oematologiche. La meflochina è in via di sperimentazione sulle donne in stato di gravidanza, su pazienti con disfunzioni a livello epatico ed anemia e nei bambini al di sotto dei due anni. I risultati preliminari indicano che il farmaco è efficace e ben tollerato ma che è necessario un approfondito esame del paziente prima di giungere a conclusioni definitive.

La meflochina è stata registrata in Svizzera sotto il nome commerciale di Lariam (R) utilizzato nella profilassi e terapia di pazienti adulti e bambini al di sopra dei due anni. Successivamente, è stata registrata sotto questo nome anche in Australia, Brasile, Francia, Germania Occidentale e Nuova Zelanda.

*Meflochina con sulfadossina e pirimetamina*

La diminuzione della sensibilità alla meflochina in colture continue di *P. falciparum*, (Brockelman *et al.*, 1981) l'evidenza clinica della meflochinoresistenza in Thailandia (dove il farmaco è stato reso disponibile solo in piccole quantità) (Boudreau *et al.*, 1982) confermata successivamente con esperimenti di clonazione (Webster *et al.*, 1983) i rapporti provenienti dalle Filippine (Smirkovski *et al.*, 1982; Smirkovski *et al.*, 1985) circa la meflochinoresistenza di *P. falciparum* *in vitro* ed un caso di malaria meflochinoresistente proveniente dalla Tanzania, dove il farmaco non è mai stato utilizzato (Bygbjerg *et al.*, 1983), fanno ritenere che in natura vi siano parassiti resistenti alla meflochina senza essere mai stati esposti al farmaco ed averne subito una pressione selettiva.

L'industria farmaceutica produttrice di associazioni a base di meflochina per evitare una situazione di emergenza da meflochinoresistenza hanno avviato degli studi in questo settore.

La London School of Tropical Medicine and Hygiene ha dimostrato che la risposta di *P. berghei* alla meflochina associata ad altri antimalarici è quanto meno sinergica (forse anche potenziata) e che combinazioni libere, specialmente miscele di sulfadossina e pirimetamina hanno un pronunciato effetto ritardante sullo sviluppo della resistenza rispetto alla componente individuale (Peters *et al.*, 1984). L'azione di controllo esercitata sugli animali ha permesso di rivelare che la combinazione sarebbe sicura ed efficace sull'uomo, eccetto sui soggetti sensibili ai sulfamidici.

Studi relativi al dosaggio di questo composto sono stati portati a termine in Thailandia, Colombia, Birmania, Brasile e Zambia.

In Thailandia, sono stati ottenuti buoni risultati con una singola dose di meflochina (750 mg/base) o di MSP (750 mg di meflochina, più 3 compresse di Fansidar), somministrate per via orale, che si sono rivelati egualmente efficaci nel trattamento di malaria da *P. falciparum* (Harinasuta *et al.*, 1985). In Thailandia, inoltre, si è sperimentata la somministrazione per via orale in dose unica di 2 o 3 compresse di questa associazione che ha consentito di raggiungere tassi di guarigione del 93% (2 compresse) e del 98% (3 compresse), senza riportare significative differenze statistiche tra i due gruppi (Harinasuta *et al.*, 1987).

In Colombia, sono stati sperimentati due diversi dosaggi: al primo gruppo si è somministrata una singola dose di questa combinazione di farmaci, costituita da 280 mg di meflochina, 800 mg di sulfadossina e 40 mg di pirimetamina; al secondo, una associazione di 420 mg di meflochina, 1200 di sulfadossina e 60 di pirimetamina. I tassi di guarigione, in entrambi i casi, sono stati del 100% (studio di 28 giorni) (Botero *et al.*, 1985).

In Birmania, 54 adulti semimmoni affetti da malaria da *P. falciparum* sono stati trattati con una dose unica di una combinazione di 750 mg di meflochina, 1500 mg di sulfadossina e 75 mg di pirimetamina. Nel termine di 7 giorni si è riscontrata nei pazienti la completa eliminazione delle forme assesurate ed il tasso di guarigione ha raggiunto il 100% (Tin *et al.*, 1985).

In Brasile, l'associazione di meflochina-sulfadossina-pirimetamina (in dosi da 1, 2 o 3 compresse) è stata utilizzata per il trattamento di 150 infezioni da *P. falciparum*. Tra coloro a cui è stata somministrata una compressa, l'81% è risultato guarito, mentre il 19% ha mostrato recrudescenze R.I. Tutti gli altri pazienti trattati con 2 o 3 compresse sono risultati guariti (De Souza *et al.*, 1987).

In Zambia, dove non sembrava esservi resistenza alla sulfadossina-pirimetamina, 1 singola compressa o al massimo 2 hanno consentito la completa guarigione di tutti i pazienti (Ekue, *et al.*, 1987; Ekue *et al.*, 1987).

I principali effetti collaterali rilvati nel corso di questi esperimenti sono stati: dolori addominali, nausea, vomito, vertigini e diarrea; disturbi per lo più lievi e passeggeri che non hanno richiesto alcun trattamento. I risultati delle analisiematologiche, biochimiche e delle urine non hanno presentato significative alterazioni dopo l'assunzione del farmaco. In Thailandia, occasionalmente, sono stati riportati casi di bradicardia sostenibile durante l'eccardiogramma; si è trattato di condizioni passeggerie, assintomatiche e non significative sotto il profilo clinico.

Inoltre, vi sono stati episodi di gravi reazioni cutanee dovute al fatto che tra il 1984 e il 1985 il National Malaria Programme della Thailandia aveva introdotto questa associazione per il trattamento di infezioni multiresistenti da *P. falciparum*, confermate con diagnosi microscopica (Anonimo, 1986). Nel corso di una « informal consultation » appositamente convocata dall'OMS (Malaria Action Programme) nel marzo dell'86 si è sentita l'esigenza di effettuare ulteriori studi per poter riesaminare il rapporto rischio/beneficio riguardo l'uso della meflochina associata alla pirimetamina/sulfadossina, particolarmente connesso all'effetto di tali composti sulla possibilità di insorgenza di ceppi resistenti e sulla loro efficacia e tolleranza nell'uomo.

Questa associazione, conosciuta sotto il nome commerciale di Fansimef, è stata registrata in Thailandia, Brasile, Burma, Colombia, Ecuador, Francia, Nuova Zelanda, Filippine, Surinam e Zimbabwe.

#### COMPOSTI AD UN AVANZATO STADIO DI SVILUPPO, PRECEDENTEMENTE SOTTO- POSTI A Sperimentazioni CLINICHE

##### *I 9-fenantrenmetanoli*

Nel corso della seconda guerra mondiale, è stato dimostrato che numerosi 9-fenantrenmetanoli presentavano una attività schizonticida (Wiselogle, 1946; Coatey *et al.*, 1947) e due di essi (SN 8867 e SN 9160) sono stati successivamente sperimentati sull'uomo. Tuttavia, gli studi relativi a questi due composti

non sono stati portati a termine poiché le 4-aminochinoline sono risultate più attive di essi e più facilmente somministrabili.

Dopo l'apparizione dei ceppi cloeochinotresistenti di *P. falciparum*, lo studio di questi composti è stato ripreso dal WRAIR. Si è scoperto tra questi composti che il WR 33.063 è efficace con maggiore rapidità nella malaria da *P. falciparum* e da *P. vivax* e che negli studi clinici è ben tollerato a dosi terapeutiche (Arnold *et al.*, 1973; Hall *et al.*, 1973), ma che essendo un debole soppressore (Clyde *et al.*, 1973), per assicurare un soddisfacente trattamento clinico richiede 4 somministrazioni al giorno da 1,6 g per 6 giorni consecutivi.

Ulteriori ricerche hanno permesso di riscontrare che altri due composti, il WR 122.455 ed il WR 171.699 sono più efficaci del WR 33.063 (Chien *et al.*, 1972; Markovac *et al.*, 1976).

Il WR 171.699 presenta una migliore tollerabilità nell'uomo ed il vantaggio di avere efficacia con un solo giorno di trattamento (Cosgriff *et al.*, 1982), mentre il WR 122.455 ne richiede molti di più (Rinehart *et al.*, 1976). Queste sono le ragioni per le quali nei successivi studi clinici si è fatto uso del WR 171.699, successivamente denominato alofantrina.

#### *L'alofantrina*

L'alofantrina idrocloruro è stata sottoposta a studio clinico dal 1982, dopo la dimostrazione dell'attività schizonticida *in vitro* e in modelli animali (Schmidt *et al.*, 1978).

Studi effettuati su volontari hanno confermato la potente azione schizonticida del farmaco su ceppi multiresistenti di *P. falciparum* (Cosgriff *et al.*, 1982; Rinehart *et al.*, 1976). Sembra che l'alofantrina presenti un problema di biodisponibilità, probabilmente dovuto al suo scarso assorbimento.

Il farmaco è ben tollerato, ma a dosi superiori a 1500 mg/giorno sono stati riscontrati sintomi gastrointestinali, tra cui soprattutto diarrea.

Attualmente, i risultati migliori sono stati ottenuti con somministrazioni di 3 dosi da 500 mg ciascuna ad intervalli di 6 ore con guarigione del 96% dei casi (Childs *et al.*, 1984). Su *P. berghei* si è riscontrata una resistenza crociata tra meflochina e alofantrina (Canfield, 1980), ma studi successivi hanno dimostrato che la sensibilità alla meflochina è indipendente da quella alla alofantrina (Childs *et al.*, 1984).

#### *I lattoni sesquiterpenici*

Da più di 2000 anni, in Cina, si utilizzano nella pratica terapeutica estratti di *Artemisia annua*, una pianta indigena. Nel 1972, ne è stato isolato ed identificato il principio attivo, un lattono puro sesquiterpenico, denominato Qinghaosu (o artemisina, o arteannuina) (Li *et al.*, 1984). Negli anni successivi, in Cina, sono state studiate, su modelli animali, l'efficacia, la farmacologia, la farmacocinetica e la tossicologia del Qinghaosu e dei suoi derivati.

Per le ulteriori fasi di sviluppo clinico e preclinico, sono stati prescelti il Qinghaosu, insolubile in acqua, moderatamente solubile in olii e solubile in alcool etilico, l'etere metilico di Qinghaosu, parzialmente solubile nei lipidi, come l'olio di semi di tè e l'artesunato, il sale succinico di sodio di Qinghaosu, parzialmente solubile in acqua, ma alquanto instabile nelle soluzioni acquose.

Un altro composto, l'acido artesunico, o Qinghaosu succinico, si è rivelato non igroscopico ed efficace quanto il sale sodico. Dal 1985, l'attenzione si è focalizzata sullo sviluppo dell'arteatero, l'evere betaserilico derivato dall'artemisina, che essendo abbastanza stabile nella conservazione ed altamente solubile negli olii, è utilizzabile nella preparazione di preparati iniettabili.

Studi sulla tossicità acuta nei topi hanno dimostrato che il Qinghaosu, l'artemetere e l'artesunato presentano valori di LD<sub>50</sub> ed indici chemioterapeutici più elevati rispetto alla chlorochina. Studi sulla tossicità subacuta sulle scimmie hanno evidenziato che il Qinghaosu può risultare tossico a dosaggi elevati principalmente sulle cellule eritropoietiche del midollo osso, creando danni a livello epatico.

In tutte le specie animali esaminate, i tre farmaci sono stati ben tollerati; effetti indesiderati si sono verificati solo in caso di dosaggi particolarmente elevati (China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its Derivatives as Antimalarials, 1982). Altri studi portati a termine in Cina, hanno mostrato che l'artemetere è strettamente legato alla proteina plasmatica ed *in vitro* viene rapidamente trasportato fino agli eritrociti, secondo quanto si è riscontrato utilizzando campioni di sangue umano o di scimmia (Li *et al.*, 1982). Iniettando nei conigli, per via endovenosa, un'emulsione di artemetero si è riscontrata la più alta concentrazione del farmaco nel cervello, indicando che è in grado di attraversare la barriera sanguigna cerebrale, raggiungendo il massimo livello dopo 15 minuti.

Fin dal 1973, sono stati effettuati ulteriori studi clinici con il Qinghaosu ed i suoi derivati nell'isola di Hainan, dove *P. falciparum* è prevalentemente chlorochinoresistente e nella provincia di Henan, in Cina, dove precedentemente erano stati avviati studi sulla tossicità. Dal 1973 al 1980, sono stati trattati con Qinghaosu, artemetero e artesunato 3.668 casi di malaria da *P. falciparum* e da *P. vivax* (China Cooperative Research Group on Qinghaosu and its Derivatives as Antimalarials, 1982). I tassi di guarigione hanno superato il 90% ed i risultati ottenuti hanno dimostrato che l'azione schizonticida del Qinghaosu e dei suoi derivati è considerevolmente superiore a quella della chlorochina, del chinino e della meflochina (Jiang *et al.*, 1982). Con questi tre farmaci sono stati trattati 157 casi di malaria cerebrale: 106 con Qinghaosu (9 decessi), 29 con artemetero (1 decesso) e 22 con artesunato (2 decessi). In generale i tassi di guarigione hanno raggiunto il 92,4%, una media ben superiore a quella registrata ricorrendo ad altre forme di trattamento. Il Qinghaosu in sospensione acquosa ha presentato un effetto più lento, mentre l'artesunato di sodio più veloce (Li *et al.*, 1982). Nessuno dei tre farmaci ha riportato effetti tossici sui pazienti.

Sebbene l'eliminazione del parassita e la diminuzione della febbre seguano velocemente al trattamento con tutte le formulazioni del Qinghaosu e dei suoi derivati, il tasso delle recrudescenze è considerevolmente elevato.

Nel tentativo di eliminare o di ridurre i tassi di recrudescenza, moderatamente elevati in seguito a trattamento con Qinghaosu e derivati, sono state utilizzate differenti associazioni di farmaci (Cai *et al.*, 1981; Zheng *et al.*, 1979). I risultati migliori sono stati ottenuti grazie all'associazione di meflochina, sulfadossina, pirimetamina e Qinghasou, ma è prematuro trarre delle conclusioni dai limitati studi clinici o imbarcarsi in studi relativi all'associazione stessa, in assenza di esauriente conoscenza sulla tossicologia e farmacologia del Qinghasou e dei suoi derivati.

*La pironaridina*

La pironaridina, che è un 2-metossi-7-cloro-10-[3,5'-bis-(pirrolidino-1-metil)-4'-idrossianilinol]-benzo(b)-1,3-naptiridina tetrafosfato, è stata sintetizzata a Shanghai, in Cina, nel 1972 (Zheng *et al.*, 1979).

Il composto presenta una marcata attività sulla malaria dei roditori e delle scimmie: quando somministrato a topi infettati con ceppi di *P. berghei* clorochinosensibili e clorochinoresistenti, si è rivelato un potente schizonticida; mentre in *Macaca mulatta* infetta con *P. falciparum*, *P. cynomolgi* o *P. knowlesi* ha dato risultati poco chiari, probabilmente, ad inadeguati regimi farmacologici (New Drug Group of the Former Department of Malaria, 1980; Lapierre, 1982).

Prove di teratogenicità a dosaggi elevati effettuate sui ratti non hanno determinato effetti pur causando un aumento del tasso di riassorbimento fetale; non si sono riscontrate neanche induzioni di mutazioni nel sistema microsomico della *Salmonella typhi-murium*, ceppo TA 1537 (Ni *et al.*, 1982).

Studi farmacocinetici sui conigli indicano che il picco nella concentrazione plasmatica viene raggiunto a distanza di 15 minuti dall'iniezione, per via intramuscolare, del composto. La pironaridina non sembra avere resistenza crociata con la clorochina.

Nell'isola di Hainan, sono stati trattati con pironaridina più di 1000 pazienti affetti da malaria da *P. falciparum* e da *P. vivax*, compresi alcuni casi di malaria cerebrale. Il farmaco è stato somministrato per via orale (6 mg base/Kg di peso corporeo; due dosi il primo giorno ed una dose il secondo ed il terzo giorno) o per via endovenosa (dose complessiva 6 mg/base di peso corporeo). In un periodo di 30 giorni, su 342 pazienti affetti da malaria da *P. falciparum*, è stato registrato un tasso di recrudescenza dell'8,8%, determinato esclusivamente dalle somministrazioni del composto per via orale. Nei gruppi trattati per via parenterale, sono stati ottenuti risultati migliori, mentre non sono state riscontrate differenze nei tempi di eliminazione del parassita. La scomparsa della febbre e della parassitemia hanno avuto luogo con maggior rapidità nella malaria da *P. vivax*.

La somministrazione del farmaco per via parenterale ha determinato una minore comparsa di effetti collaterali, rappresentati da nausea, diarrea, lievi dolori addominali, vomito, palpazioni, cefalea ed eruzioni cutanee.

La pironaridina sembra essere un promettente antimalartico, efficace anche sui ceppi clorochinoresistenti di *P. falciparum*.

Tuttavia, è necessario effettuare ulteriori studi sulla resistenza crociata e non, sulla farmacocinetica, tollerabilità e biodisponibilità del composto. L'attività profilattica esercitata su *P. berghei* o su *P. yoelii*, superiore a quella della prima-china, merita di essere ulteriormente approfondita (Zheng *et al.*, 1982).

#### *L'empiroline*

Tra i 21 composti sintetizzati nel '72 (Markovac *et al.*, 1972), due dei quali hanno mostrato di esercitare una attività antimalarica su topi infetti da *P. berghei* (Blumbergs *et al.*, 1972) e su modelli di *Aotus trivirgatus* infetti da *P. falciparum* (Schmidt *et al.*, 1978), ne sono stati selezionati due da sottoporre a sperimentazione clinica: il WR 172,435 e il WR 180,409 (l'empiroline).

Entrambi presentano un'attività schizonticida su *P. falciparum* e su *P. vivax* e sono inefficaci nelle forme esocitrofiche. Non hanno tossicità e fototoxicità ed hanno un livello accettabile di tossicità nei topi, nei ratti e nei cani (Schmidt *et al.*, 1978). Inoltre, presentano un livello di tossicità subacuta inferiore alla meflochina nei ratti e nei cani (Canfield, 1980). Gli studi clinici effettuati con WR 172,435 sono stati discontinui, poiché questo composto, somministrato a soggetti sani di sesso maschile, che si sono sottoposti volontariamente a sperimentazione, ha causato una leucocitosi reversibile (Cosgriff *et al.*, 1984).

Studi tossicologici e farmacocinetici del farmaco hanno dimostrato che il composto, somministrato in dosi uniche di massimo 1 grammo, presenta una buona tollerabilità nell'uomo. Nell'arco di 20 giorni, esso viene assorbito e distribuito nei tessuti ed escreto attraverso la bile nelle feci. E' stato calcolato che in media l'efficacia del composto è di 6 giorni (Cosgriff *et al.*, 1984).

Durante la fase clinica II, relativa allo studio del dosaggio sono stati trattati con empiroline 22 soggetti adulti, non immuni, di sesso maschile, che presentavano infezioni da *P. falciparum* (Smit, Vietnam) resistenti alla clorochina, al chinino e alla pirimetamina (Cosgriff *et al.*, 1984). Sono stati sperimentati, per via orale, tre schemi terapeutici: 1) 3 dosi di 500 mg ogni 12 ore; 2) 500 mg, 500 mg e 250 mg; 3) 500 mg, 250 mg e 250 mg ad intervalli di 12 ore. Tutti e tre sono risultati curativi. Il farmaco è stato generalmente ben tollerato e solo occasionalmente si sono verificati episodi di nausea, vomito e diarrea, associati anche alla malaria da *P. falciparum*.

Nel corso di questi studi non sono emersi segni di resistenza ai 4-piridinometanoli. L'empiroline, sembra essere un promettente composto antimalarico; tuttavia è necessario effettuare ulteriori sperimentazioni nella fase II e III della malattia naturalmente acquisita per potere aver conferma di queste aspettative.

BIBLIOGRAFIA

- ANSEL, *Antimalarial Drug Risk (based on a report by Dr B. Hässler-Koh & Dr Surin Finch-pouget)*. «Bull. World Health Organization», 64, 503 (1986).
- ARNOLD J.D., MARTIN D.C., CARSON P.E., REICKMANN K.H., WILLESON D. Jr., CLYDE D.F. e MILLER R.M., *A phenanthrene-methanol (WR 33,063) for treatment of acute malaria*. «Antimicrob. Agents Chemother.», 1, 213 (1973).
- BLUMBERG P., LA MONTAGNE M.P., MARCOVAC A., MOHREING J.G., ASH A.B. e STEVENS C.L., *Antimalarials. II. 2,6-bis (aryl)-4-pyridinemethanols*. «J. Med. Chem.», 15, 808 (1972).
- BOTERO D., RESTREPO M. e MORENO A., *Prospective doubleblind trial of two different doses of mefloquine plus pyrimethamine-sulfadoxine compared with pyrimethamine-sulfadiazine alone in the treatment of falciparum malaria*. «Bull. World Health Organization», 61, 731 (1983).
- BOUDREAU E.P., WEBSTER H.K., PAYANAND K. e THOSINSINGHA L., *Type II mefloquine resistance in Thailand*. «Lancet», 11, 1335 (1982).
- BROCKELMAN C.R., MONKOLEZA S. e TANARIYA P., *Decrease in susceptibility of Plasmodium falciparum to mefloquine in continuous culture*. «Bull. World Health Organization», 59, 249 (1981).
- BURGESS I.C., SCHAPIRA A., FLACHS H., GOMME G. e JEPSEN S., *Mefloquine resistance of falciparum malaria from Tanzania enhanced by treatment*. «Lancet», 1, 774 (1983).
- CAI X.Z., LIANG A.H. e PENG X.J., *Observation of the therapeutic effect of single-dose combined administration of Qinghaosu, sulfoneboxime, pyrimethamine and primaquine in the treatment of chloroquine-resistant malignant malaria*. «Chinese J. Internal Med.», 20, 724 (1981).
- CAMPFIELD C.J., *Antimalarial aminodiol alternatives to mefloquine*. «Acta Trop.», 37, 232 (1980).
- CHEN P.L., McCARTLAND D.J., BURTON W.H. e CHENG C.C., *Structure activity relationship studies on antimalarial phenanthrene amino alcohols. Modifications of the side chain*. «J. Med. Chem.», 15, 28 (1972).
- CHILD G.E., LAMBERT C., NETSCH J.D., PAMPLIN C.L. e DAVIDSON D.E. Jr., *Comparison of in vitro and in vivo antimalarial activities of 9-phenanthrenemethanols*. «Ann. Trop. Med. Parasitol.», 78, 13 (1984).
- China Cooperative Research Group on Qinghaosu and Its Derivatives as Antimalarials, *L. studies on the toxicity of Qinghaosu and its Derivatives*. «J. Trad. Chinese Med.», 2, 31 (1982).
- China Cooperative Research Group on Qinghaosu and Its Derivatives as Antimalarials, *Clinical studies on the treatment of malaria with Qinghaosu and its derivatives*. «J. Trad. Chinese Med.», 2, 45 (1982c).
- CLYDE D.F., MCCARTHY V.C., REBERT C.G. e MILLER R.M., *Prophylactic activity of a phenanthrene methanol (WR 33,063) and a quindine methanol (WR 30,090) in human malaria*. «Antimicrobial Agents and Chemotherapy», 3, 220 (1973).
- COATNEY G.R., COOPER W.C., YOUNG M.D. e BURGESS R.W., *Studies in human malaria. IV. The suppressive action of a phenanthrene amino alcohol NIH-204 (SN-1756) against sporozoite induced vivax malaria (St. Elizabeth strain)*. «Am. J. Hyg.», 46, 132 (1947).

- COSGRIFF T.M., BOUREAU E.F., PAMPLIN C.L. III, BIKMAN J.D., SHIMKULSKY M.J. e CANFIELD C.J., Evaluation of the 4-pyridinemethanol WR 180,809 (enpirolone) in the treatment of induced Plasmodium falciparum infections in healthy, non-immune subjects. « Am. J. Trop. Med. Hyg. », 33, 767 (1984).
- COSGRIFF T.M., BOUREAU E.F., PAMPLIN C.L., DOHERTY E.B., DESJARDINS R.E. e CANFIELD C.J., Evaluation of the antimalarial activity of phebendrenemethanol halofantrine (WR 171,669). « Am. J. Trop. Med. Hyg. », 31, 1075 (1982).
- DEJARDINS R.E., CANFIELD C.J., HAYNES J.D. e OURLAY J.D., Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semi-automated micro-dilution technique. « Antimicrob. Agents Chemother. », 16, 710 (1979).
- DE SOUZA J.M., SHETH U.K., WERNSDORFER W.H., TREIG P.I. e DOHERTY E.B., A phase II/III double-blind, dose-finding clinical trial of a combination of a mefloquine, sulfadoxine and pyrimethamine (Favimix) in falciparum malaria. « Bull. World Health Organization », 65, 357 (1987).
- ERKE J.M.K., PERI D.E.D., SHETH U.K. e MUKUNVANDELA M., A double-blind trial of a fixed combination of mefloquine, plus sulfadoxine-pyrimethamine compared with sulfadoxine-pyrimethamine alone in symptomatic falciparum malaria. « Bull. World Health Organization », 65, 369 (1987).
- ERKE J.M.K., SIMOYO O.O., SHETH U.K., WERNSDORFER W.H. e NJELLSAAS E.K., A double-blind clinical trial of a combination of mefloquine, sulfadoxine and pyrimethamine in symptomatic falciparum malaria. « Bull. World Health Organization », 63, 339 (1985).
- HALL A.P., SEGAL H.E., PEARLMAN E.J. e PHINTUYOTHIN P., Comparison of a 9-phenanthrenemethanol (WR 33,063) a 4-quinaldine methanol (WR 30,090), and quinine for falciparum malaria in Thailand. « Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. », 69, 342 (1975).
- HARINASUTA T., BUNNAO D., LASSERE R., LEIMEA R. e VANJANONT S., Trials of mefloquine *in vivo* and mefloquine plus « Fansidar » in falciparum malaria. « Lancet », I, 885 (1985).
- HARINASUTA T., BUNNAO D., VANJANONT S., CHARDENLAR P., SUNTHARASAMAI P., CHITAMAS S., SHETH U.K. e WERNSDORFER W.H., Mefloquine, sulfadoxine and pyrimethamine in the treatment of symptomatic falciparum malaria: a double blind trial for determining the most effective dose. « Bull. World Health Organization », 65, 363 (1987).
- JIANG J.B., LI G.Q., GUO X.B., KONG Y.C. e ARNOLD K., Antimalarial activity of mefloquine and Qinghaosu. « Lancet », II, 285 (1982).
- LAPIERRE J., Paludisme à Plasmodium falciparum, polychimiotraitement traité avec succès par la benzoporphyrinide. « Nouvelle Presse Méd. », II, 673 (1982).
- LI G., GUO X., ARNOLD K., JIAN H. e FU L., Randomized comparative study of mefloquine, Qinghaosu and pyrimethamine-sulfadoxine in patients with falciparum malaria. « Lancet », II, 1360 (1984).
- LI W.H., SHU H.L., XU G.Y. e ZENG Y.L., The binding of Qinghaosu (artemisinine) and its derivatives to plasma protein. « Acta Pharm. Sinica », 17, 783 (1982).
- MAREKOVÁ A. e LA MONTAGNE M.P., Antimalarials. IX. Methylthio-and methylsulfonyl-substituted 9-phenanthrenemethanols. « J. Med. Chem. », 19, 978 (1976).
- MAREKOVÁ A., LA MONTAGNE M.P., BLUMBERG P., ASH A.B. e STEVENS C.L., Antimalarials. III. 2,6-bis(aryl)-4-pyridinemethanols with trifluoromethyl substitutes. « J. Med. Chem. », 15, 918 (1972).
- New Drug Group of the Former Department of Malaria, Experimental studies on chemotherapeutic effects and toxicity of a new antimalarial drug 7351. « Acta Pharm. Sinica », 15, 630 (1980).

- Ni Y.C., Xu Y.Q. e Shao B.R., *Mutagenicity of a new antimalarial drug, pyronaridine in the Salmonella/microsome system.* «Acta Pharmacol. Sinica», 3, 51 (1982).
- PETERS W. e ROBINSON B.L., *The chemotherapy of rodent malaria. XXXV. Further studies on the retardation of drug resistance by the use of a triple combination of mefloquine, pyrimethamine and sulfadoxine in mice infected with P. berghei and P. berghei.* «Ann. Trop. Med. Parasitol.», 78, 459 (1984).
- ROTHSART J., ARNOLD J. e CANFIELD C.J., *Evaluation of two phenanthrenemethanols for anti-malarial activity in man: WR 122,435 and WR 171,669.* «Am. J. Trop. Med. Hyg.», 25, 769 (1976).
- SCHMIDT L.H., CROSBY R., RASCO J. e VAUGHAN D., *Antimalarial activities of various 4-pyridinemethanols with special attention to WR 172,435 and WR 180,409.* «Antimicrob. Agents Chemother.», 14, 420 (1978).
- SCHWARTZ D.E., ECKERT G., HARTMANN D., WEBER B., RICHARD-LEMOINE D., ERICE J.M.K. e GENTILINI M., *Single dose kinetics of mefloquine in man. Plasma levels of the unchanged drug and one of its metabolites.* «Chemotherapy», 28, 70 (1982).
- SMITH C.C., *Excretion and tissue localization pattern of experimental antimalarial agents.* «Federation Proc.», 32, 701 (1973).
- SMERKOVSKI L.L., BUCK R.L., ALCANTARA A.K., ROBREGUEZ C.S. e UYLANDO C.V., *In vitro mefloquine resistant Plasmodium falciparum from the Philippines.* «Lancet», II, 322 (1982).
- SMERKOVSKI L.L., BUCK R.L., ALCANTARA A.K., ROBREGUEZ C.S. e UYLANDO C.V., *Studies of resistance to chloroquine, quinine, amodiaquine and mefloquine among Philippine strains of Plasmodium falciparum.* «Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.», 79, 37 (1985).
- TIN F., HEAING N., TUN T., WIN S. e LASSEKES R., *Falciparum malaria treated with a fixed combination of mefloquine, sulfadoxine and pyrimethamine: a field study in Burma.* «Bull. World Health Organization», 63, 727 (1985).
- WEBSTER J.K., THALITHONG S., PAVANASIT K., YONGVANETHIT K., PINSWADI C. e BOUDREAU E.P., *Cloning and characterization of mefloquine-resistant Plasmodium falciparum from Thailand.* «J. Trop. Med. Hyg.», 34, 1022 (1985).
- WISELOGEL P. (ed.), *A survey of antimalarial drugs 1941-1943.* Vol. 1. J.W. Edwards. Ann Arbor: 309 (1946).
- World Health Organization, *Advances in Malaria Chemotherapy.* Report of a WHO Scientific Working Group. «Report Ser.», 2711, 1985.
- ZHENG X., XIA Y., GAO F., GUO H. e CHEN C., *Synthesis of 7351, a new antimalarial drug.* «Acta Pharm. Sinica», 14, 736 (1979).