

Avances en la búsqueda y desarrollo de quimioprolácticos causales para malaria

Alexandra Ríos-Orrego¹, Silvia Blair-Trujillo¹, Adriana Pabón-Vidal¹

RESUMEN

La malaria es una enfermedad infecciosa de importancia epidemiológica mundial, producida por diferentes especies del género *Plasmodium*. La quimioprofilaxis causal (QC) evita la infección y/o el desarrollo de las formas hepáticas de *Plasmodium* spp. Considerando recientemente la QC como una estrategia para reducir la carga de morbimortalidad en regiones endémicas para malaria, en el marco de programas para el control, la eliminación o la posible erradicación de la enfermedad, se hizo una revisión no sistemática de la literatura para conocer el estado del avance de las investigaciones sobre quimioprolácticos causales en modelos *in vivo* para malaria, para aportar al conocimiento, presentando un panorama actualizado sobre el tema, y llamar la atención acerca de la importancia y la necesidad de nuevos medicamentos con efecto quimioproláctico. Para ello, se consultaron las bases de datos: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar y la página oficial de la Organización Mundial de la Salud (OMS), combinando los descriptores o palabras clave: *chemoprophylaxis*, *quimioprofilaxis*, *malaria*, *Plasmodium* e *in vivo*. Luego de revisar 33 artículos de la literatura mundial y 4 informes de la OMS, publicados entre los años 1995 y 2015, se concluye que la molécula semisintética NCP-tazopsina y las moléculas sintéticas: KAF156 (imidazolpiperazina) y tafenoquina (8 aminoquinolina), son los agentes QC más promisorios en el momento. Estas moléculas pueden convertirse en una alternativa para el control de la malaria en un futuro cercano.

PALABRAS CLAVE

In vivo; Malaria; *Plasmodium*; Quimioprofilaxis

¹ Grupo de Malaria, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Correspondencia: Alexandra Ríos-Orrego; alexandra.rios@udea.edu.co

Recibido: abril 22 de 2016
Aceptado: octubre 01 de 2016

Cómo citar: Ríos-Orrego A, Blair-Trujillo S, Pabón-Vidal A. Avances en la búsqueda y desarrollo de quimioprolácticos causales para malaria. *Iatreia*. 2017 Abr-Jun;30(2):171-186. DOI 10.17533/udea.iatreia.v30n2a06.

SUMMARY

Research and development of causal chemoprophylactics in malaria

Malaria is an infectious disease of great epidemiological relevance worldwide, caused by several species of *Plasmodium*. Causal chemoprophylactics (QC) are important to prevent infection and/or development of liver forms of *Plasmodium* spp. Since the development of new QC is a topic of interest in malaria control, we carried out a literature review to determine the status of research and development of QC in *in vivo* models. The aim was to present a literature update and to draw attention to the importance of this field of research. We searched for literature published between 1995 and 2015 in the databases: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar and the official website of the World Health Organization (WHO), using the keywords: *chemoprophylaxis*, *quimioprofilaxis*, *malaria*, *Plasmodium* and *in vivo*. We included 33 research articles of the world literature and four WHO reports, published between 1995 and 2015. Our review showed that the semisynthetic molecule NCP-tazopsine, and the synthetic molecules KAF156 (imidazole-piperazine) and tafenoquine (8 aminoquinoline) are the most promising causal chemoprophylactic agents currently under study. These molecules could become new alternatives for malaria control in the near future.

KEY WORDS

Chemoprophylaxis; In vivo; Malaria; Plasmodium

RESUMO

Progressos nas pesquisas e desenvolvimento de profilaxia primária para a malária

A malária é uma doença infecciosa de importância epidemiológica mundial, ela é produzida por diferentes espécies do gênero *Plasmodium*. A profilaxia primária previne a infecção e /ou desenvolvimento das formas hepáticas de *Plasmodium* spp.

A profilaxia é o primeiro pilar na estratégia técnica global da OMS sobre a malária (2016-2030). Em concordância uma revisão sistemática da literatura foi desenvolvida como propósito de determinar o estado da arte sobre a profilaxia primária para a malária em

modelos experimentais *in vivo*, a fim de contribuir no conhecimento, apresentando uma visão geral sobre o assunto e fazendo um sinal de alerta para a importância e a necessidade do uso de novos medicamentos de efeito profilático.

Os seguintes bancos de dados foram consultados: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar e o site oficial da Organização Mundial da Saúde (OMS). Combinando descritores ou palavras-chave: chemoprophylaxis, quimioprofilaxis, malaria, *Plasmodium* e *in vivo*. Depois de analisar 33 artigos da literatura mundial e 4 relatórios da OMS publicados entre 1995 e 2015, foi concluído que a molécula semisintético NCP-tazopsina e a moléculas sintéticas: KAF156 (imidazolpiperazina) e tafenoquine (8 aminoquinolina) são os agentes QC mais promissores no momento, por tanto estas moléculas podem-se tornar uma alternativa para o controle da malária no futuro próximo.

PALAVRAS CHAVES

Quimioprofilaxis, Plasmodium; Malária, in vivo

INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad parasitaria que durante años ha representado una seria amenaza mundial para la salud pública (1). La causan protozoos del género *Plasmodium*, transmitidos al hombre por la picadura de mosquitos del género *Anopheles* infectados con dichos protozoos (2). Las siguientes son las especies de *Plasmodium* que comúnmente parasitan al hombre: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi* (2); sin embargo, en 2014 se publicó el primer caso de infección humana por *P. cynomolgi* adquirida naturalmente (3).

En 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) calculó que cerca de 3200 millones de personas en 97 países estaban en riesgo de padecer malaria, y que en el mundo ocurrieron 214 millones de casos y 438 000 muertes (1). En 2015, se informaron en el territorio colombiano 53 254 casos de malaria, de los cuales 51 % fueron por *P. falciparum* y 46 % por *P. vivax* (1).

El ciclo de vida de *Plasmodium* en el hospedero vertebrado se desarrolla en dos fases, una preeritrocítica o hepática que se inicia con la invasión del esporozoíto al hígado (forma infectante que inocula el mosquito). En este órgano, el parásito desarrolla la primera

esquizogonia, en la que se transforma de trofozoíto a esquizonte. En la malaria por *P vivax* y *P ovale*, algunos trofozoítos pueden permanecer dormidos (hipnozoítos) por un período variable (meses o años); posteriormente se activan y se desarrollan tardíamente hasta esquizontes, lo que se conoce como recaída. La segunda fase, llamada eritrocítica, se inicia cuando el esquizonte hepático libera los merozoítos que pasan a la circulación periférica e invaden los glóbulos rojos, donde se desarrollan y multiplican continuamente causando la sintomatología de la malaria (2).

Una de las estrategias de intervención para prevenir la malaria es la quimioprolifaxis, definida como “el uso de un fármaco antes de la infección hepática o sanguínea, con el objetivo de prevenir la infección o las manifestaciones clínicas” (4). El esquema terapéutico adaptado a cada zona malárica y a

la fase del ciclo del parásito que se quiera inhibir determina la elección del fármaco. Uno de los tipos de quimioprolifaxis es la causal (QC), que previene la infección inicial destruyendo las formas parasitarias hepáticas, derivadas directamente de los esporozoítos (4). Entre los medicamentos usados para este tipo de quimioprolifaxis, el único disponible comercialmente, que actúa sobre los esporozoítos y, por tanto, en el desarrollo de *Plasmodium* en este órgano, es la primaquina, una 8-aminoquinolina que además actúa sobre los hipnozoítos, disminuyendo la probabilidad de recaídas (5,6). La combinación de atovacuona más proguanil también actúa sobre las formas hepáticas en desarrollo (trofozoítos), pero no tiene acción contra los esporozoítos ni contra los hipnozoítos (7,8) (figura1).

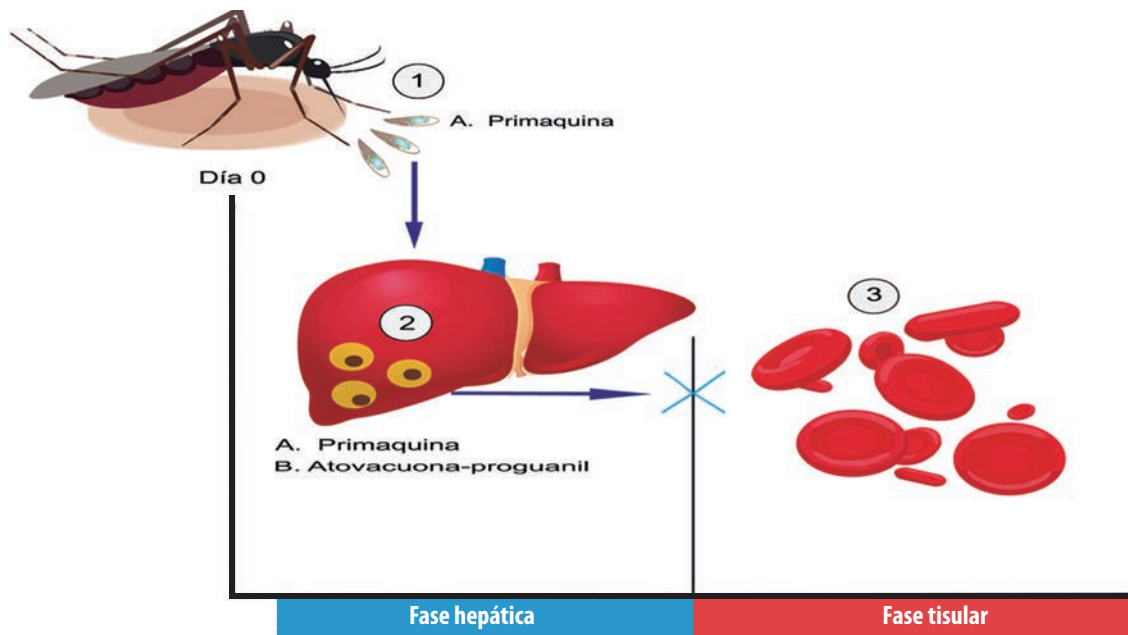


Figura 1. Quimioprolifaxis causal. 1. Inoculación de los esporozoítos por el mosquito. 2. Infección y desarrollo de la fase hepática. 3. Los quimioprolifáticos causales (A y B) evitan el paso del parásito a la circulación periférica y la invasión de los glóbulos rojos. **A. Primaquina:** actúa sobre los esporozoítos (1) inhibiendo la infección y sobre los estadios hepáticos (2) evitando su desarrollo **B. Combinación atovacuona-proguanil:** actúa sobre los estadios hepáticos (2) inhibiendo el desarrollo. Fuente: adaptado de Schwartz, 2012 (7)

La tafenoquina es otra 8-aminoquinolina que está siendo probada en estudios clínicos en humanos (fase III) (6). También se han evaluado como quimioproliféricos causales otros fármacos como antihistamínicos y antibióticos (9-11), y algunos de ellos, como la azitromicina, se usan actualmente en esquemas combinados para tratar la malaria (11).

Una fuente importante de materia prima para la obtención de medicamentos con acción terapéutica para malaria son los compuestos naturales, derivados principalmente de plantas. Se ha evaluado la acción antiplasmodial en sangre de muchas de las plantas usadas por la medicina tradicional para tratar la malaria (12), pero a pocas se les ha evaluado la actividad quimioproliférica causal (AQC) (13-16), posiblemente por el desconocimiento que se tiene de la biología del parásito en su fase preeritrocítica y por las dificultades para trabajar con modelos *in vitro* e *in vivo*, debido a los bajos porcentajes de infección que se logran con un alto número de esporozoítos, los costos y la manipulación de animales de laboratorio. Estas limitaciones han llevado a que no se conozcan con exactitud los mecanismos de acción y los blancos terapéuticos de medicamentos antimaláricos como la primaquina (6).

Recientemente han cobrado importancia la evaluación y el desarrollo de moléculas con acción QC debido a la reducción aproximada de 37 % en las cifras mundiales de malaria (1), aspecto que ha traído consigo un panorama alentador para efectos del control, la eliminación y la posible erradicación de la malaria. La puesta en marcha de una importante herramienta preventiva como la QC podría ser una estrategia para reducir la carga de morbilidad en las regiones endémicas para malaria; sin embargo, en la actualidad se cuenta con pocos medicamentos y estos pueden producir efectos adversos serios, como es el caso de la primaquina, o tienen eficacia limitada como la atovaquona. Por ello, es imperativo, para las comunidades afectadas por malaria, el desarrollo o el mejoramiento de compuestos activos antimaláricos, que actúen como QC y que se puedan usar de forma segura en toda la población (17). Esta revisión presenta el panorama actual de las investigaciones de compuestos QC en modelos *in vivo* para malaria.

METODOLOGÍA

Revisión no sistemática en la que se incluyeron 33 artículos y 4 informes de la OMS, publicados en inglés entre 1995 y 2015. En español o portugués no se encontró ningún artículo sobre el tema. La búsqueda se hizo en las bases de datos PubMed, ScienDirect, Google Scholar y en la página oficial de la OMS; se leyeron todos los resúmenes arrojados por las bases de datos y se incluyó solamente el material bibliográfico en que evaluaron la AQC *in vivo* de compuestos que han sido aprobados para uso en diferentes enfermedades o que están en fase de desarrollo. Se usaron las siguientes palabras clave: *quimioprolifaxis*, *chemoprophylaxis*, *Plasmodium*, *malaria* e *in vivo*.

RESULTADOS

QUIMIOPROLIFÉRICOS CAUSALES DISPONIBLES ACTUALMENTE

Por recomendación de la OMS en 2015, la quimioprolifaxis para malaria está indicada solo en viajeros no inmunes que se desplazan a zonas endémicas y en la población africana que se encuentra en mayor riesgo de enfermar o morir a causa de esta enfermedad, como las mujeres embarazadas y los niños menores de 5 años (18). A continuación se describen los medicamentos disponibles y recomendados por la OMS como QC:

Primaquina

Es una 8-aminoquinolina (figura 2) con tres características principales: su actividad antiplasmodial sobre los esporozoítos que infectan el hepatocito; la esterilización de los gametocitos (formas infectantes para el vector) y la muerte de las formas hepáticas como trofozoítos e hipnozoítos (6). Este grupo de moléculas tiene un metabolismo rápido (vida media de eliminación entre 4 y 6 horas); producen efectos gastrointestinales adversos, como dolor abdominal y vómito, y hemólisis en personas con deficiencia de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD). Esta enzima se encuentra en todas las células, es la responsable de catalizar la primera reacción de la vía de las

pentosas fosfato y está implicada en la defensa de la célula contra el estrés oxidativo (19). Los individuos con deficiencia de esta enzima en sus eritrocitos tienen disminuida la generación de NADPH reducido, lo que lleva a que no se reduzca el glutatión oxidado y por esto son incapaces de contrarrestar estímulos oxidativos (20). En estas condiciones, las 8-aminoquinolinas generan un estado de estrés oxidativo intraeritrocítico que puede desencadenar la lisis de estas células o su eliminación por el bazo, produciendo efectos secundarios como anemia hemolítica grave; esto hace que su uso sea restringido en grupos poblacionales de alto riesgo como las mujeres embarazadas y los niños menores de 2 años (21). Estos efectos dependen de la dosis del medicamento y del estado genético del paciente (21,22).

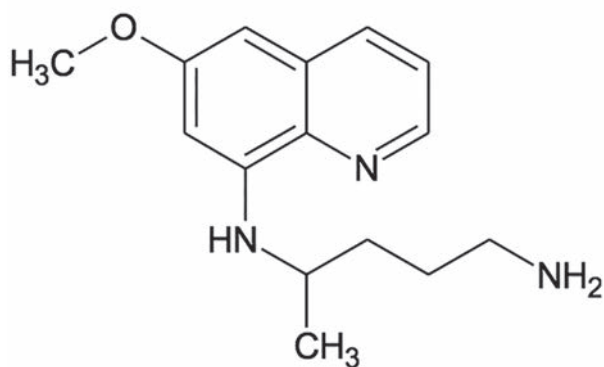


Figura 2. Estructura de la primaquina

La primaquina fue desarrollada en 1940 por las fuerzas armadas estadounidenses y la FDA (*Food and Drug Administration*) la aprobó en 1952 para el tratamiento de la malaria. Durante 60 años, este fármaco ha sido y sigue siendo el único medicamento licenciado para utilizar de forma quimioproláctica en humanos contra los esporozoítos, las formas hepáticas de todas las especies de *Plasmodium*, los hipnozoítos de *P. vivax* y *P. ovale* y los gametocitos de *P. falciparum* (18). Se desconoce su mecanismo de acción, pero se cree que el blanco biológico es la mitocondria del parásito y que actúa específicamente interfiriendo con la función antioxidante de la ubiquinona en el transporte de electrones de la cadena respiratoria, lo que genera un ambiente oxidativo que altera el potencial de

membrana, inhibiendo el intercambio iónico y produciendo la muerte del parásito (22). Otro mecanismo de acción propuesto para la primaquina es la producción dentro de la célula hospedera de peróxidos, superóxidos y radicales libres hidroxilados, mediada por sus metabolitos 5-hidroxiprimaquina y 6-metoxi-8-aminoquinolina, que generan un ambiente oxidativo perjudicial para el parásito (23).

La efectividad de la primaquina como QC se comprobó en 1955 en un estudio en prisioneros en Estados Unidos, que fueron sometidos a picaduras de mosquitos *Anopheles* infectados con *P. falciparum*. A estos individuos se les suministró primaquina a la dosis diaria de 0,5 mg/kg de peso por 3 o 5 días, por vía oral, y se pudo observar que fue eficaz solo cuando se administró entre los días 1 y 3 después de la picadura del mosquito (24). Estos resultados fueron las pistas iniciales para considerar la prevención de la infección con este medicamento.

Cuarenta años después, entre 1995 y 2001, en diferentes partes del mundo se hicieron estudios clínicos con asignación aleatoria que demostraron la efectividad de la primaquina como QC, tanto para *P. vivax* como para *P. falciparum* (25-28). Tales estudios hallaron entre 88 % y 96 % de protección para *P. falciparum* y entre 85 % y 99 % para *P. vivax*, determinada por el seguimiento de la parasitemia con gota gruesa, luego de la salida del individuo del área endémica, en zonas de alta (25,27,28) o baja transmisión (26). Además, evaluaron la dosis recomendada por la OMS de 30 mg/kg/día de primaquina o según el peso corporal (0,5 mg/kg/día) por un número muy variable de días de seguimiento (4-90 semanas) (tabla 1).

Atovacuona/proguanil

La atovacuona, una hidroxinaftoquinona, y el proguanil, una biguanida (figura 3), componen esta combinación de medicamentos que actúa sobre trofozoítos de *Plasmodium*, tanto hepáticos como eritrocíticos. Gracias a la similitud estructural con la ubiquinona, la atovacuona actúa como inhibidor competitivo de esta molécula e interfiere en el transporte de electrones en el complejo bc1 mitocondrial, disminuyendo el potencial de membrana; además, por esta misma ruta metabólica se altera la biosíntesis

Tabla 1. Estudios clínicos con asignación aleatoria que evaluaron la actividad quimioproláctica causal de la primaquina

Autor-año (referencia)	País (n)	Características de la población	Dosis	Seguimiento de la parasitemia	Porcentaje de protección (especie)
Baird 2001 (28)	Indonesia (97)	Adultos con G6PD normal	30 mg/kg/día por 20 semanas	4 semanas	88 % (<i>P. falciparum</i>) 92 % (<i>P. vivax</i>)
Schwartz 1999 (27)	Etiopía (106)	Adultos israelíes no inmunes	30 mg/kg/día por 15 semanas en área endémica y 1 semana después de salir de ella	Entre 8 y 37 meses	96 % (<i>P. falciparum</i>) 99 % (<i>P. vivax</i>)
Soto 1998 (26)	Colombia (122)	Soldados adultos no inmunes	30 mg/kg/día por 15 semanas en área endémica y 1 semana después de salir de ella	20 semanas	94 % (<i>P. falciparum</i>) 85 % (<i>P. vivax</i>)
Fryauff 1995 (25)	Indonesia (43)	Adultos con G6PD normal	0,5 mg/kg/día por 50 semanas	1 año	94,5 % (<i>P. falciparum</i>) 90,4 % (<i>P. vivax</i>)

de la pirimidina, vía de la que depende el parásito para sintetizar *de novo* sus ácidos nucleicos. Se cree que el proguanil potencia este mecanismo de acción, pero esta hipótesis no se ha comprobado aún; lo que se ha logrado comprobar es que el proguanil inhibe la acción de la enzima dihidrofolato reductasa lo que tiene como resultado la reducción de los cofactores de tetrahidrofolato que son necesarios para el metabolismo celular y la síntesis del ADN (29).

En 2012, Deye y colaboradores, en el Centro de Ensayos Clínicos Silver Spring (Maryland), hicieron un estudio controlado con placebo, doble ciego y con asignación aleatoria, para establecer la eficacia de atovacuona-proguanil como QC. Incluyeron 30

voluntarios que recibieron aleatoriamente uno de los siguientes regímenes de esta combinación (dosis en mg): régimen 1: 250/100 un día antes de la exposición a mosquitos infecciosos (día -1); régimen 2: 250/100 en el día 4 postinfección; régimen 3: 250/100 en el día -7; régimen 4: 500/200 en el día -7; régimen 5: 1000/400 en el día -7. Todos los regímenes incluyeron un grupo control, en el que los participantes recibieron placebo y desarrollaron parasitemia. Los mosquitos usados en los experimentos estaban infectados con la cepa 3D7 de *P. falciparum* y el seguimiento de la parasitemia se hizo durante 90 días con gota gruesa. Dos individuos del grupo 3 y uno del grupo 5 desarrollaron parasitemia; los restantes en los demás grupos fueron protegidos del desarrollo de la infección (30).

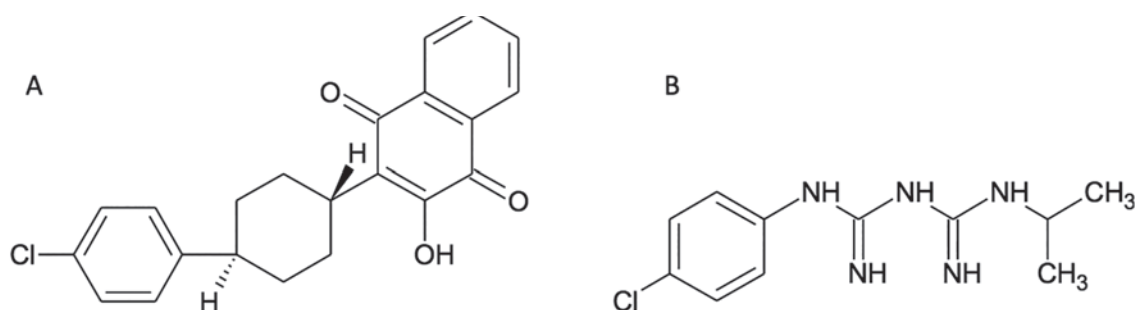


Figura 3. Estructuras de la atovacuona (A) y el proguanil (B)

Otro estudio (31) que evaluó la combinación atovaquona/proguanil se hizo en 150 individuos residentes en áreas no endémicas de Indonesia que viajaron a Papúa, área endémica para malaria. En esta investigación se suministró el esquema de tratamiento en tres momentos o fases: el primero consistió en tratar a los participantes con 1000 mg de atovaquona más 400 mg de proguanil por 3 días, seguidos por 30 mg de primaquina una vez al día por 14 días, para un total de 17 días, con el fin de destruir cualquier forma parasitaria preexistente. En la fase 2, se dieron 250 mg de atovaquona y 100 mg de proguanil por 20 semanas, y en la fase final se dio igual tratamiento por 4 semanas. La eficacia protectora del esquema evaluado fue de 84 % para *P. vivax* (IC95 %: 44 %-95 %) y de 96 % (IC95 %: 72 %-99 %) para *P. falciparum*, lo que representó una protección para malaria de 93 % (IC95 %: 77 %-99 %). Cabe resaltar que en este estudio la eficacia de la combinación atovaquona/proguanil se confunde por el uso de un segundo medicamento, la primaquina.

MOLÉCULAS DE ORIGEN SINTÉTICO CON ACCIÓN QUIMIOPROFILÁCTICA CAUSAL EN EVALUACIÓN

Tafenoquina

Es una 8-aminoquinolina derivada de la primaquina (figura 4) que, a diferencia de los demás antimaláricos de este grupo, se absorbe y metaboliza lentamente cuando se administra de forma oral, lo que hace que tenga una vida media de eliminación larga (14-16 días) (6). Esta molécula está siendo evaluada desde 1978 como un sustituto de la primaquina y actualmente se encuentra en estudios en fase III en humanos (6). La actividad QC de la tafenoquina se ha evaluado principalmente en África mediante estudios clínicos aleatorizados (32-36) (tabla 2) en los que se han evaluado diferentes esquemas de tratamiento, concentraciones y días, por esto, solo algunos resultados son comparables. Se ha observado que los efectos adversos gastrointestinales luego del uso de este compuesto son dosis-dependientes y no graves a la concentración más alta evaluada (400 mg dosis diaria) (32).

En un estudio en 1512 soldados australianos se observó que la tafenoquina a la dosis única de 400 mg/kg causó en 74 % de los 179 participantes efectos gastrointestinales como náuseas, dolor abdominal y

diarrea, mientras que solo 23,5 % de los voluntarios que tomaron primaquina por 3 días a la dosis diaria de 0,75 mg/kg presentaron tales efectos; ello indica que a dosis terapéuticas la primaquina causa menos efectos adversos que la tafenoquina. Los autores resaltan que a estas dosis los medicamentos previnieron recaídas de *P. vivax* en 92,1 % y 92,5 % en los participantes tratados con tafenoquina y primaquina, respectivamente (33).

Imidazolpiperazina

Las imidazolpiperazinas son un grupo de 1035 aminas cíclicas saturadas (figura 5), con una alta actividad sobre las formas hepáticas y sanguíneas de *Plasmodium* (37-39), pero aún se desconoce su mecanismo de acción (40). KAF156 es un compuesto de este grupo, desarrollado por la compañía farmacéutica Novartis® y evaluado como QC inicialmente en ratones Suizos infectados el día 0 con 10^5 esporozoítos de *P. berghei* por vía intravenosa. En este estudio, cinco grupos experimentales de animales recibieron una dosis oral única de 10 mg/kg del compuesto dos horas antes de ser inoculados con el parásito y se hicieron controles de la parasitemia los días 4, 5, 6, 7, 10, 15, 21 y 31. Ninguno de los ratones desarrolló parasitemia, lo que indicó que el compuesto tuvo una AQC del 100 % (41). En la actualidad se está haciendo un estudio clínico sin asignación aleatoria para evaluar la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y eficacia de KAF156 en pacientes infectados con *P. vivax* y *P. falciparum* (42).

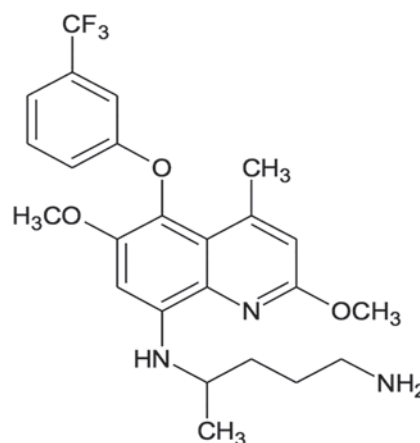


Figura 4. Estructura de la tafenoquina

Tabla 2. Estudios clínicos aleatorizados que evalúan la eficacia de la tafenoquina como quimioproláctico causal en malaria

Autor, año (referencia)	País (n)	Características de la población	Dosis	Seguimiento de la parasitemia en semanas ^a	Especie y eficacia ^b
Nasveld, 2010 (33)	Timor (492)	Soldados no inmunes	200 mg/kg semanal por 6 meses	24	<i>P. vivax</i> : 99,1 %
Walsh, 2004 (34)	Tailandia (205)	Soldados no inmunes	Grupo 1: 400 mg/kg/día por 3 días, y luego la misma dosis semanal por 5 meses Grupo 2: 400 mg/kg/día por 3 días y luego una dosis de placebo semanal por 5 meses	12	<i>P. vivax</i> : 96 % <i>P. falciparum</i> : 100 %
Hale, 2003 (32)	Ghana (509)	Adultos no inmunes	Grupo 1: 25 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas Grupo 2: 50 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas Grupo 3: 100 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas Grupo 4: 200 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas	15	<i>P. falciparum</i> Grupo 1: 32 % Grupo 2: 84 % Grupo 3: 87 % Grupo 4: 86 %
Shanks, 2001 (35)	Kenia (187)	Adultos no inmunes	Grupo 1: 400 mg/kg/día por 3 días y placebo semanal por 13 semanas Grupo 2: 200 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas Grupo 3: 400 mg/kg/día por 3 días y la misma dosis semanal por 13 semanas	12	<i>P. falciparum</i> . Grupo 1: 68 % Grupo 2: 86 % Grupo 3: 89 %
Lell, 2000 (36)	Gabón (426)	Niños y adultos	Diaria por 3 días Grupo 1: 31,25 mg/kg Grupo 2: 62,5 mg/kg Grupo 3: 125 mg/kg Grupo 4: 250 mg/kg	10	<i>P. falciparum</i> Grupo 1: 0 % Grupo 2: 80 % Grupo 3: 93 % Grupo 4: 100 %

^aTiempo del seguimiento luego de que el paciente terminó el tratamiento. ^bDeterminada por la ausencia de parásitos en gota gruesa durante el seguimiento

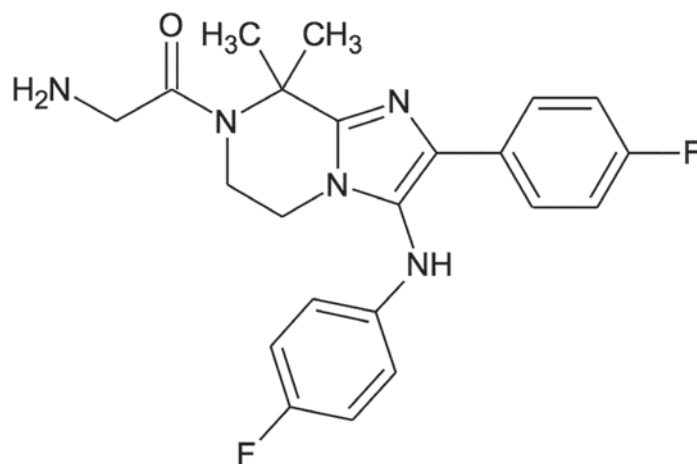


Figura 5. Estructura de la imidazolpiperazina (KAF156)

Antihistamínicos

En 1998, Singh y Puri (43) evaluaron, en un modelo murino de malaria, la actividad QC de cinco agentes tricíclicos antihistamínicos, antagonistas del receptor 1 de la histamina: ciproheptadina, ketotifeno, loratadina, terfenadina y azatadina (figura 6). Además, usaron la pirimetamina y la primaquina como fármacos de referencia. Los medicamentos se administraron por vía oral a grupos de 10 ratones, dos días antes de infectarlos con 1×10^5 esporozoítos de *P. yoelii nigeriensis* (cepa N-67) y un día después de la inoculación del parásito. Se hizo seguimiento parasitológico por microscopía desde el día 3 hasta el 28 y se consideró como no infectados a los que fueron negativos para *Plasmodium* al día 28. El estudio demostró que a la dosis de 5 mg/kg por 3 días la ciproheptadina y el ketotifeno tuvieron 100 % de AQC; además, que la terfenadina, la loratadina y la azatadina a la dosis de 50 mg/kg también fueron 100 % eficaces. El grupo de ratones control positivo, que fueron tratados con primaquina a la dosis de 32 mg/kg y con 0,1 mg/kg de pirimetamina no hicieron parasitemia, mientras que todos los del grupo control negativo a los que solo se les inoculó el vehículo en el que se disolvió el medicamento, presentaron parasitemias patentes entre los días 3 y 5, lo que habla de la validez del estudio.

Antibióticos

La azitromicina es un antibiótico del grupo de los macrólidos (figura 7), que inhibe la síntesis de proteínas por unión a la subunidad 50s del ribosoma y translocación de los péptidos. Se evaluó este antibiótico como QC contra *Plasmodium* en 6 monos Rhesus infectados con 1×10^5 esporozoítos de *P. cynomolgi*, por vía intraperitoneal el día 0, y se les dio el antibiótico por vía oral los días -1 al 7, a la dosis de 25 mg/kg/día (n = 3), 12,5 mg/kg/día (n = 2) y 6,25 mg/kg/día (n = 1). Luego de un seguimiento de la parasitemia por 60 días con gota gruesa, se observó que todos los monos la desarrollaron en este intervalo. El estudio también evaluó la AQC de este mismo antibiótico en ratones Suizos infectados con 1×10^5 esporozoítos de *P. yoelii nigeriensis*, a concentraciones de 25, 50 y 100 mg/kg/día. Se halló que la azitromicina dada a la dosis de 25 mg/kg no protege a los ratones del desarrollo de parasitemia, pero que a las dosis de 50 y 100 mg/kg/día

protegió de la infección al total de ellos (43). Los autores concluyeron que la azitromicina es eficaz como QC a dosis superiores a 50 mg/kg/día por 9 días.

La azitromicina administrada como monoterapia y en combinación con pirimetamina o sulfadoxina, fue evaluada en 11 grupos de entre 6 y 10 ratones Suizos infectados (día 0) por vía intravenosa con 10^5 esporozoítos de *P. yoelii nigeriensis* (cepa N67). Los ratones fueron tratados entre los días -1, 0 y +1, y se monitorizó el desarrollo de parasitemia por 28 días con gota gruesa. Los esquemas que tuvieron 100 % de efecto profiláctico causal fueron (en mg/kg/día): 1. Azitromicina 30; 2. Azitromicina 10 + 0,1 de pirimetamina; 3. Azitromicina 10 + 0,05 de pirimetamina; 4. Azitromicina 10 + 0,025 de pirimetamina; 5. Azitromicina 10 + 0,012 de pirimetamina; 6. Azitromicina 10 + sulfadoxina 1. Estos resultados sugieren que la azitromicina, sea como monoterapia o en combinación con un segundo medicamento como sulfadoxina o pirimetamina, tiene AQC sobre *P. yoelii* (11).

MOLÉCULAS DE ORIGEN NATURAL CON ACCIÓN QUIMIOPROFILÁCTICA CAUSAL

Se encontraron cuatro estudios en los que se evaluaron moléculas de origen natural como QC en modelos *in vivo* (13-16), entre ellos el llevado a cabo por Carraz y colaboradores en 2006 (13), quienes determinaron la actividad preventiva de tazopsina y N ciclopentiltazopsina (NCP-tazopsina), aisladas y modificadas de la planta *Strychnopsis thouarsii* (Menispermaceae), endémica de Madagascar. El estudio se hizo en cinco grupos de cinco ratones cada uno, a los que se les inyectaron retroorbitalmente entre 4000 y 10 000 esporozoítos de *P. yoelii* (cepa 265 BY). Como tratamiento, el primer grupo recibió 100 mg/kg/día por 4 días de tazopsina; el segundo, 100 mg/kg/día por 4 días de NCP-tazopsina; el tercero, 100 mg/kg/día por 4 días de NCP-tazopsina; el cuarto, 200 mg/kg/día por 4 días del mismo compuesto; el quinto fue el control, que recibió tween al 10 % en agua estéril. Los grupos 3, 4 y 5 fueron inoculados con 10 000 esporozoítos. Los resultados mostraron que 70 % de los ratones del primer y segundo grupos no desarrollaron parasitemia durante los 28 días de seguimiento; el tercer grupo lo hizo en un 60 %, y en ningún ratón del grupo 4 se

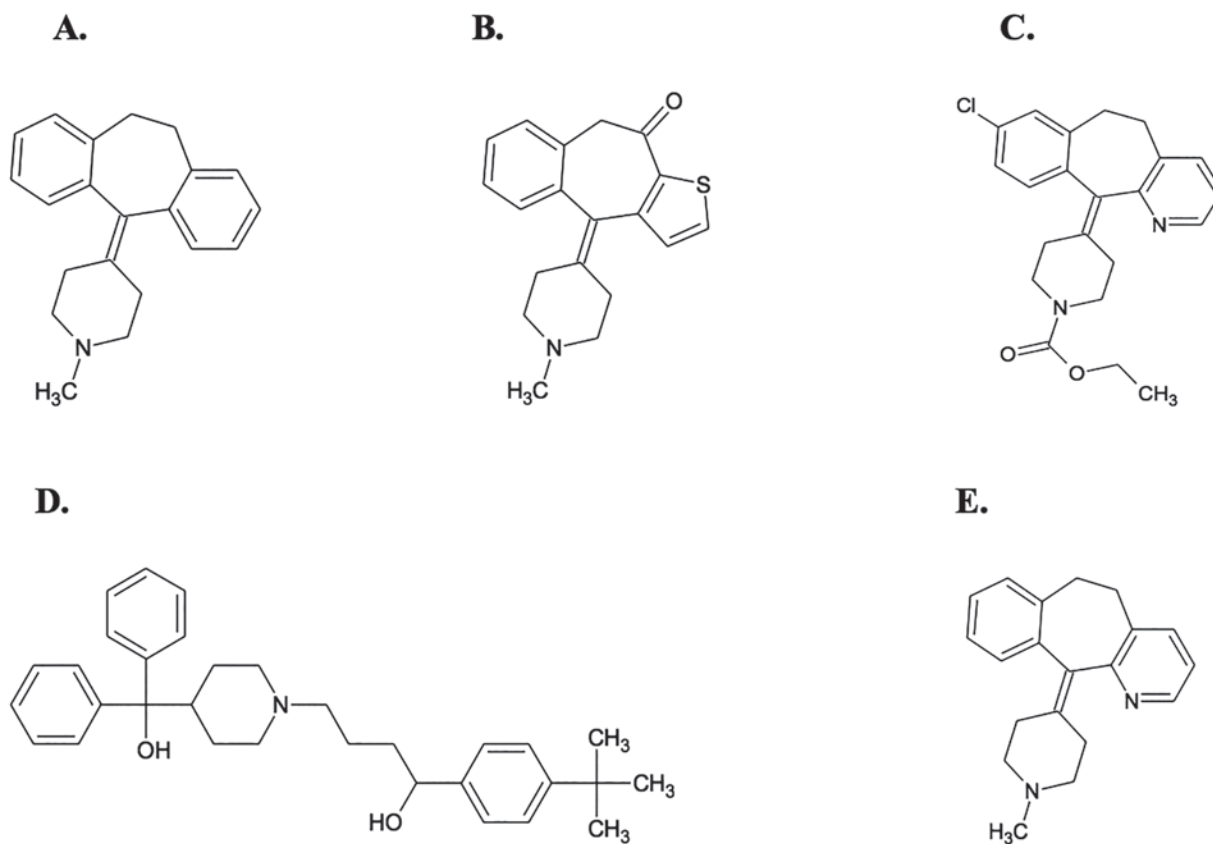


Figura 6. Estructura de antihistamínicos. A. Ciproheptadina. B. Ketotifeno. C. Loratadina. D. Terfenadina. E. Azatadina

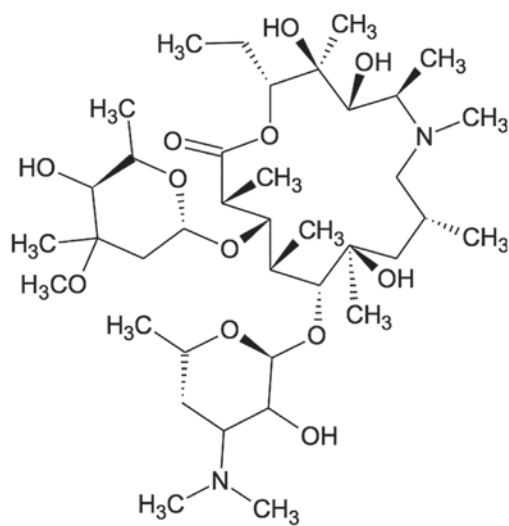


Figura 7. Estructura de la azitromicina

observaron parásitos en la sangre periférica. Lo anterior demuestra que estos compuestos administrados a diferentes dosis superiores a 200 mg/kg/día por 4 días y con diferente inóculo pueden inhibir el desarrollo de la parasitemia; además, se puede concluir que el compuesto natural (tazopsina) tiene menor AQC que su derivado semisintético (NCP-tazopsina) (13) (tabla 3).

En Asia, la soya se usa frecuentemente en la dieta. El componente más abundante de esta leguminosa (Fabaceae) es la genisteína, un fitoestrógeno que pertenece a la categoría de las isoflavonas (44). A este compuesto se le ha probado su efecto para prevenir el cáncer y otras enfermedades crónicas (45). En 2008, Cunha-Rodrigues y colaboradores evaluaron su actividad profiláctica causal en malaria en ratones infectados por vía intravenosa con 1×10^4 esporozoítos de *P. berghei*, a los cuales se les administró por vía

intraperitoneal una dosis de 200 mg/kg de genisteína; los autores concluyeron que el compuesto disminuyó la infección hepática en los ratones en un 64 %, medida por qRT-PCR luego de la administración de este compuesto y propusieron usar esta leguminosa como una medida preventiva para residentes de áreas endémicas (tabla 3) (16).

En 2008, Andrade-Nieto y colaboradores evaluaron la AQC de extractos de la planta amazónica *Ampeloziziphus amazonicus*, en ratones infectados con *P. berghei* cepa ANKA, suministrado por vía oral por 6 días a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg. Se usaron dos grupos control, el negativo (tween 20 al 2 % en agua) y el positivo (primaquina). Concluyeron que el extracto de la planta dado a la dosis de 400 mg/kg previno la infección en 37 % de los ratones, es decir en 3 de 8 animales (tabla 3) (14).

Tabla 3. Resumen de estudios que evaluaron la actividad quimioproláctica causal de moléculas de origen natural

Autor, año (referencia)	Planta (compuesto evaluado)	Modelo evaluado	Dosis del compuesto	Principales hallazgos
Carraz, 2006 (13)	<i>Strychnopsis thourasii</i> (tazopsina y NCP-tazopsina)	Ratones Suizos infectados con <i>P. yoelii</i> cepa 265 BY	Días: -1, 0, 1 y 2 Grupo 1: 100 mg/kg/día de tazopsina Grupo 2: 100 mg/kg/día de NCP-tazopsina Grupo 3: 200 mg/kg/día de NCP-tazopsina	Inhibición de la infección: Grupos 1 y 2: 70 % Grupo 3: 60 % Grupo 4: 100 %
Coppi, 2006 (15)	<i>Allium sativum</i> (Alicina)	Ratones Suizos Webster infectados con <i>P. yoelii</i>	Grupo 1: 5 y 8 mg/kg, 60 minutos preinfección Grupo 2: 5 y 8 mg/kg, 30 minutos preinfección Grupo 3: 5 y 8 mg/kg, en el momento de la infección	Inhibición de la infección: 0 % en cada uno de los grupos Carga parasitaria (diferencia con respecto al control): Grupo 1: p 0,25 Grupos 2 y 3: p < 0,001
Andrade-Neto, 2008 (14)	<i>Ampeloziziphus amazonicus</i> (cerveza india)	Ratones CD1-infectados naturalmente con <i>P. berghei</i> cepa ANKA	100, 200 y 400 mg/kg de peso por 6 días, después de la infección	Inhibición de la infección: 37 % de los ratones que recibieron la dosis de 400 mg/kg de peso
Cunha-Rodrigues, 2008 (16)	Fabaceae (genisteína)	Ratones C57BL/6 infectados con <i>P. berghei</i>	200 mg/kg 6 horas antes de la infección	Inhibición de la infección: 64 %

Otra molécula evaluada como quimioprolifáctico causal en un modelo murino de malaria (ratones Swiss Webster infectados con *P. yoelii*) fue la alicina, un tio-sulfonato que se encuentra en el ajo (*Allium sativum*); al parecer, su AQC se debe a la inhibición del clivaje de la proteína circunsporozoítica en los esporozoítos, impidiendo la invasión de esta forma parasitaria al hepatocito (15). En 2006, Coppi y colaboradores evaluaron esta molécula mediante ensayos en los que se administró por vía intravenosa a dosis de 5 y 8 mg/kg a grupos de 6 ratones, infectados por la misma vía con 1×10^4 esporozoítos, así: al grupo 1 se le administró el compuesto 60 minutos antes de la infección; al grupo 2, 30 minutos antes y al grupo 3, en el momento de la infección. Al grupo control (n = 6) se le administró PBS (buffer fosfato salino). Los ratones de los grupos 2 y 3 que recibieron tratamiento 30 minutos antes o en el momento de la inoculación de los esporozoítos presentaron parasitemias menores con respecto al control, y esta diferencia fue estadísticamente significativa, así: grupo 2 (p < 0,001) y grupo 3 (p < 0,001). Además, la parasitemia fue dependiente de la dosis, es decir, que los ratones a los que se les administraron 8 mg/kg del compuesto desarrollaron parasitemias más bajas, en comparación con los que recibieron 5 mg/kg (p < 0,001). Cabe resaltar que este compuesto no previno ni la infección ni la muerte de los animales (15) (tabla 3).

DISCUSIÓN

La OMS considera que la malaria es una enfermedad tropical desatendida (46). A pesar de su evidente carga de morbimortalidad, son escasos los medicamentos que se usan para el tratamiento y la prevención y el parásito ha desarrollado resistencia a muchos de ellos; otros son de eficacia dudosa y presentan altos niveles de toxicidad (47).

Mundialmente, *Plasmodium falciparum* es la especie que aporta más casos de malaria y se ha asociado en mayor proporción a la muerte (1). Estos aspectos, sumados a la existencia de un cultivo continuo de la fase sanguínea han posibilitado su investigación, descuidando otras especies como *P. vivax* y la fase hepática del ciclo de *Plasmodium*, razón por la cual hoy se cuenta con más medicamentos para tratar los síntomas (fase eritrocítica), que para prevenir la infección (fase hepática) (48).

Entre los fármacos con AQC, las 8-aminoquinolinas, específicamente la primaquina es el único disponible comercialmente, con acción sobre los esporozoítos, hipnozoítos y gametocitos de estadio V (48,49). Sin embargo, sus efectos secundarios pueden poner en riesgo la vida del paciente (6). Actualmente se están evaluando en humanos alternativas terapéuticas en este mismo grupo de medicamentos, como la tafenoquina, y se ha demostrado que esta molécula tiene una vida media larga (16 días) (6), lo que la hace un compuesto QC promisorio. Sin embargo, se pueden presentar efectos adversos como hemólisis y molestias gastrointestinales en igual o mayor proporción que con la primaquina (50).

También se está probando en humanos la imidazolpiperazina (KFA156), pero aún no se han publicado resultados de su eficacia en pacientes infectados con *Plasmodium*. Dada su plasticidad química, los compuestos sintéticos de tipo imidazolpiperazina proporcionan una base estructural para el desarrollo de medicamentos en general y como antipalúdicos, ya que su estructura química no se relaciona con ningún medicamento antimalárico actual, lo que representa una ventaja porque evita la resistencia cruzada (38).

Otros antimaláricos con AQC, que se usan en combinación son la atovacuona y el proguanil, pero estos no evitan el desarrollo de hipnozoítos, ni actúan sobre los esporozoítos, lo que disminuye su actividad QC. *P. falciparum* ha desarrollado resistencia a esta combinación y además es costosa comparada con la primaquina (51), que es más asequible a la población y tiene efectos sobre todas las formas parasitarias hepáticas (7).

Se han evaluado como QC compuestos de origen sintético como antibióticos (10,11) y antihistamínicos (9) y se ha evidenciado su actividad; sin embargo, faltan estudios que respalden su uso.

En esta revisión de la literatura se encontraron informes de cuatro moléculas de origen natural (13-16), que previenen la infección entre 37 % y 70 % en diferentes cepas de ratón infectadas con *P. yoelii* y *P. berghei*. El compuesto semisintético NCP-tazopsina, obtenido por N-alquilación del compuesto natural tazopsina, mostró un porcentaje de prevención de la infección del 100 %. Estos hallazgos demuestran que las plantas representan una alternativa terapéutica para

la prevención de la malaria, pero que la investigación es hoy muy limitada.

Actualmente la QC solo está indicada para personas no inmunes que viajan a áreas endémicas; sin embargo, recientemente ante la disminución mundial de los casos de malaria (1), se ha sugerido usar masivamente esta herramienta quimioproláctica en poblaciones endémicas para controlar y eliminar la enfermedad. Un medicamento que prevenga la infección y el desarrollo del ciclo hepático, que tenga acción sobre los hipnozoítos y evite las recaídas generaría un buen escenario para el control y eliminación de la enfermedad.

En conclusión, pese a la necesidad que se tiene de medicamentos preventivos en malaria (52), solamente se está evaluando como QC un bajo número de moléculas de origen natural y sintético; entre estas, las más promisorias por el momento son la NCP-tasopzina, de origen semisintético, y las de origen sintético imidazolpiperazina (KAF156) y tafenoquina (8-aminoquinolina). La disponibilidad de un medicamento de uso seguro, que prevenga la infección por cualquier especie de *Plasmodium*, podría ser una herramienta importante para el control y eliminación de la malaria.

CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno que declarar

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. World Malaria Report 2015 [Internet]. Geneva: WHO; 2015 [cited 2016 Apr 27]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200018/1/9789241565158_eng.pdf?ua=1
2. Garnhan P. Malaria parasites of man: life-cycles and morphology (excluding ultrastructure). In: Wernsdorfer WH, McGregor I, editors. Malaria: Principles and Practice of Malariology. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988. p. 60-6.
3. Ta TH, Hisam S, Lanza M, Jiram AI, Ismail N, Rubio JM. First case of a naturally acquired human infection with *Plasmodium cynomolgi*. Malar J. 2014 Feb;13:68. DOI 10.1186/1475-2875-13-68.
4. Black RH, Canfield CJ, Clyde DF, Peters W, Wernsdorfer WH. Preventive use of antimalarials drugs. In: Chemotherapy of Malaria [Internet]. 2nd ed. Bruce-Chwatt LJ, editor. Geneva: WHO; 1986. p. 151-65 [cited 2016 Apr 27]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38605/1/WHO_MONO_27_%282ed%29.pdf
5. Grewal RS. Pharmacology of 8-aminoquinolines. Bull World Health Organ. 1981;59(3):397-406.
6. Recht J, Ashley E, White N. Safety of 8-Aminoquinoline antimalarial medicines [Internet]. Geneva: WHO; 2014 [cited 2016 Apr 27]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112735/1/9789241506977_eng.pdf?ua=1
7. Schwartz E. Prophylaxis of malaria. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2012;4(1):e2012045. DOI 10.4084/MJHID.2012.45.
8. Dembele L, Gego A, Zeeman AM, Franetich JF, Silvie O, Rametti A, et al. Towards an in vitro model of *Plasmodium* hypnozoites suitable for drug discovery. PLoS One. 2011 Mar;6(3):e18162. DOI 10.1371/journal.pone.0018162.
9. Singh N, Puri SK. Causal prophylactic activity of antihistaminic agents against *Plasmodium yoelii* nigeriensis infection in Swiss mice. Acta Trop. 1998 Jun;69(3):255-60.
10. Puri SK, Singh N. Azithromycin: antimalarial profile against blood- and sporozoite-induced infections in mice and monkeys. Exp Parasitol. 2000 Jan;94(1):8-14.
11. Neerja J, Puri SK. *Plasmodium yoelii*: activity of azithromycin in combination with pyrimethamine or sulfadoxine against blood and sporozoite induced infections in Swiss mice. Exp Parasitol. 2004 Jul-Aug;107(3-4):120-4.
12. Kirandeeep K, Meenakshi J, Tarandeeep K, Rahul J. Antimalarials from nature. Bioorg Med Chem. 2009;17(9):3229-56. DOI 10.1016/j.bmc.2009.02.050.
13. Carraz M, Jossang A, Franetich JF, Siau A, Ciceron L, Hannoun L, et al. A plant-derived morphinan as a novel lead compound active against malaria liver stages. PLoS Med. 2006 Dec;3(12):e513.

14. Andrade-Neto VF, Brandão MG, Nogueira F, Rosário VE, Kretzli AU. *Ampeloziziphus amazonicus* Ducke (Rhamnaceae), a medicinal plant used to prevent malaria in the Amazon Region, hampers the development of *Plasmodium berghei* sporozoites. *Int J Parasitol.* 2008 Nov;38(13):1505-11. DOI 10.1016/j.ijpara.2008.05.007.
15. Coppi A, Cabinian M, Mirelman D, Sinnis P. Antimalarial activity of allicin, a biologically active compound from garlic cloves. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 May;50(5):1731-7.
16. Cunha-Rodrigues M, Portugal S, Prudêncio M, Gonçalves LA, Casalou C, Bugar D, et al. Genistein-supplemented diet decreases malaria liver infection in mice and constitutes a potential prophylactic strategy. *PLoS One.* 2008 Jul;3(7):e2732. DOI 10.1371/journal.pone.0002732.
17. Wells TN, Burrows JN, Baird JK. Targeting the hypnozoite reservoir of *Plasmodium vivax*: the hidden obstacle to malaria elimination. *Trends Parasitol.* 2010 Mar;26(3):145-51. DOI 10.1016/j.pt.2009.12.005.
18. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria [Internet]. 3rd ed. Geneva: WHO; 2015 [cited 2016 Apr 27]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162441/1/9789241549127_eng.pdf
19. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *N Eng J Med.* 1991 Jan; 324:169-74. DOI 10.1056/NEJM199101173240306.
20. Frank JE. Diagnosis and management of G6PD deficiency. *Am Fam Physician.* 2005 Oct;72(7):1277-82.
21. Ministerio de la protección social de Colombia, Instituto Nacional de Salud, Organización Panamericana de la Salud. Guía para la atención clínica integral del paciente con malaria. Bogotá: Ministerio de la protección social de Colombia; 2010 [consultado 2016 Abr 27]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Documentacin%20Malaria/02%20Clinica%20Malaria.pdf>
22. Waters N, Edstein M. 8-Aminoquinolines: Primaquine and Tafenoquine. In: Staines HM, Krishna S, editors. *Treatment and prevention of malaria: Antimalarial Drug Chemistry, Action and Use.* Berlín, Alemania: Springer; 2012. p. 69-94.
23. Vázquez-Vivar J, Augusto O. Hydroxylated metabolites of the antimalarial drug primaquine. Oxidation and redox cycling. *J Biol Chem.* 1992 Apr;267(10):6848-54.
24. Arnold J, Alving AS, Hockwald RS, Clayman CB, Dern RJ, Beutler E, et al. The antimalarial action of primaquine against the blood and tissue stages of falciparum malaria (Panama, P-F-6 strain). *J Lab Clin Med.* 1955 Sep;46(3):391-7.
25. Fryauff DJ, Baird JK, Basri H, Sumawinata I, Purnomo, Richie TL, et al. Randomised placebo-controlled trial of primaquine for prophylaxis of falciparum and vivax malaria. *Lancet.* 1995 Nov;346(8984):1190-3.
26. Soto J, Toledo J, Rodríguez M, Sanchez J, Herrera R, Padilla J, et al. Primaquine prophylaxis against malaria in nonimmune Colombian soldiers: efficacy and toxicity. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 1998 Aug;129(3):241-4.
27. Schwartz E, Regev-Yochay G. Primaquine as prophylaxis for malaria for nonimmune travelers: A comparison with mefloquine and doxycycline. *Clin Infect Dis.* 1999 Dec;29(6):1502-6.
28. Baird JK, Lacy MD, Basri H, Barcus MJ, Maguire JD, Bangs MJ, et al. Randomized, parallel placebo-controlled trial of primaquine for malaria prophylaxis in Papua, Indonesia. *Clin Infect Dis.* 2001 Dec;33(12):1990-7.
29. McKeage K, Scott L. Atovaquone/proguanil: a review of its use for the prophylaxis of *Plasmodium falciparum* malaria. *Drugs.* 2003;63(6):597-623.
30. Deye GA, Miller RS, Miller L, Salas CJ, Tosh D, Macareo L, et al. Prolonged protection provided by a single dose of atovaquone-proguanil for the chemoprophylaxis of *Plasmodium falciparum* malaria in a human challenge model. *Clin Infect Dis.* 2012 Jan;54(2):232-9. DOI 10.1093/cid/cir770.
31. Ling J, Baird JK, Fryauff DJ, Sismadi P, Bangs MJ, Lacy M, et al. Randomized, placebo-controlled trial of atovaquone/proguanil for the prevention of *Plasmodium falciparum* or *Plasmodium vivax* malaria among migrants to Papua, Indonesia. *Clin Infect Dis.* 2002 Oct;35(7):825-33.
32. Hale BR, Owusu-Agyei S, Fryauff DJ, Koram KA, Adjuik M, Oduro AR, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial of tafenoquine for weekly prophylaxis against *Plasmodium falciparum*. *Clin Infect Dis.* 2003 Mar;36(5):541-9.

33. Nasveld PE, Edstein MD, Reid M, Brennan L, Harris IE, Kitchener SJ, et al. Randomized, double-blind study of the safety, tolerability, and efficacy of tafenoquine versus mefloquine for malaria prophylaxis in nonimmune subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Feb;54(2):792-8. DOI 10.1128/AAC.00354-09.
34. Walsh DS, Eamsila C, Sasiprapha T, Sangkharomya S, Khaewsathien P, Supakalin P et al. Efficacy of monthly tafenoquine for prophylaxis of *Plasmodium vivax* and multidrug-resistant *P falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 2004 Oct;190(8):1456-63.
35. Shanks GD, Oloo AJ, Aleman GM, Ohrt C, Klotz FW, Braitman D, et al. A new primaquine analogue, tafenoquine (WR 238605), for prophylaxis against *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Infect Dis.* 2001 Dec;33(12):1968-74.
36. Lell B, Faucher JF, Missinou MA, Borrmann S, Dangelmaier O, Horton J, et al. Malaria chemoprophylaxis with tafenoquine: a randomised study. *Lancet.* 2000 Jun;355(9220):2041-5.
37. Meister S, Plouffe DM, Kuhlen KL, Bonamy GM, Wu T, Barnes SW, et al. Imaging of *Plasmodium* liver stages to drive next-generation antimalarial drug discovery. *Science.* 2011 Dec;334(6061):1372-7. DOI 10.1126/science.1211936.
38. Wu T, Nagle A, Kuhlen K, Gagaring K, Borboa R, Francek C, et al. Imidazolopiperazines: hit to lead optimization of new antimalarial agents. *J Med Chem.* 2011 Jul;54(14):5116-30. DOI 10.1021/jm2003359.
39. Nagle A, Wu T, Kuhlen K, Gagaring K, Borboa R, Francek C, et al. Imidazolopiperazines: lead optimization of the second-generation antimalarial agents. *J Med Chem.* 2012 May;55(9):4244-73. DOI 10.1021/jm300041e.
40. Leong FJ, Zhao R, Zeng S, Magnusson B, Diagana TT, Pertel P. A first-in-human randomized, double-blind, placebo-controlled, single- and multiple-ascending oral dose study of novel Imidazolopiperazine KAF156 to assess its safety, tolerability, and pharmacokinetics in healthy adult volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Nov;58(11):6437-43. DOI 10.1128/AAC.03478-14.
41. Kuhlen KL, Chatterjee AK, Rottmann M, Gagaring K, Borboa R, Buenviaje J, et al. KAF156 is an antimalarial clinical candidate with potential for use in prophylaxis, treatment, and prevention of disease transmission. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Sep;58(9):5060-7. DOI 10.1128/AAC.02727-13.
42. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 2015 [cited 2016 Apr 27]. Efficacy, Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of KAF156 in Adult Patients With Acute, Uncomplicated *Plasmodium falciparum* or *Vivax* Malaria Mono-infection. Available from: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01753323>
43. Puri SK, Dutta GP. Spectrum of the antimalarial activity of a new macrolide antibiotic midecamycin in mice and monkeys. *Chemotherapy.* 1989;35(3):187-92.
44. Whitten P, Patisaul H. Cross-species and interspecies comparisons of phytoestrogen action. *Environ Health Perspect.* 2001; 109 (Suppl 1):5-20.
45. Holzbeierlein JM, McIntosh J, Thrasher JB. The role of soy phytoestrogens in prostate cancer. *Curr Opin Urol.* 2005 Jan;15(1):17-22.
46. Organización Mundial de la Salud. Suiza: OMS; 2017 [consultado 2016 Dic 18]. Enfermedades tropicales desatendidas: preguntas más frecuentes: ¿Qué son las enfermedades tropicales desatendidas? Disponible en: http://www.who.int/topics/tropical_diseases/qa/faq/es/
47. Giarolla J, Ferreira EI. Drug design for neglected disease in Brazil. *Mini Rev Med Chem.* 2015;15(3):220-42.
48. Baird JK. Eliminating malaria--all of them. *Lancet.* 2010 Dec;376(9756):1883-5. DOI 10.1016/S0140-6736(10)61494-8.
49. Mikolajczak SA, Vaughan AM, Kangwanrangsan N, Roobsoong W, Fishbaugher M, Yimamnuaychok N, et al. *Plasmodium vivax* liver stage development and hypnozoite persistence in human liver-chimeric mice. *Cell Host Microbe.* 2015 Apr;17(4):526-35. DOI 10.1016/j.chom.2015.02.011.
50. Walsh DS, Wilairatana P, Tang DB, Heppner DG Jr, Brewer TG, Krudsood S, et al. Randomized trial of 3-dose regimens of tafenoquine (WR238605) versus low-dose primaquine for preventing *Plasmodium vivax* malaria relapse. *Clin Infect Dis.* 2004 Oct;39(8):1095-103.

51. Fernando SD, Rodrigo C, Rajapakse S. Chemoprophylaxis in malaria: drugs, evidence of efficacy and costs. *Asian Pac J Trop Med*. 2011 Apr;4(4):330-6. DOI 10.1016/S1995-7645(11)60098-9.

52. Marshall E. Drugs. Reinventing an ancient cure for malaria. *Science*. 2000 Oct;290(5491):437-9.

