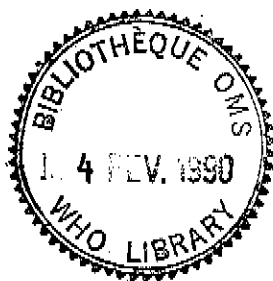

PROGRAMME
MONDIAL DE LUTTE
CONTRE LE **SIDA**

ET

PROGRAMME
MÉDECINE
TRADITIONNELLE

RAPPORT D'UNE CONSULTATION
INFORMELLE DE L'OMS SUR LES PRÉPARATIONS
MÉDICINALES TRADITIONNELLES ET LE SIDA:
RECHERCHE *IN VITRO* DE L'ACTIVITÉ

GENÈVE
6-8 FEVRIER 1989



ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



RAPPORT D'UNE CONSULTATION INFORMELLE DE L'OMS SUR LES
PREPARATIONS MEDICINALES TRADITIONNELLES ET LE SIDA :
RECHERCHE IN VITRO DE L'ACTIVITE ANTI-VIH

Genève, 6-8 février 1989

TABLE DES MATIERES

	<u>Page</u>
RESUME	i
1. Introduction	1
2. Activités en cours dans le domaine du traitement du SIDA par des produits naturels	2
3. Sélection des plantes en vue de la recherche d'activités antivirales	3
3.1 Sélection basée sur les utilisations ethnomédicales	4
3.2 Collecte aléatoire et criblage massif	5
3.3 Approfondissement de directions de recherche suggérées par la littérature	6
3.4 Approche chimiotaxinomique	7
4. Méthodes <u>in vitro</u> de criblage de remèdes traditionnels, plantes médicinales et autres produits naturels	7
4.1 Authentification des extraits soumis à l'analyse	8
4.2 Titrage <u>in vitro</u> de l'activité antivirale	8
4.3 Recherche d'une activité "immunostimulante"	9
4.4 Evaluation approfondie des agents prometteurs	9
5. Considérations d'ordre légal et éthique	10
6. Conclusions générales et recommandations	10
Références	12
Annexe Liste des participants	13

This document is not a formal publication of the World Health Organization (WHO), and all rights are reserved by the Organization. The document may, however, be freely reviewed, abstracted, reproduced or translated, in part or in whole, but not for sale or use in conjunction with commercial purposes.

The views expressed in documents by named authors are solely the responsibility of those authors.

Ce document n'est pas une publication officielle de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et tous les droits y afférents sont réservés par l'Organisation. S'il peut être commenté, résumé ou cité sans aucune restriction, il ne saurait cependant être reproduit ni traduit, partiellement ou en totalité, pour la vente ou à des fins commerciales.

Les opinions exprimées dans les documents par des auteurs cités nommément n'engagent que lesdits auteurs.

RESUME

L'unité de la Recherche biomédicale (BMR) du Programme mondial de Lutte contre le SIDA (GPA) et le Programme concernant la médecine traditionnelle (TRM) de l'Organisation mondiale de la Santé ont organisé une consultation informelle en vue de rationaliser l'étude des préparations médicinales traditionnelles susceptibles d'être utilisées dans le traitement du SIDA. La consultation a eu lieu au Siège de l'OMS, à Genève, du 6 au 8 février 1989. Elle a réuni huit participants venus de cinq pays (voir Annexe).

Les principaux points discutés ont été les suivants : a) recherches en cours et activités associées dans le domaine des produits naturels; b) méthodes de sélection des produits naturels en vue de la recherche d'activités antirétrovirales; c) méthodes in vitro de criblage de produits naturels et d) questions légales et éthiques concernant la recherche en médecine traditionnelle.

De nombreux produits à base de plantes sont utilisés par des sidéens et des tradipraticiens sans aucune preuve scientifique de l'activité anti-VIH qui leur est prêtée. Il a été signalé que des guérisseurs traditionnels proposent maintenant de soumettre leurs remèdes à une évaluation scientifique, ce qui devrait favoriser l'établissement d'un bon climat de collaboration dans la recherche d'un traitement du SIDA à partir de produits naturels.

Quelques études ont fourni des données sur l'activité inhibitrice contre le VIH de plantes telles que Viola yedoensis, Arctium lappa, Epidemium grandiflorum, Glycyrrhiza uralensis et Castanospermum australe.

La consultation s'est accordée pour considérer que de nouvelles initiatives seraient justifiées en vue de la recherche de composés anti-VIH sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle. En plus, la consultation a formulé des recommandations sur les méthodes de sélection des produits naturels pouvant présenter une activité anti-VIH et proposé des méthodes in vitro pour le criblage des extraits.

La sélection des produits naturels en vue d'un criblage biologique peut se fonder sur les utilisations ethnomédicales, la cueillette aléatoire, des directions de recherche tirées de la littérature ou une approche chimiotaxinomique qui conduit à rechercher des composés analogues parmi les espèces appartenant à une même famille botanique. La consultation a conclu que la méthode la plus économique pour identifier les végétaux présentant une activité anti-VIH consistait à exploiter les informations ethnomédicales et les directions de recherche suggérées par la littérature.

En ce qui concerne les méthodologies in vitro de recherche d'une activité anti-VIH, la consultation a noté qu'il existait actuellement toute une série de méthodes de titrage biochimiques ou à base de cultures cellulaires. Il a été reconnu qu'aucune de ces méthodes n'est idéale et qu'il est nécessaire de recourir à des tests de confirmation dans des systèmes multiples pour dresser un inventaire complet des possibilités d'utilisation d'un composé. Il est clair, cependant, que l'effet antiviral, quel que soit le système de titrage biologique utilisé, doit l'emporter sur la toxicité éventuelle de l'extrait ou du composé.

Constatant que l'on ne peut avoir une idée précise de l'effet immunostimulant prêté à un grand nombre de remèdes traditionnels, la consultation a recommandé de ne pas évaluer en priorité les extraits immunomodulateurs, étant donné que l'objectif consiste à identifier les agents anti-VIH.

S'étant penché sur les questions d'ordre légal et éthique, la consultation a été d'avis que les chercheurs devraient prendre des dispositions pour que les communautés qui ont fourni des informations sur des remèdes traditionnels soient récompensées et voient leurs contributions reconnues au cas où leurs informations conduiraient à la découverte d'un médicament anti-VIH.

Afin d'encourager la recherche sur l'utilisation de remèdes traditionnels dans le traitement du SIDA, l'OMS désignera les institutions qui pourront se charger des différentes activités que comporte l'évaluation scientifique des remèdes traditionnels en vue de leur utilisation dans le traitement du SIDA, par exemple la collecte des plantes, l'extraction, l'évaluation in vitro et in vivo ainsi que l'établissement de la structure des principes actifs.

1. Introduction

Des remèdes traditionnels sont utilisés empiriquement dans de nombreux pays pour traiter le SIDA. Une tâche nouvelle apparaît, qui consiste à évaluer l'application de ces traitements aux individus infectés par le VIH. Si l'on considère que, d'après les estimations mondiales actuelles, le nombre des personnes infectées par le VIH se situe entre 5 et 10 millions, la nécessité de disposer de moyens de traitement efficaces s'impose avec force. Il va falloir mobiliser toutes les ressources possibles en faveur des populations touchées. Il est donc indispensable d'évaluer les éléments des remèdes traditionnels, en particulier les plantes médicinales et autres produits naturels, dont on pourrait tirer des agents thérapeutiques efficaces et de coût abordable. Une telle entreprise nécessite une approche systématique.

C'est dans ce contexte que l'unité de la Recherche biomédicale du Programme mondial de Lutte contre le SIDA et le Programme de la médecine traditionnelle de l'Organisation mondiale de la Santé ont organisé à Genève, du 6 au 8 février 1989, une consultation informelle dont les objectifs étaient les suivants :

- 1) passer en revue l'information disponible sur l'état des recherches relatives aux remèdes traditionnels utilisés dans le traitement de l'infection à VIH et du SIDA;
- 2) procéder à un examen scientifique indépendant des activités menées actuellement dans le domaine des plantes médicinales et autres produits naturels pour évaluer in vitro et in vivo au stade préclinique les activités anti-rétrovirales et anti-transcriptases inverse de ces produits;
- 3) identifier les domaines de collaboration possible;
- 4) formuler des recommandations sur les principales directions de recherche correspondant aux objectifs du Programme mondial de Lutte contre le SIDA.

Cette consultation informelle a réuni huit participants venus de cinq pays (voir annexe). La réunion a été ouverte par le Dr Jonathan Mann, Directeur du Programme mondial de Lutte contre le SIDA de l'OMS. Il a rappelé aux participants les menaces que comporte la situation actuelle du SIDA dans le monde et la nécessité de découvrir rapidement un traitement efficace et de coût abordable. Il a souligné que la consultation ne devait pas se limiter aux plantes médicinales mais s'étendre également à d'autres produits naturels.

Le Dr Olayiwola Akerele, Directeur du Programme OMS de la Médecine traditionnelle, a également souhaité la bienvenue aux participants et exprimé sa satisfaction de pouvoir coopérer avec le groupe en vue d'établir un plan d'action pour la sélection de plantes médicinales en vue d'une recherche initiale d'éventuelles activités anti-VIH. Il a également décrit les objectifs et les activités du Programmes OMS de la médecine traditionnelle. Le Dr José Esparza, Chef a.i. de l'unité de la Recherche biomédicale de GPA a brièvement présenté la philosophie et les stratégies de recherche que son unité a élaborées pour appuyer le combat contre le SIDA. Le Dr Harry Osore a expliqué la méthode de travail. Le Dr Norman Farnsworth a été élu Président et les Dr Lu Weibo et Jerome Msonthi ont été désignés comme rapporteurs.

2. Activités en cours dans le domaine du traitement du SIDA par des produits naturels

Un grand nombre de produits d'origine végétale sont utilisés par les sidéens sans aucune preuve expérimentale de leur activité anti-VIH. On trouve parmi ces produits l'ail (Allium sativum), des champignons appelés shiitake (Lentinus edodes), la papaye (Carica papaya), le ginseng (Panas species), Aloe vera, la chélidoïne (Chelidonium majus), la racine d'une plante péruvienne (immunact), des extraits de la pomme d'un pin japonais, diverses essences florales, le bulbe d'une lilacée (Lilium longiflorum), le Fu-zheng (principe médicamenteux d'un remède traditionnel chinois) et une préparation tibétaine constituée de plusieurs plantes (Padma 28). Un certain nombre d'autres substances d'origine marine, fongique ou animale, ont également été utilisées.

Des préparations médicinales traditionnelles sont employées pour traiter le SIDA dans toutes les régions de l'OMS. Dans de nombreux pays d'Afrique, par exemple, il est fréquent que des patients qui se sont présentés à la consultation dans un hôpital, où un SIDA a été diagnostiqué, et qui s'aperçoivent que leur état ne s'améliore pas, quittent d'eux-mêmes l'hôpital pour se tourner vers d'autres traitements et se confient à des guérisseurs traditionnels. Certains cas sont suivis par les médecins des centres anti-SIDA et des centres d'aide psychosociale. En général, les thérapeutes traditionnels viennent d'eux-mêmes proposer de soumettre leurs remèdes à une évaluation scientifique, surtout quand ils s'aperçoivent que l'état de santé des patients ainsi traités reste satisfaisant.

Plusieurs plantes sont utilisées en Afrique pour le traitement du SIDA et certaines d'entre elles figurent dans la composition de la plupart des infusions ou potions administrées. Quelques-unes ont des propriétés biologiques telles qu'il serait intéressant d'étudier davantage leur activité anti-VIH. On peut citer à titre d'exemple Diospyros usambarensis (Ebenaceae) qui possède des propriétés fongicides et cytotoxiques.

Il a été signalé que des patients atteints de SIDA sont traités en Tanzanie selon la médecine traditionnelle chinoise, avec la collaboration de chercheurs chinois et tanzaniens. Le protocole de recherche stipule que chaque année, pendant trois ans, 200 malades du SIDA aux différents stades de la maladie seront traités et un nombre égal de patients constitués en groupe témoin. Après diagnostic, les patients bénéficient d'un suivi clinique et plusieurs paramètres immunologiques et sérologiques sont surveillés. Le traitement, d'une durée de trois mois, est modulé suivant la différenciation et la typologie du syndrome dans la médecine traditionnelle chinoise, qui classe les sidéens en quatre groupes. Une formule de base est utilisée pour chaque groupe. La formule de la préparation thérapeutique de base peut être modifiée en cours d'essai selon les manifestations cliniques par l'adjonction d'une ou plusieurs des substances suivantes : Polyporus umbellatus, Cordyceps sinensis et Paeonia obovata. Un service spécial de consultations externes a été mis sur pied pour suivre les patients sortis de l'hôpital. Des paramètres immunologiques permettant de déterminer les sous-populations lymphocytaires T ont maintenant été définis et sont surveillés. Jusqu'ici, 17 patients ont été traités et on observerait une amélioration des symptômes.

Le nombre d'études expérimentales en cours dont le but est de découvrir des agents anti-VIH dans des plantes médicinales ou d'autres produits naturels est très réduit. Le principal programme de ce type est celui de l'Institut national du Cancer des États-Unis qui prévoit d'analyser chaque année pendant cinq ans près de 4 500 échantillons de plantes à la recherche d'une éventuelle activité anti-VIH in vitro. Les végétaux sont sélectionnés de manière aléatoire, ce programme ne faisant pas appel aux connaissances de la médecine traditionnelle.

Il a été signalé récemment que, sur 27 plantes médicinales utilisées dans les préparations anti-infectieuses de la médecine chinoise traditionnelle, 11 possèdent in vitro une action inhibitrice contre le VIH : Arctium lappa, Epimedium grandiflorum, Lonicera japonica, Woodwardia unigemmata, Viola yedoensis, Senecio scandens, Andrographis paniculata, Coptis chinensis, Prunella vulgaris, Lithospermum erythrorhizon et Alternanthera philoxeroides. Les principes actifs de Viola yedoensis et de Prunella vulgaris semblent être des polyosides sulfonnés (1, 2).

D'autres études ont apporté des informations complémentaires sur des produits naturels possédant une activité expérimentale anti-VIH, notamment sur la glycyrrhizine (tirée de Glycyrrhiza uralensis) (3). Cette substance a été étudiée au Japon pour son action sur le SIDA. Administrée par voie orale à des porteurs asymptomatiques du VIH, elle aurait pour effet de retarder la progression des symptômes liés à l'infection. A doses assez fortes, elle entraînerait chez les patients atteints de SIDA une disparition de l'antigénémie pour le VIH et une amélioration de plusieurs paramètres hématologiques et immunologiques. Il est également prétendu que l'administration de glycyrrhizine en association réduirait les effets indésirables de la zidovudine.

On a montré qu'un extrait aqueux de l'algue rouge marine Schizomenia pacifica inhibe la transcriptase inverse; cette activité a été attribuée à un polyoside sulfaté. Apparemment, de nombreux polyosides sulfatés (héparine, sulfate de dextran) inhibent l'activité du VIH, contrairement aux polyosides non sulfatés (par exemple, chondroïtine, acide alginique, kératine et acide hyaluronique) (4).

La castanospermine, indolizidine extraite des graines de Castanospermum australe, bloque le métabolisme des glycoprotéines en inhibant la glucosidase I du réticulum endoplasmique. Cet alcaloïde aurait in vitro une activité anti-VIH et il s'est montré actif in vivo par voie orale chez la souris (5).

Au cours des débats qui ont suivi les exposés, il a été admis que la recherche de composés anti-VIH dans les plantes et d'autres produits naturels pourrait être fructueuse si les nouvelles initiatives s'appuyaient sur l'utilisation qui en est faite en médecine traditionnelle. Il a été reconnu en outre qu'il était nécessaire de rassembler les observations ethnomédicales et expérimentales, et de les analyser, notamment sur la base des titrages biologiques in vitro et in vivo et des compositions chimiques.

L'approche ethnomédicale a un inconvénient : le manque d'informations précises sur les plantes susceptibles d'avoir des propriétés anti-VIH. Plusieurs symptômes pourraient être discutés avec les guérisseurs pour recueillir des informations fiables sur leurs méthodes de traitement : lésions cutanées (sarcome de Kaposi), fièvres chroniques, diarrhées, toux, hémoptysie et ulcérations génitales.

3. Sélection des plantes en vue de la recherche d'activités antivirales

Le choix de la méthode à utiliser pour la sélection des plantes à évaluer dépend d'un certain nombre de facteurs : simplicité, rapidité, coût, reproductibilité, absence d'interférence avec des substances végétales ubiquitaires et possibilité de se procurer facilement le matériel végétal (il faut prévoir des quantités suffisantes de plantes actives en vue de l'isolement des substances).

En général, la plupart des tests in vitro n'exigent au départ qu'une petite quantité de matériel végétal : 100 à 200 g (parfois moins) en poids sec des parties utiles de la plante. Une documentation complète, comprenant des spécimens témoins, sera établie pour tous les échantillons qui seront sélectionnés par un botaniste qualifié. Ces échantillons doivent être convenablement séchés. On veillera à ne pas recueillir des espèces menacées

ou en voie de disparition. En règle générale, on préparera deux types d'extraits pour chaque échantillon : un extrait dans un solvant apolaire (ou moyennement polaire) et un extrait dans un solvant polaire; on pourra par exemple prendre respectivement l'acétate d'éthyl ou le chloroforme et le méthanol ou l'éthanol.

Un programme de criblage destiné à déterminer le niveau d'activités anti-VIH pourra utiliser quatre méthodes principales pour sélectionner les plantes : a) l'investigation des données ethnomédicales, b) la collecte aléatoire des végétaux puis leur biotitrage; c) la sélection de plantes déjà connues dans la littérature pour leurs propriétés évoquant une action inhibitrice anti-VIH; d) les approches chimiotaxinomiques. Tout bien considéré, les méthodes a) et c) sembleraient les plus économiques. On trouvera dans le tableau 1 une comparaison des avantages et des inconvénients des diverses méthodes appliquées à la sélection des plantes pour la recherche d'activités anti-cancéreuses. Les mêmes avantages et inconvénients caractériseraient l'utilisation de ces méthodes pour la recherche d'une activité anti-VIH dans les plantes.

L'application d'un programme de criblage de ce type peut se heurter à plusieurs problèmes : i) des difficultés d'ordre géopolitique; ii) la sélection d'une ou plusieurs méthodes de biotitrage appropriées réagissant spécifiquement à l'activité anti-VIH plutôt que de manière non spécifique à des constituants végétaux ubiquitaires; iii) nécessité de préparer plus d'un extrait de chaque échantillon végétal, les coûts augmentant à chaque type d'extrait testé; iv) compatibilité indispensable du solvant utilisé pour la préparation des extraits avec le système de biotitrage utilisé.

3.1 Sélection basée sur les utilisations ethnomédicales

L'utilisation des plantes par les populations indigènes relève de plusieurs disciplines, soit l'ethnobotanique, l'ethnomédecine, la culture populaire et la médecine traditionnelle.

Les informations les plus convaincantes sont celles rapportées par des observateurs compétents qui, étant sur le terrain, sont effectivement témoins de l'utilisation de la plante. Certains se contentent de questionner le tradipraticien et de noter les propriétés prêtées aux diverses plantes. La plupart des observateurs ne semblent pas avoir reçu de formation en pharmacologie ou en médecine, ce qui soulève quelques interrogations quant à la validité de nombreuses informations ethnomédicales de la littérature. Par exemple, une plante qui aurait des propriétés "contraceptives" pourrait être une plante utilisée pour "empêcher la conception" (on précise rarement si elle est utilisée par l'homme ou par la femme) ou "pour empêcher la naissance" (comme abortif). L'élaboration d'un test biologique destiné à mettre en évidence l'inhibition de la conception est une chose, mais élaborer un test biologique pour mettre en évidence des propriétés abortives en est une autre. L'information transmise par un observateur qui voit effectivement comment la plante est utilisée pour traiter une maladie donnée a évidemment plus de valeur qu'une information rapportant simplement des propriétés non vérifiées. De même, l'information tirée d'une médecine reconnue comme la médecine chinoise traditionnelle, qui s'appuie sur des textes vieux de 3000 ans, une doctrine et un système de formation, a probablement plus de valeur qu'une information tirée d'un recueil d'anecdotes composé par un auteur sans formation pharmacologique ou médicale.

Malgré ces difficultés évidentes et l'absence d'uniformité des observations disponibles sur l'utilisation ethnomédicale des plantes, une analyse bien menée de ces observations doit permettre de repérer les plantes qui ont le plus de chance de donner une réponse positive dans un système spécifique de titrage biologique conçu pour mettre en évidence un effet cliniquement utilisable. Sur les 121 produits actuellement utilisés dans le monde et obtenus à partir de plantes supérieures, 74 % ont été découverts au cours d'investigations scientifiques entreprises en raison de propriétés décrites dans la littérature ethnomédicale (6).

La consultation a examiné les problèmes qui peuvent se poser lorsqu'il s'agit d'enquêter auprès des guérisseurs traditionnels en vue de repérer des directions de recherche prometteuse. Il sera nécessaire, dans ces enquêtes, de se référer aux signes et symptômes cliniques causés par des agents pathogènes viraux autres que le VIH. L'une des possibilités envisagée concerne le virus de l'hépatite B, au sujet duquel il a été montré récemment qu'il contient de la transcriptase inverse. De plus, le virus de l'hépatite B manifeste sa présence par un signe clinique aisément identifiable, l'ictère. Par contre, d'autres maladies virales se traduisent par divers syndromes cliniques relativement peu spécifiques, de sorte qu'il sera éventuellement très difficile d'obtenir des informations auprès des guérisseurs traditionnels sur l'utilisation d'agents spécifiques pour le traitement des maladies virales.

En résumé, lorsqu'on recherchera des informations sur d'éventuelles actions antivirales auprès de populations indigènes, c'est-à-dire auprès de guérisseurs traditionnels, il faudra tenir compte non seulement du fait que l'infection à VIH est apparue assez récemment, mais également de l'extrême variété des signes et symptômes cliniques observés chez les patients atteints du SIDA. L'efficacité de cette méthode pourra s'en trouver limitée et les corrélations entre ces divers éléments devront être mieux étudiées et définies.

Il semblerait logique de rechercher l'information nécessaire auprès des praticiens indigènes en s'appuyant sur le réseau de centres collaborateurs de l'OMS pour la médecine traditionnelle. S'agissant d'identifier les plantes utiles comme agents antiviraux, il se peut que les données ethnomédicales relatives aux maladies virales n'apparaissent pas étroitement corrélées aux résultats des essais *in vitro*. Toutefois, certaines de ces données existantes peuvent se révéler précieuses si on les utilise conjointement avec d'autres données expérimentales pour confirmer une inclination à recueillir et tester une espèce donnée.

3.2 Collecte aléatoire et criblage massif

L'idée de base de cette méthode est que l'on finira par trouver des composés actifs contre une maladie donnée si l'on sélectionne et teste au hasard un nombre suffisant d'échantillons. L'Institut national du Cancer des Etats-Unis a utilisé cette méthode de 1956 à 1981, période pendant laquelle 32 000 espèces de plantes à fleurs ont été recueillies dans différentes régions du monde. Les extraits bruts préparés à partir de ces plantes ont été évalués selon au moins un système *in vitro* pour la mise en évidence de la cytotoxicité et un ou plusieurs systèmes *in vivo* pour la détection des propriétés antitumorales. De 2 à 8 % des espèces expérimentées ont manifesté une activité antitumorale reproductible. Les plantes étaient recueillies sous la direction de botanistes du département de l'agriculture des Etats-Unis et dans le cadre de contrats établis par l'Institut national du Cancer. Le budget de ces opérations s'élevait à 450 000 dollars par an environ pour les opérations de cueillette. Des groupes de chercheurs expérimentés des Etats-Unis furent ensuite engagés pour approfondir l'étude des indices d'activité intéressants, isoler les principes actifs et établir leurs structures. Tous les tests *in vivo* et la plupart des tests *in vitro* ont été exécutés par des laboratoires indépendants travaillant sous contrat. Les agents qui manifestaient une activité satisfaisante étaient retenus pour des épreuves approfondies *in vivo*, des études toxicologiques précliniques et, enfin, une évaluation clinique.

Au cours des 25 années d'existence de ce programme, on a découvert dans des plantes des centaines d'agents présentant une activité cytotoxique et/ou une activité antitumorale *in vivo*. Douze ont atteint la phase I des essais cliniques, mais aucun des composés dérivés de végétaux ne s'est révélé généralement utile.

Les agents antitumoraux cliniquement utiles dérivés de végétaux, la vinblastine et la vincristine, ont été découverts de manière indépendante par une société pharmaceutique grâce à un vaste programme de criblage d'extrait végétaux. Les composés végétaux semi-synthétiques dérivés de la podophyllotoxine, l'étoposide et le téniposide, ont été mis au point par une société pharmaceutique européenne sur la base des informations réunies par l'Institut national du Cancer sur les propriétés antitumorales de la podophyllotoxine et de ses analogues, dérivés d'une plante, Podophyllum peltatum, dont on prétendait qu'elle avait été utilisée par les Amérindiens pour soigner les cancers cutanés.

Le programme de contrats de l'Institut national du Cancer a été arrêté en 1981 et est resté inactif pendant plusieurs années. En 1987, cependant, il a été réactivé après que de nouvelles procédures d'essai eurent été élaborées (cytotoxicité sélective in vitro sur une vaste sélection de souches de cellules tumorales humaines, au lieu d'essai in vivo). Des contrats ont été accordés dans le cadre de ce nouveau programme pour l'achat annuel pendant cinq ans de 1500 échantillons de plantes dans l'Asie du Sud-Est, 1500 en Amérique du Sud et 1500 en Afrique du Sud. Les instructions aux botanistes chargés de la cueillette des plantes précisent que les utilisations ethnomédicales relatives au cancer doivent être considérées comme une indication de cueillette prioritaire, après laquelle vient la cueillette aléatoire de plantes appartenant à des taxons peu fréquents ou rares.

L'Institut central de recherche pharmaceutique de Lucknow, Inde, applique également un programme visant à sélectionner les plantes indiennes pour une large gamme d'activités biologiques, y compris les effets antitumoraux et antiviraux. Quelques plantes actives ont été découvertes dans le cadre de ce programme, mais les agents utiles n'ont pas été identifiés. La cueillette s'effectue principalement de manière aléatoire.

Un groupe de l'Université d'Illinois, Etats-Unis, est l'auteur de publications sur le criblage de végétaux cueillis de manière aléatoire dans l'Est des Etats-Unis pour une large gamme d'activités biologiques, et notamment les effets antiviraux. Très peu d'indices d'activité découverts semblent suffisamment intéressants pour justifier la poursuite d'une étude chimique.

Un autre groupe a testé un grand nombre de végétaux sélectionnés de manière aléatoire pour toute une série d'effets antiviraux. Pour certains, les études ont été menées jusqu'au niveau de la chimie et, pour un petit nombre d'indices découverts, il a été établi que certains agents connus présentaient une activité antivirale (7).

La collecte au hasard suivie du criblage biologique a l'avantage de coûter moins cher par échantillon que la localisation puis la collecte d'une plante déterminée aux propriétés apparemment intéressantes. Pour que le caractère aléatoire de la cueillette soit préservé dans la nature, il faut toutefois déterminer au préalable le nombre total d'espèces à recueillir et veiller à ce que tous les taxons soient proportionnellement représentés dans l'ensemble de la collecte. On peut raisonnablement compter que si l'on étudie un nombre suffisant d'échantillons, on finira par découvrir des composés actifs.

3.3 Approfondissement de directions de recherche suggérées par la littérature

La littérature scientifique abonde en publications rapportant l'essai, généralement in vitro, d'extraits de plantes contre un ou plusieurs virus. Parmi les composés actifs signalés, bien peu ont été étudiés jusqu'au bout, en isolant et en caractérisant leurs principes actifs. Il ne serait pas difficile de faire une recherche systématique dans la littérature pour identifier toutes les publications rapportant des essais d'activité anti-virale d'extraits de plantes et de leurs principes actifs, et d'analyser comme il convient ces observations. A noter qu'il y aura peut-être lieu de tenir compte de

certaines paramètres biologiques autres que les effets cytopathogènes directs du VIH qui pourraient servir de prédicteur d'une activité anti-SIDA, par exemple l'inhibition de la synthèse de l'ARN, l'inhibition de la synthèse protéique, l'inhibition de la transcriptase verte, l'inhibition de la traduction du génome viral, etc.

3.4 Approche chimiotaxinomique

Les plantes phylogéniquement apparentées tendent à avoir des métabolites secondaires semblables ou identiques. Partant, si l'on sait qu'une espèce possède une activité anti-VIH ou contient des métabolites secondaires ayant une activité anti-VIH, on peut identifier des espèces apparentées qui auront les mêmes principes actifs ou des principes actifs phylogéniquement apparentés. Par exemple, si on trouve dans une espèce un métabolite secondaire intéressant qui a des propriétés anti-VIH mais qui n'est présent dans cette plante qu'à faible concentration, on pourra grâce à cette approche identifier des espèces apparentées susceptibles de contenir le composé actif à plus forte concentration.

4. Méthodes in vitro de criblage de remèdes traditionnels, plantes médicinales et autres produits naturels

L'évaluation des remèdes traditionnels en vue de leur utilisation éventuelle pour le traitement des personnes infectées par le VIH est une tâche nouvelle qui nécessite la mise au point de nouveaux protocoles de recherche scientifique.

L'identification du VIH comme agent étiologique du SIDA a permis aux chercheurs d'étudier les moyens de traiter et prévenir la maladie. Les premiers résultats obtenus ont conduit à identifier des thérapies possibles qui ont été administrées avec certains succès à des séropositifs. L'utilité de ces médicaments pour toutes les personnes infectées par le VIH où que ce soit dans le monde reste controversée. Leur toxicité, leur coût et l'environnement technologique nécessaires à leur administration font qu'il est peu vraisemblable qu'ils puissent être largement utilisés dans les pays en développement.

Vu le temps qui exige la mise au point d'un vaccin sûr et efficace, et la nécessité de disposer de thérapies peu coûteuses et plus efficaces, il est cependant indispensable de mettre au point un programme solide et complet d'identification et de développement de médicaments propres à traiter les personnes infectées par le VIH et souffrant d'infections opportunistes.

La recherche de médicaments antiviraux pour le traitement du VIH a pris une ampleur sans précédent, que ce soit dans les universités, dans les établissements publics et dans le secteur privé. Le Conseil de la recherche médicale au Royaume-Uni, l'Institut Pasteur en France, et les Instituts nationaux de la Santé aux États-Unis, ne sont que des exemples d'institutions importantes qui ont relevé ce défi.

Deux méthodes fondamentales permettent d'identifier de nouveaux médicaments potentiels : le criblage aléatoire et la mise au point ciblée. On utilise à cet effet une méthode de titrage qui permet d'évaluer l'effet particulier du médicament ou de l'extrait sur le virus. Avec une méthode bien codifiée, il est classique de tester diverses entités structurales pour déterminer leur capacité à inhiber *in vitro* la répllication du VIH. Différentes méthodes sont employées pour titrer l'activité anti-VIH potentielle (Tableau 2). Des composés de sources très diverses sont examinés, de préférence lorsqu'ils présentent des caractéristiques structurales originales ou manifestent une activité biologique. L'intérêt de ces systèmes appliqué à l'identification de médicaments pour le traitement des infections à VIH peut se mesurer au nombre de médicaments découverts. Reste à savoir comment utiliser cette base d'informations pour recommander l'évaluation de thérapies traditionnelles. Ces tests peuvent servir à justifier scientifiquement l'emploi d'une thérapie et à déterminer la priorité d'étude d'un médicament.

Le protocole proposé (Tableau 3) tient compte de la différence entre les pratiques occidentales et traditionnelles et fournit un cadre pour l'évaluation scientifique d'un agent thérapeutique susceptible d'être utilisé pour le traitement de l'infection à VIH. Le protocole indiqué n'est pas spécifique, c'est pourquoi certains de ces aspects sont examinés de plus près ci-dessous.

4.1 Authentification des extraits soumis à l'analyse

La communication doit être aussi parfaite que possible entre le botaniste, le chimiste, le biologiste, le pharmacologiste, l'ethnobotaniste et le guérisseur pour que les remèdes sélectionnés pour analyse soient authentifiés. Les informations minimales suivantes sont nécessaires :

- identification taxonomique des espèces contenues dans l'extrait;
- documentation photographique sur ces espèces végétales;
- description détaillée des organes de la plante à utiliser;
- description détaillée de la méthode de collecte; moment de la collecte;
- description des conditions de préparation de l'extrait en médecine traditionnelle.

L'extrait doit être préparé conformément aux indications fournies par le tradipraticien et évalué directement. La façon dont il est traditionnellement employé doit être prise en considération lors du choix des solvants utilisés pour extraire un médicament traditionnel, en raison de leur plus ou moins grande polarité. On envisagera le cas échéant des méthodes d'extraction ou de fractionnement plus élaborées.

4.2 Titrage in vitro de l'activité antivirale

Les méthodes actuelles, biochimiques ou en culture cellulaire, sont très diverses. On admet qu'aucune de ces méthodes, employée seule, n'est parfaite et que pour examiner complètement les possibilités d'utilisation d'un composé quel qu'il soit il faut recourir à des méthodes de confirmation dans des systèmes multiples. Le protocole proposé (Tableau 3) vise à assurer le bénéfice du faible coût et des avantages d'un seul type d'essai sur culture cellulaire, suivi d'autres méthodes de confirmation plus précises si un composé actif est identifié.

Aucun système d'essai n'est en soi le meilleur. Le choix d'un système est déterminé par plusieurs facteurs dont les principaux sont le coût, la simplicité et la reproductibilité. Cependant, on utilisera, pour une première sélection des préparations traditionnelles, au moins un système de titrage sur culture de lymphocytes T (H9, ATH8, MI-2).

Les isollements de VIH obtenus chez les patients n'ont pas la même activité que les souches adoptées en laboratoire. Quoi qu'il en soit, la maniabilité, le coût et la reproductibilité seront les considérations qui, à ce stade, commandent le choix de l'isolement viral à utiliser. Il est recommandé d'employer un petit inoculum viral pour qu'en sept jours au moins on puisse observer plusieurs cycles de multiplications virales.

Certaines préparations médicinales traditionnelles doivent être métabolisées par la cellule hôte. Le produit sera donc introduit dans la culture cellulaire deux heures au moins avant l'inoculation du VIH. Un délai plus long ou un prétraitement (24 heures) pourrait donner des informations particulièrement utiles et permettrait de repérer les agents extrêmement cytotoxiques avant l'infection par le VIH. Le rapport entre deux dilutions successives du médicament potentiel doit être inférieur à 1/10. Il est recommandé d'employer des dilutions en série au tiers, la concentration intermédiaire correspondant à celle de la préparation traditionnellement administrée. Le nombre de

dilutions sera d'abord fixé empiriquement. On peut cependant au début prévoir au moins 12 solutions par extrait. Le seuil définissant l'activité anti-virale peut être le nombre de cellules survivantes, la formation du syncytium, l'expression de p24, le titre de transcriptase inverse dans le surnageant ou l'immunofluorescence des antigènes viraux.

Ce qui fait le succès d'un agent thérapeutique, c'est son absence de cytotoxicité. Celle-ci sera donc soigneusement analysée. Les tests devront mettre en évidence la durée de survie des cellules et l'intensité de leur répllication en présence du médicament.

Il est admis que les propriétés antivirales doivent compenser la toxicité potentielle. Mais les extraits expérimentés sont bruts et ne pourront vraisemblablement pas être fractionnés. De toute évidence, certains extraits contiendront des constituants toxiques à concentration plus élevée qu'une fraction thérapeutiquement agissante du mélange; à ce stade de l'évaluation, ces extraits ne doivent pas être écartés, mais seulement recevoir un rang de priorité inférieur dans la suite de l'évaluation.

4.3 Recherche d'une activité "immunostimulante"

De nombreux extraits utilisés en médecine traditionnelle sont censés avoir une activité stimulante. Cette stimulation peut être le résultat d'un effet anti-infectieux de l'extrait, d'une action immunostimulante ou encore d'un effet indéterminé sur l'organisme au niveau physiologique ou psychologique. Etant donné que les toniques traditionnels sont nombreux et que nos connaissances actuelles sur les interrelations entre le VIH et la réponse immunitaire humaine sont lacunaires, la consultation n'a formulé aucune recommandation définitive concernant l'examen des composés doués d'un tel effet. D'ailleurs, la réponse immunitaire peut stimuler l'expression de gènes codés par le VIH et aboutir à la production de nouvelles particules virales.

On sait que de nombreuses plantes supérieures contiennent des composés à large spectre antiviral. On pense que certains de ces composés sont des inducteurs d'interférons qui inactivent intracellulairement divers virus. Etant donné que l'interféron fait l'objet d'évaluations distinctes pour le traitement des viroses humaines, SIDA compris, il est recommandé de ne pas donner un rang de priorité élevé aux extraits qui inhibent le développement du VIH par l'intermédiaire d'un interféron.

On poursuivra l'évaluation de l'activité anti-VIH des extraits qui n'induisent pas la production d'interférons. Il existe d'autres épreuves immunologiques, mais considérées comme peu maniables en routine pour l'examen des extraits potentiellement utilisables dans le traitement des infections à VIH.

4.4 Evaluation approfondie des agents prometteurs

La confirmation de l'activité thérapeutique d'un produit donné doit se faire dans plusieurs systèmes cellulaires de titrage, avec le VIH et avec d'autres rétrovirus. Le choix des tests de confirmation est laissé à l'investigateur. Plusieurs raisons justifient l'utilisation d'autres rétrovirus : elle permettra de vérifier la spécificité antirétrovirale, de définir les composés à étudier en priorité sur les modèles animaux, de diminuer le risque d'exposition au VIH et d'abaisser le coût de l'évaluation de l'extrait pendant sa séparation.

L'objectif doit être de séparer et de purifier le produit pour pouvoir l'identifier chimiquement. Il est toutefois recommandé de procéder à une purification au moins partielle avant la suite de l'évaluation. Il faut en effet tester l'activité antivirale des fractions pour identifier de manière systématique une entité thérapeutique.

Ces trois volets de l'évaluation, l'identification chimique, les études d'efficacité et de toxicité sur des modèles animaux appropriés et les études basées sur le mécanisme d'action, doivent être menés en parallèle afin que l'on puisse disposer des informations nécessaires pour la suite de l'évaluation clinique, la modification de la molécule par synthèse ou l'utilisation directe des composants identifiés.

5. Considérations d'ordre légal et éthique

Les composés issus de plantes ou leurs dérivés sont à la base d'un grand nombre de médicaments reconnus et il a été calculé que le constituant actif de 25 % environ des médicaments approuvés qui sont prescrits aux Etats-Unis d'Amérique avaient été mis au point à partir de tels composés (8). A l'origine de la découverte de nombreuses drogues actives se trouve souvent l'immense héritage constitué par l'utilisation populaire de préparations à base de plantes dans de nombreux pays (6). Dans bien des cas, c'est à partir d'un seul produit d'origine végétale que des classes très étendues de composés ont été développées.

Il est regrettable que les thérapeutes traditionnels et les communautés qui ont fourni l'information essentielle aient été oubliés par les milieux de la recherche et n'aient eu droit à aucune récompense lorsque des composés utiles ont été découverts. Il y aurait lieu de veiller, lorsque des drogues traditionnelles sont étudiées scientifiquement, à ce que les personnes et les communautés qui ont participé à la découverte de médicaments anti-VIH (y compris les tradipraticiens dont les informations peuvent être génératrices de nouvelles découvertes) soient récompensées comme il se doit.

Les organismes susceptibles de travailler dans le cadre d'un programme financé par l'OMS devraient définir une politique de redistribution des revenus potentiels provenant des découvertes.

6. Conclusions générales et recommandations

Il est reconnu que les plantes médicinales sont à l'origine de nombreux médicaments employés pour soulager les maladies humaines et que 75 % environ de ces médicaments ont été découverts parce que ces plantes étaient utilisées en médecine traditionnelle (6). Etant donné le petit nombre d'études systématiques conduites pour découvrir des drogues anti-VIH dans les végétaux ou dans d'autres produits naturels, et le besoin de disposer d'urgence d'une grande variété de médicaments anti-VIH efficaces, les participants à la consultation estiment qu'à condition de les sélectionner et de les évaluer convenablement, les plantes utilisées en médecine traditionnelle fourniront des médicaments anti-VIH actifs; ils formulent donc les recommandations suivantes :

- a) L'OMS devrait désigner les organismes où pourra être réalisée l'évaluation scientifique des préparations médicinales traditionnelles destinées au traitement du SIDA, depuis la collecte des plantes jusqu'à la détermination de la structure chimique, en passant par l'extraction et le criblage in vitro et in vivo.
- b) Il faudrait s'efforcer de tirer tout le parti possible du réseau existant de Centres collaborateurs OMS pour le SIDA et pour la médecine traditionnelle.
- c) Il y aurait lieu de faire place à une recherche en médecine traditionnelle dans les programmes nationaux de lutte contre le SIDA, ce qui devrait contribuer au renforcement des activités et des organismes existants.
- d) L'Unité de la recherche biomédicale du Programme mondial de Lutte contre le SIDA (GPA) de l'OMS devrait fixer, en collaboration avec le Programme concernant la

médecine traditionnelle de l'OMS (TRM) un mécanisme pour la détermination des priorités, l'établissement de protocoles, la promotion et le soutien des recherches appropriées, conformément aux stratégies approuvées du programme.

- e) Les Programmes nationaux de lutte contre le SIDA devraient collaborer avec GPA et TRM pour identifier les préparations médicinales traditionnelles qui méritent une évaluation scientifique plus poussée.
- f) La recherche actuelle d'un remède contre le SIDA est marquée par une urgence évidente partout où la maladie se manifeste. Dans les pays industrialisés, cette activité est généralement du ressort de l'industrie pharmaceutique ou est assumée par les pouvoirs publics. Dans les pays en développement, l'exploration des ressources de la médecine traditionnelle relève des sciences humaines et les études font rarement partie d'un plan organisé. La consultation reconnaît que, dans les pays où les tradipraticiens utilisent des médicaments contre le SIDA, il est souhaitable d'étudier soigneusement l'impact de ces interventions, aussi bien pour déceler d'éventuels effets secondaires graves associés au traitement que pour faire en sorte que les thérapeutiques prometteuses soient indentifiées, étudiées en profondeur et développées.

Références

1. Chang, R.S. and Yeung, H.W. Inhibition of growth of human immunodeficiency virus in vitro by crude extracts of Chinese medicinal herbs. Antiviral research, 9, 163-176 (1988)
2. Ngan, R.S. et al. Isolation, purification and partial characterisation of an active anti-HIV compound from Chinese medicinal herb Viola Yedoensis. Antiviral research, 10, 107-116 (1989)
3. Ito, M. et al. Inhibitory effect of glycyrrhizin on the in vitro infectivity and cytopathic activity of the human immunodeficiency virus [HIV (HTLV-III/LAV)]. Antiviral research, 7, 127-137 (1987).
4. Nakashima, H. et al. Sulfaction of polysaccharides generates potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus infection and replication in vitro. Japanese journal of cancer research, 78, 1164-1168 (1987).
5. Ruprecht, R.M. et al. In vitro analysis of castanospermine: A candidate antiretroviral agent. Journal of acquired immune deficiency syndromes, 2, 149-157 (1989).
6. Farnsworth, N.R. et al. Medicinal plants in therapy. Bulletin of the World Health Organization, 63, 965-981 (1985).
7. Leven, M. et al. Antiviral activity of some Amaryllidaceae alkaloids. Planta medica, 33, 284-300 (1978).
8. Farnsworth, N.R. and Morris, R.W. Higher plants - the sleeping giant of drug development. American journal of pharmacy, 147, 46-52 (1976).
9. Suffness, M. and Douros, J. Drugs of plant origin. Methods in Cancer Research, 16, 73-126 (1979).

ANNEXE

Liste des participants

W.W. Anokbonggo, Department of Pharmacology and Therapeutics, Makerere Medical School, Kampala, Ouganda

R.S. Chang, Department of Medical Microbiology, University of California, Davis, CA 95616, Etats-Unis d'Amérique

N.R. Farnsworth, Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy (mc 877), University of Illinois at Chicago, Chicago, IL 60612, Etats-Unis d'Amérique (Président)

J.J. McGowan, Chief, Developmental Therapeutics Branch, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, Etats-Unis d'Amérique

J.D. Msonthi, Department of Chemistry, Chancellor College, University of Malawi, Zomba, Malawi (Co-Rapporteur)

L. Weibo, Muhimbili Medical Center, Traditional Medicine Research Unit, Oyster Bay, Dar-es-Salaam, République-Unie de Tanzanie (Co-Rapporteur)

R. Ruprecht, Harvard Medical School, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA 02115, Etats-Unis d'Amérique

N. Yamamoto, Département de Virologie et de Parasitologie, Université de Yamaguchi, Ecole de Médecine, Ube City, Yamaguchi 755, Japon

Secrétariat

J. Mann, Directeur, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

C.O. Akerele, Directeur, Programme pour la Médecine traditionnelle, OMS, Genève, Suisse

J.F. Dunne, Chef, Préparations pharmaceutiques, OMS, Genève, Suisse

J. Esparza, Chef a.i., Recherche biomédicale, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

P.D. Griffin, Programme spécial de Recherche, de Développement et de Formation à la Recherche en Reproduction humaine, OMS, Genève, Suisse

A. Jurado, Consultant, Recherche biomédicale, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

Y. Maruyama, Administrateur associé, Médecine traditionnelle, OMS, Genève, Suisse

S. Osmanov, Administrateur scientifique, Recherche biomédicale, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

H. Osore, Consultant, Recherche biomédicale, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

H. Tamashiro, Administrateur scientifique, Recherche biomédicale, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, OMS, Genève, Suisse

Tableau 1. Comparaison des méthodes de sélection des plantes pour l'étude de leur activité biologique¹

Méthode de sélection	Avantages	Inconvénients
Utilisation ethno-médicale	Taux d'activité élevé	Rôle de la psychologie dans la médecine populaire
	Moindre coût du criblage	Secret des cultures primitives
		Difficulté de l'identification botanique
		Utilisation de mélanges complexes
		Utilisation de plantes rares
		Coût élevé de l'approvisionnement
		Directions de recherche passant inaperçues
Limitation en quantités des criblages possibles		
Collecte aléatoire	Meilleure chance de découvrir des structures nouvelles	Faible pourcentage d'indices d'activité
	Végétaux facilement disponibles	Nécessité d'une importante capacité de criblage
	Moindre coût de collecte	Coût élevé par direction de recherche
Littérature existante	Taux d'activité élevé	Coûts de collecte élevés
Chimiotaxinomie	Taux d'activité élevé	Composés connus à isoler de nouveau
	Découverte d'analogues utiles	

¹ D'après Suffness et Douros, 1979 (9).

Tableau 2 : Méthodes biochimiques et méthodes en culture cellulaire pour le titrage de l'activité anti-VIH

Biochimie ou culture cellulaire	Paramètre viral mesuré
Polymérisation/réplication virale	Transcriptase inverse
Ribonucléase/réplication virale	Ribonucléase H
Protéolyse/réplication virale	Protéase
Liaison à la molécule CD4/fusion cellulaire	GP 120, fusion médiée par l'enveloppe virale
Agrégation des protéines/réplication virale ou assemblage du virion	Interactions de la p24
GTPase/réplication virale	nef
Phosphorylation/réplication virale	nef

Tableau 3 : Protocole d'évaluation des préparations médicinales traditionnelles pour le traitement de l'infection à VIH

1. Fournir un extrait authentifié pour l'analyse
 2. Utiliser un système in vitro unique pour déceler l'activité du produit et déterminer sa toxicité potentielle

Arrêter si la toxicité est supérieure à l'action anti-VIH
 3. Purifier partiellement l'extrait et envisager un réexamen
 4. Exclure les inducteurs d'interféron
 5. Confirmer l'activité antivirale et la toxicité dans divers systèmes cellulaires
 6. Titrer l'activité antivirale et la cytotoxicité des fractions dans un système anti-VIH ou dans un système de cultures de cellules animales appropriées

Arrêter si la toxicité est supérieure à l'activité antivirale
 7. Si des fractions actives sont identifiées :
 - a) commencer l'identification chimique des composés actifs;
 - b) faire des titrages biochimiques de la fraction active;
 - c) réaliser des études d'efficacité et de toxicité in vivo sur un modèle animal approprié
 8. Suivant les résultats obtenus au point 7, définir l'ordre des priorités des composés qui seront soumis à l'évaluation clinique
-