

## Memoranda/Mémoires

### Recherche *in vitro* d'une activité anti-VIH dans les préparations médicinales traditionnelles: Mémoire d'une réunion de l'OMS\*

Beaucoup de préparations à base de plantes sont employées dans certains pays par les malades du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) sans aucune preuve scientifique de l'activité anti-VIH (virus de l'immunodéficience humaine). Les guérisseurs proposent maintenant de soumettre leurs remèdes à une évaluation scientifique et quelques études font état de l'activité inhibitrice sur le VIH de plantes comme *Viola yedoensis*, *Arctium lappa*, *Epimedium grandiflorum*, *Glycyrrhiza uralensis* et *Castanospermum australe*.

La sélection des produits naturels en vue du criblage biologique peut s'appuyer sur l'ethnomédecine, sur la collecte au hasard ou sur une approche chimiotaxonomique (consistant à rechercher par criblage des composés semblables chez des espèces appartenant à la même famille botanique); la sélection et l'investigation des plantes d'après les données de la littérature semblerait toutefois le moyen le plus rentable d'identifier des plantes douées d'une activité anti-VIH. Aucune méthode *in vitro* de criblage de l'activité anti-VIH employée seule n'est satisfaisante et il faut recourir à des méthodes de confirmation dans des systèmes multiples pour explorer en totalité les possibilités d'utilisation d'un composé.

Pour développer les travaux de recherche sur la médecine traditionnelle et le SIDA, on identifiera les institutions qui permettront de réaliser l'évaluation scientifique des plantes et de leurs extraits en vue du traitement du SIDA.

#### Introduction

Les préparations médicinales traditionnelles sont utilisées empiriquement dans beaucoup de pays pour le traitement du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). L'évaluation de ces traitements chez les sujets contaminés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) s'impose car le nombre de personnes infectées est estimé à 5 à 6 millions et toutes les ressources potentielles doivent être exploitées pour le bien des populations touchées. D'où la nécessité d'évaluer les composantes de la médecine traditionnelle, plantes médicinales et autres produits naturels en particulier, qui pourraient fournir des agents thérapeutiques efficaces à un prix abordable. Une approche systématique est nécessaire.

C'est ainsi que deux programmes de l'OMS, le Programme mondial de lutte contre le SIDA (GPA) et le Programme Médecine traditionnelle (TRM), ont organisé du 6 au 8 février 1989 à Genève une Consultation informelle dont les objectifs étaient les suivants:

— réexaminer la place de la recherche en médecine traditionnelle appliquée à l'infection à VIH et au SIDA;

\*Ce mémoire a pour source le rapport (document WHO/GPA/BMR 89.5) d'une consultation informelle de l'OMS sur les préparations médicinales traditionnelles et le SIDA: Recherche *in vitro* de l'activité anti-VIH, qui s'est tenue à Genève du 6 au 8 février 1989. Participaient à la réunion: 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, Etats-Unis d'Amérique; N. Farnsworth (Président), Program for Collaborative Research in Pharmaceutical Sciences, University of Illinois Medical Center, Chicago, IL, Etats-Unis d'Amérique; J.J. McGowan, Developmental Therapeutics Branch, National Institutes of Health, Bethesda, MD, Etats-Unis d'Amérique; J.D. Msonthi (Co-Rapporteur), Department of Chemistry, University of Malawi, Zomba, Malawi; L. Weibo (Rapporteur), Centre médical Muhimbili, Unité de recherche sur la médecine traditionnelle, Dar es-Salaam, République-Unie de Tanzanie; R. Ruprecht, Harvard Medical School, Dana-Farber Cancer Institut, Boston, MA, Etats-Unis d'Amérique; N. Yamamoto, Département de Virologie et de Parasitologie, Ecole de Médecine Yamaguchi, Yamaguchi, Japon. Secrétariat OMS: C.O. Akerele et Y. Maruyama, Programme Médecine traditionnelle; J.F. Dunne, Préparations pharmaceutiques; D. Griffin, Programme spécial de Recherche, de Développement et de Formation à la Recherche en Reproduction humaine; J. Esparza, A. Jurado, J. Mann, S. Osmanov, H. Osore, H. Tamashiro, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

L'original de cet article est paru en anglais dans le volume 67 (6): 613-618 (1989) du *Bulletin*. Tirés à part: Médecine traditionnelle, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27, Suisse.

## Memoranda/Mémoires

### Recherche *in vitro* d'une activité anti-VIH dans les préparations médicinales traditionnelles: Mémoire d'une réunion de l'OMS\*

Beaucoup de préparations à base de plantes sont employées dans certains pays par les malades du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) sans aucune preuve scientifique de l'activité anti-VIH (virus de l'immunodéficience humaine). Les guérisseurs proposent maintenant de soumettre leurs remèdes à une évaluation scientifique et quelques études font état de l'activité inhibitrice sur le VIH de plantes comme *Viola yedoensis*, *Arctium lappa*, *Epimedium grandiflorum*, *Glycyrrhiza uralensis* et *Castanospermum australe*.

La sélection des produits naturels en vue du criblage biologique peut s'appuyer sur l'ethnomédecine, sur la collecte au hasard ou sur une approche chimiotaxonomique (consistant à rechercher par criblage des composés semblables chez des espèces appartenant à la même famille botanique); la sélection et l'investigation des plantes d'après les données de la littérature semblerait toutefois le moyen le plus rentable d'identifier des plantes douées d'une activité anti-VIH. Aucune méthode *in vitro* de criblage de l'activité anti-VIH employée seule n'est satisfaisante et il faut recourir à des méthodes de confirmation dans des systèmes multiples pour explorer en totalité les possibilités d'utilisation d'un composé.

Pour développer les travaux de recherche sur la médecine traditionnelle et le SIDA, on identifiera les institutions qui permettront de réaliser l'évaluation scientifique des plantes et de leurs extraits en vue du traitement du SIDA.

#### Introduction

Les préparations médicinales traditionnelles sont utilisées empiriquement dans beaucoup de pays pour le traitement du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). L'évaluation de ces traitements chez les sujets contaminés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) s'impose car le nombre de personnes infectées est estimé à 5 à 6 millions et toutes les ressources potentielles doivent être exploitées pour le bien des populations touchées. D'où la nécessité d'évaluer les composantes de la médecine traditionnelle, plantes médicinales et autres produits naturels en particulier, qui pourraient fournir des agents thérapeutiques efficaces à un prix abordable. Une approche systématique est nécessaire.

C'est ainsi que deux programmes de l'OMS, le Programme mondial de lutte contre le SIDA (GPA) et le Programme Médecine traditionnelle (TRM), ont organisé du 6 au 8 février 1989 à Genève une Consultation informelle dont les objectifs étaient les suivants:

— réexaminer la place de la recherche en médecine traditionnelle appliquée à l'infection à VIH et au SIDA;

\*Ce mémoire a pour source le rapport (document WHO/GPA/BMR 89.5) d'une consultation informelle de l'OMS sur les préparations médicinales traditionnelles et le SIDA: Recherche *in vitro* de l'activité anti-VIH, qui s'est tenue à Genève du 6 au 8 février 1989. Participaient à la réunion: 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, Etats-Unis d'Amérique; N. Farnsworth (Président), Program for Collaborative Research in Pharmaceutical Sciences, University of Illinois Medical Center, Chicago, IL, Etats-Unis d'Amérique; J.J. McGowan, Developmental Therapeutics Branch, National Institutes of Health, Bethesda, MD, Etats-Unis d'Amérique; J.D. Msonthi (Co-Rapporteur), Department of Chemistry, University of Malawi, Zomba, Malawi; L. Weibo (Rapporteur), Centre médical Muhimbili, Unité de recherche sur la médecine traditionnelle, Dar es-Salaam, République-Unie de Tanzanie; R. Ruprecht, Harvard Medical School, Dana-Farber Cancer Institut, Boston, MA, Etats-Unis d'Amérique; N. Yamamoto, Département de Virologie et de Parasitologie, Ecole de Médecine Yamaguchi, Yamaguchi, Japon. Secrétariat OMS: C.O. Akerele et Y. Maruyama, Programme Médecine traditionnelle; J.F. Dunne, Préparations pharmaceutiques; D. Griffin, Programme spécial de Recherche, de Développement et de Formation à la Recherche en Reproduction humaine; J. Esparza, A. Jurado, J. Mann, S. Osmanov, H. Osore, H. Tamashiro, Programme mondial de Lutte contre le SIDA, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

L'original de cet article est paru en anglais dans le volume 67 (6): 613-618 (1989) du *Bulletin*. Tirés à part: Médecine traditionnelle, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27, Suisse.

## Mémemorandum

—examiner les activités menées actuellement dans le domaine des plantes médicinales et des substances naturelles en rapport avec l'évaluation préclinique *in vitro* et *in vivo* de l'activité antirétrovirale ou antitranscriptase inverse;

—identifier les possibilités de collaboration et formuler les recommandations appropriées.

### Activités en cours

Divers produits d'origine végétale sont utilisés par les sidatiques sans aucune preuve expérimentale de leur activité anti-VIH. On signale l'ail (*Allium sativum*), des champignons appelés shiitake (*Lentinus edodes*), la papaye (*Carica papaya*), le ginseng (*Panax sp.*), *Aloe vera*, la chélideine (*Chelidonium majus*), la racine d'une plante péruvienne (immunact), les extraits de la pomme de pin japonais, diverses essences florales, le bulbe d'une liliacée, un principe médicamenteux chinois (fu-zheng) et une préparation tibétaine constituée de plusieurs plantes (Padma 28). Un certain nombre d'autres substances, d'origine marine, fongique ou animale sont également utilisées.

Les préparations médicinales traditionnelles sont employées pour traiter le SIDA dans toutes les Régions OMS. Dans les pays d'Afrique, de nombreux malades ayant un diagnostic de SIDA porté à l'hôpital se tournent vers d'autres traitements relevant des pratiques traditionnelles quand leur état ne s'améliore pas. Dans certains cas le suivi est assuré par les médecins des centres anti-SIDA et des centres d'aide psychosociale. En général, le thérapeute traditionnel vient de lui-même proposer d'évaluer scientifiquement ses remèdes, surtout quand l'état de santé des patients ainsi traités reste satisfaisant. Certaines plantes paraissent entrer dans la composition de la plupart des infusions ou des potions administrées. Quelques-unes ont des propriétés biologiques qui incitent à étudier plus avant leur activité anti-VIH. Citons à titre d'exemple *Diospyros usambarensis* (*Ebenaceae*) qui possède des propriétés fongicides et cytotoxiques.

En République-Unie de Tanzanie des chercheurs chinois et tanzaniens utilisent la Médecine chinoise traditionnelle pour traiter des sidatiques. D'après le protocole de recherche 200 malades du SIDA aux différents stades de la maladie seront traités chaque année pendant trois ans, et ces groupes comparés à des groupes témoins constitués par un même nombre de patients. La formule de la préparation thérapeutique de base peut être modifiée au cours de l'essai en fonction des manifestations cliniques. Certaines formules de base comportent *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 para-

mètres immunologiques permettant de déterminer les sous-populations lymphocytaires T ont été définis et sont surveillés. Jusqu'ici 17 séropositifs 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 produits naturels ou des plantes médicinales est très réduit. Le National Cancer Institute des Etats-Unis d'Amérique a entrepris un vaste programme qui prévoit d'examiner chaque année pendant les cinq prochaines années près de 4 500 échantillons de plantes à la recherche d'une activité anti-VIH *in vitro* après sélection des plantes au hasard. Ce programme ne fait pas appel aux connaissances de la médecine traditionnelle.

Des observations récentes mentionnent que sur 27 plantes médicinales utilisées dans les préparations chinoises traditionnelles anti-infectieuses, 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 sulfonés (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 la plante *Glycyrrhiza uralensis*) (3). Cette substance a été étudiée au Japon chez des malades du SIDA: par voie orale chez des porteurs asymptomatiques du VIH, la glycyrrhizine retarderait la progression des symptômes liés à l'infection; à dose assez forte chez les patients atteints de SIDA, elle entraînerait une disparition de l'antigénémie pour le VIH et une amélioration de plusieurs paramètres hématologiques et immunologiques. En outre, l'association de glycyrrhizine réduirait les effets indésirables de la zidovudine.

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

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).

Il semble d'après les informations dont on dispose que la recherche de composés anti-VIH dans les

plantes et dans d'autres produits naturels est fructueuse si les nouvelles méthodes de leur utilisation en médecine traditionnelle sont étudiées. Il est nécessaire de collecter et à l'analyse de ces plantes, des données ethnométriques et expérimentales, des modèles expérimentaux et des données chimiques.

L'approche ethnométrique manque d'informations précieuses. Les tentatives d'avoir des données précises sur les symptômes pourraient être utiles pour recueillir des informations sur les modes de traitement: lésions cutanées, fièvre chronique, diarrhées, infections génitales.

### Méthodologie

#### Sélection des plantes pour la recherche d'une activité anti-VIH

Le choix de la méthode de sélection des plantes et rechercher un certain nombre de plantes actives en vue de leur coût, reproductibilité, et disponibilité des substances végétales utilisées (il faut prévoir des plantes actives en vue de leur coût).

La plupart des tests effectués sur une petite quantité de plantes (moins en poids sec, des échantillons choisis par des méthodes parfaitement identifiées) doivent veiller à ne pas recueillir de données fausses par voie de disparition. Et deux types d'extraits pourraient être extraits dans un solvant approprié (polaire) et un extrait non polaire par exemple par extraction à l'éthyle ou le chloroforme.

Un programme de sélection des plantes au niveau d'activité anti-VIH doit utiliser les méthodes principales pour la sélection de plantes à l'investigation des données au hasard puis à l'investigation de plantes déjà connues pour leurs propriétés évoquant un effet anti-VIH. d) les approches chinoises doivent être considérées, les méthodes de sélection des plantes rentables pour la recherche d'une activité anti-VIH.

Sélection d'après les données ethnométriques. L'utilisation de plantes actives se traduit par plusieurs méthodes.

plantes et dans d'autres produits naturels pourrait être fructueuse si les nouvelles initiatives s'appuyaient sur leur utilisation en médecine traditionnelle. On reconnaît en outre qu'il est nécessaire de procéder à la collecte et à l'analyse des données des observations ethnométricales et expérimentales, renforcées par des modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo* et des données chimiques.

L'approche ethnométricale 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), fièvre chronique, diarrhée, toux, hémoptysie et ulcérations génitales.

### Méthodologie

#### *Sélection des plantes soumises à la recherche d'une activité antivirale*

Le choix de la méthode utilisée pour identifier des plantes et rechercher une activité antivirale repose sur un certain nombre de paramètres: simplicité, rapidité, coût, reproductibilité, absence d'interférence avec des substances végétales ubiquitaires et plante largement disponible (il faut prévoir des quantités suffisantes de plantes actives en vue de l'isolement des substances).

La plupart des tests *in vitro* n'exigent généralement qu'une petite quantité de plantes: 100 à 200 g (parfois moins) en poids sec, des parties utiles de la plante. Les échantillons choisis par un botaniste qualifié seront parfaitement identifiés et 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 chacun des échantillons: 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'éthyle ou le chloroforme et le méthanol ou l'éthanol.

Un programme de criblage destiné à déterminer le niveau d'activité anti-VIH peut utiliser quatre méthodes principales pour sélectionner les plantes: a) l'investigation des données ethnométricales, b) la collecte au hasard puis le biotitrage; c) la sélection de plantes déjà connues dans la littérature pour leurs propriétés évoquant une activité inhibitrice anti-VIH; d) les approches chimio-taxonomiques. Tout bien considéré, les méthodes a) et c) sembleraient être les plus rentables pour identifier des plantes possédant une activité anti-VIH.

*Sélection d'après les données de l'ethnomédecine.* L'utilisation de plantes par les populations indigènes se traduit par plusieurs termes: ethnobotanique,

ethnomédecine, science populaire, médecine traditionnelle. Les informations les plus convaincantes sont celles rapportées par des observateurs compétents qui, étant sur le terrain, voient effectivement comment la plante est utilisée. Certains se contentent de questionner le tradipraticien et de noter les propriétés supposées des 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 ethnométricales de la littérature. Donnons l'exemple d'une plante qui aurait des propriétés "contraceptives": deux interprétations sont possibles: la plante est utilisée pour "empêcher la conception" (on précise rarement si elle est utilisée par l'homme ou par la femme) ou la plante est utilisée pour "empêcher la naissance" (comme abortif). D'où des difficultés, car élaborer un test biologique pour mettre en évidence l'inhibition de la conception est une chose, 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 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, a probablement plus de valeur qu'une information non documentée ou non confirmée.

Malgré ces difficultés apparentes et l'absence d'uniformité des observations disponibles sur l'utilisation ethnométricale des plantes, une analyse bien menée de ces observations doit permettre de repérer les plantes qui ont le plus de chances de donner une réponse positive dans un système de titrage biologique spécifique. Sur les 121 produits actuellement utilisés dans le monde et obtenus à partir de plantes supérieures, 74% ont été découverts au cours d'investigations entreprises en raison des propriétés décrites dans la littérature ethnométricale.

Cependant, la corrélation entre nombre de ces propriétés et un état pathologique n'est pas toujours facile à établir au moyen de biotitrages contrôlables au laboratoire. Ces corrélations devront être mieux étudiées et définies au fur et à mesure que les données expérimentales seront disponibles. Le recueil d'information auprès des praticiens indigènes grâce au réseau de centres collaborateurs OMS pour la médecine traditionnelle paraît être une approche logique.

*Collecte au hasard et criblage massif.* L'idée de base de cette méthode est que l'on ne finira par trouver des composés actifs contre une maladie donnée que si l'on sélectionne et teste au hasard un nombre suffisant d'échantillons. C'est ainsi que de 1956 à 1981 le

Mémemorandum

National Cancer Institute des Etats-Unis d'Amérique a recherché une activité antitumorale chez 32 000 espèces de plantes à fleurs d'origine géographique variée; 2 à 8% ont manifesté une activité antitumorale reproductible dans au moins un système *in vitro* de mise en évidence de la cytotoxicité et un ou plusieurs systèmes *in vivo* de détection des propriétés antitumorales.

Diverses propriétés antivirales ont été recherchées chez un grand nombre de plantes choisies au hasard. Certaines études de nature chimique ont confirmé 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 collecte soit préservé il faut parfois définir à l'avance le nombre total d'espèces recueillir et veiller à ce que tous les taxons soient proportionnellement représentés dans l'ensemble de la collecte. On peut affirmer avec juste raison que si l'on étudie un nombre suffisant d'échantillons on finira par repérer des composés actifs.

**Investigation des données de la littérature scientifique.** La littérature scientifique abonde en publications rapportant l'essai d'extraits de plantes, généralement *in vitro*, contre un ou plusieurs virus. Parmi les composés actifs signalés, bien peu ont été étudiés jusqu'au bout, en isolant et en caractérisant les principes actifs. Il ne serait cependant pas difficile de faire une recherche systématique dans la littérature pour identifier toutes les publications rapportant une activité antivirale chez des extraits de plantes et chez leurs principes actifs et d'analyser comme il convient les observations. A noter qu'il faudra peut-être tenir compte de paramètres biologiques (autres que l'effet cytopathogène direct sur le VIH) qui pourraient servir de prédicteurs de l'activité anti-SIDA; on citera l'inhibition de la synthèse d'ARN, l'inhibition de la synthèse protéique, l'inhibition de la transcriptase inverse, l'inhibition de la traduction du génome viral, etc.

**L'approche chimiotaxonomique.** Les plantes phylogéniquement apparentées tendent à avoir des métabolites secondaires semblables ou identiques. Par conséquent, 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 phylogéniquement apparentées qui auront les mêmes principes actifs ou des principes actifs apparentés. Si par exemple 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 peut grâce à cette approche identifier des espèces apparentées susceptibles de contenir le composé actif à forte concentration.

**Méthodes *in vitro* de recherche d'une activité anti-VIH dans les produits naturels**

L'identification des nouveaux médicaments procède par criblage au hasard ou par mise au point ciblée, à l'aide d'une méthode qui permet d'évaluer une action antivirale particulière du médicament ou de l'extrait. Avec les méthodes bien codifiées il est classique de tester diverses entités structurelles et de déterminer leur capacité à inhiber *in vitro* la réplication du VIH. Différentes méthodes sont employées pour tirer l'activité anti-VIH potentielle (tableau 1). Des composés de sources très diverses sont examinés, les composés ayant des caractéristiques structurelles originales ou manifestant une activité biologique étant l'objet d'une attention particulière. L'intérêt de ces systèmes appliqués à l'identification de drogues pour traiter les infections à VIH peut se mesurer au nombre de médicaments découverts. Maintenant, comment utiliser cette base d'informations pour recommander des tests d'évaluation des thérapies traditionnelles? C'est un problème qui n'est pas encore résolu. 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 2) 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 dans le traitement des infections à VIH. Le protocole indiqué n'est pas spécifique, c'est pourquoi certains de ses aspects sont discutés plus en détail ci-dessous.

**Authentification des extraits soumis à l'analyse.** La communication doit être parfaite entre le botaniste, le chimiste, le biologiste, le pharmacologue, l'ethnobotaniste et le guérisseur pour que les remèdes sélectionnés en vue de leur acquisition et de leur analyse soient authentifiés. Les informations minimales suivantes

Tableau 1: Méthodes biochimiques et méthodes en culture cellulaire pour le titrage de l'activité anti-VIH

Biochimie ou culture cellulaire	Paramètre viral mesuré
Polymerisation/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 2: Protocole d'évaluation des médicaments traditionnelles pour l'infection à VIH

1. Fournir un extrait authentifié
2. Utiliser un système *in vitro* pour le produit et déterminer sa toxicité
- Arrêter si la toxicité est sur
3. Purifier partiellement l'extrait
4. Exclure les inducteurs d'interactions cellulaires.
5. Confirmer l'activité antivirale
6. Titrer l'activité antivirale et la sensibilité anti-VIH ou dans un système animal appropriés.
- Arrêter si la toxicité est sur
7. Si des fractions actives sont trouvées:
  - a) commencer l'identification
  - b) faire des titrages biochimiques
  - c) réaliser des études d'efficacité dans un modèle animal approprié
8. Suivant les résultats obtenus, sélectionner des composés qui seront étudiés

sont nécessaires:

- identification taxonomique et chimique des principes contenus dans l'extrait;
- documentation photographique et description des plantes végétales;
- description détaillée du mode de préparation et d'utilisation;
- description détaillée de la méthode de collecte;
- description des autres utilisations de l'extrait en médecine traditionnelle.

L'extrait doit être préparé et les indications fournies par le fabricant doivent être directement. La façon de préparer l'extrait employé doit être prise en compte et les solvants utilisés pour l'extrait doivent être traditionnels en raison de la polarité. On envisagera la méthode d'extraction ou de fractionnement.

**Titrages *in vitro* de l'activité antivirale.** Les méthodes actuelles, biochimiques ou microbiologiques, sont diverses. On admet qu'aucune seule n'est parfaite et que pour valider les possibilités d'utilisation de ces méthodes il faut recourir à des méthodes complémentaires. Le protocole proposé débute par un titrage *in vitro* de l'activité antivirale. Une méthode de confirmation est utilisée si un composé actif est identifié.

Aucun système d'évaluation est déterminé si son coût, son degré

Tableau 2: 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 appropriés.  
**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 de priorité des composés qui seront soumis à l'évaluation clinique.

sont nécessaires:

- identification taxonomique des espèces de plantes 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 et du moment de la collecte;
- description des autres modes 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 sophistiquées.

**Titrages *in vitro* de l'activité antivirale.** Les méthodes actuelles, biochimiques ou en culture cellulaire, sont très diverses. On admet qu'aucune des 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 2) débute par un titrage unique que suivent d'autres méthodes de confirmation plus précises si un composé actif est identifié.

Aucun système d'essai isolé n'est parfait. Le choix d'un système est déterminé par plusieurs facteurs clés dont son coût, son degré de simplicité et sa reproduc-

tibilité. Cependant, on utilisera en première intention au moins un système de titrage sur culture de lymphocytes T (H9, ATH8, MT-2) comme crible des préparations traditionnelles.

Les isoléments de VIH obtenus chez les patients n'ont pas la même activité que les souches adaptées au laboratoire. Quoi qu'il en soit, la maniabilité, le coût et la reproductibilité sont 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 au moins sept jours on observe plusieurs cycles de multiplication virale.

Certaines préparations médicinales traditionnelles ont parfois besoin d'être métabolisées par la cellule hôte. Le produit sera donc introduit dans la culture cellulaire deux heures au moins avant l'inoculation du VIH. Une durée plus longue ou un prétraitement (24 heures) pourraient donner des informations particulièrement utiles et permettraient de repérer les agents extrêmement cytotoxiques avant l'infection par le VIH. L'écart entre deux dilutions du médicament potentiel ne doit pas dépasser un log. Il est recommandé d'employer des dilutions en série au tiers, la concentration située au milieu de la série correspondant à la concentration de la préparation traditionnellement ingérée. Le nombre de dilutions sera d'abord fixé empiriquement puis déterminé ultérieurement après analyse des données. On peut cependant au début prévoir au moins 12 dilutions par extrait. Le seuil définissant l'activité antivirale peut varier avec le nombre de cellules survivantes, la formation du syncytium, l'expression de p24, le titre de transcriptase inverse dans le surnageant ou la fluorescence des antigènes viraux.

Le succès d'un agent thérapeutique repose sur son absence de cytotoxicité. La cytotoxicité sera donc l'objet d'une attention particulière. Les tests devront mettre en évidence la durée de survie des cellules et l'intensité de leur réplication en présence du médicament.

Il est admis que les propriétés antivirales doivent l'emporter sur la toxicité potentielle. Il va de soi que certains extraits contiendront des constituants toxiques à concentration plus élevée qu'une fraction thérapeutique potentielle 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.

**Recherche d'une activité "immunostimulante".** De nombreux extraits utilisés en médecine traditionnelle sont censés avoir une activité stimulante. Cette stimulation peut avoir plusieurs causes, à savoir un effet anti-infectieux de l'extrait, une action immunostimulante ou encore un effet indéterminé sur le fonctionnement de l'organisme. Etant donné que les préparations traditionnelles stimulantes sont nombreuses et que nos connaissances actuelles sur les interrelations entre le

Recherche d'une activité naturelle

Les médicaments procèdent par mise au point ciblée, permet d'évaluer une action médicamenteuse ou de l'extrait. Si il est classique de déterminer les effets de détermination de la réplication du VIH. Les composés de structure originales biologiques étant l'objet de ces systèmes de traitement pour mesurer au nombre de cellules, comment utiliser les tests traditionnelles? C'est un problème résolu. Ces tests peuvent impliquer l'emploi d'une thérapie d'étude d'un médica-

Le tableau 2) tient compte de la médecine occidentale et traditionnelle pour l'évaluation scientifique susceptible d'être utilisée dans l'infection à VIH. Le protocole est pourquoi certains de ces tests en détail ci-dessous.

Les échantillons soumis à l'analyse. La collaboration entre le botaniste, le pharmacologue, l'ethnobotaniste et le biologiste pour la sélection et l'analyse soignée des échantillons animales suivantes

Questions et méthodes en culture d'activité anti-VIH

Paramètre viral mesuré
Transcriptase inverse
Ribonucléase H
Protéase
GP 120, fusion médiée par l'enveloppe virale
Interactions de la p24
nef
nef

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.

De nombreuses plantes supérieures contiennent on le sait des composés à large spectre antiviral. On pense que certains de ces composés sont des inducteurs d'interféron qui inactivent intracellulairement divers virus. Dans la mesure où l'interféron fait l'objet d'évaluations distinctes dans 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'interféron. Il existe d'autres épreuves immunologiques, mais considérées comme peu maniables en routine pour l'examen des extraits potentiels utilisables dans le traitement des infections à VIH.

**Evaluation complémentaire 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 sont en faveur de l'utilisation d'autres rétrovirus: elle permettra de vérifier la spécificité anti-rétrovirale, de définir les composés à étudier en priorité sur les modèles animaux, de diminuer l'exposition au VIH et d'abaisser le coût de l'évaluation de l'extrait pendant sa séparation.

Le but 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 préalablement tester l'activité antivirale des fractions avant d'identifier une entité thérapeutique.

Ces trois volets de l'évaluation, l'identification chimique, les études d'efficacité et de toxicité chez des modèles animaux appropriés et les études basées sur le mécanisme d'action doivent se dérouler simultanément pour fournir les informations nécessaires à la suite de l'évaluation clinique, à la modification de la molécule par synthèse ou à l'utilisation directe du composé identifié.

**Considérations d'ordre juridique 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 prescrits aux Etats-Unis d'Amérique avait été mis au point à partir de tels composés (8). A l'origine de la découverte de nom-

breuses drogues actives se trouve souvent l'utilisation traditionnelle de préparations de plantes dans de nombreux pays (6). Dans bien des cas, un produit d'origine végétale unique a débouché sur le développement de classes très étendues de composés.

Il est regrettable que les thérapeutes traditionnels et les communautés, pourvoyeurs d'informations cruciales, aient été oubliés par les milieux de la recherche et n'aient eu droit à aucune reconnaissance quand des composés utiles ont été découverts. Rien ne doit être négligé pendant l'investigation scientifique des drogues traditionnelles pour que les personnes et les communautés qui participent à la découverte de médicaments anti-VIH (et notamment les tradipraticiens dont les informations peuvent être génératrices de nouvelles découvertes) soient récompensés comme il se doit.

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

**Conclusions et recommandations**

On admet 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). En raison du petit nombre d'études systématiques conduites pour découvrir des drogues anti-VIH dans les végétaux ou dans d'autres produits naturels et du besoin de disposer de toute 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:

- L'OMS identifiera les organismes où pourra être réalisée l'évaluation scientifique des préparations médicinales traditionnelles destinées au traitement du SIDA, de la collecte des plantes à la détermination de la structure chimique, en passant par l'extraction et le criblage *in vitro* et *in vivo*.
- Le réseau existant de centres collaborateurs OMS pour le SIDA et pour la médecine traditionnelle sera utilisé au maximum.
- Les investigations dans le domaine de la médecine traditionnelle seront envisagées dans le cadre des programmes nationaux de lutte contre le SIDA, ce qui devrait contribuer au renforcement des activités et des organismes existants.

- Le Programme mondial fixera, en collaboration avec la médecine traditionnelle, un mécanisme de priorités, la préparation de protocoles et le financement des recherches conformément aux stratégies approuvées.
- Les programmes nationaux collaboreront avec l'OMS pour l'évaluation scientifique traditionnelle.
- La quête actuelle d'un médicament partout marquée par l'urgence, cette activité relève des sciences industrielles pharmaceutiques et des pouvoirs publics. Dans l'exploration des ressources, il relève des sciences traditionnelles rarement partie d'un plan national. On reconnaît que dans les pays qui utilisent des médicaments traditionnels, il est utile d'étudier soigneusement les interventions, pour déceler d'éventuelles thérapies prometteuses et élaborer des protocoles de recherche.

peuvent souvent l'utilisation  
de plantes dans de  
cas, un produit  
développé sur le dévelop-  
de composés.

thérapeutes traditionnels  
voyeurs d'informations  
par les milieux de la  
à aucune reconnaissance  
nt été découverts. Rien ne  
investigation scientifique  
pour que les personnes et  
pient à la découverte de  
otamment les tradiprati-  
peuvent être génératrices  
ies : impensés comme

bles de travailler dans le  
ancé par l'OMS devront  
distribution des revenus  
couvertes.

## Recommandations

médicinales sont à l'origine  
employés pour soulager les  
75% environ de ces mêm-  
ts parce que ces plantes  
ne traditionnelle (6). En  
études systématiques con-  
rogues anti-VIH dans les  
produits naturels et du  
te urgence d'une grande  
i-VIH efficaces, les parti-  
stime. À condition de  
venablement, les  
e traditionnelle fourniront  
actifs; ils formulent donc  
tes:

rganismes où pourra être  
que des préparations mé-  
stinées au traitement du  
ntes à la détermination de  
ssant par l'extraction et le

autres collaborateurs OMS  
médecine traditionnelle sera

le domaine de la médecine  
agées dans le cadre des  
lutte contre le SIDA, ce qui  
cement des activités et des

- Le Programme mondial de Lutte contre le SIDA fixera, en collaboration avec le Programme Médecine traditionnelle, un mécanisme pour la définition des priorités, la préparation des protocoles, la promotion et le financement des recherches nécessaires conformément aux stratégies approuvées du programme.
- Les programmes nationaux de lutte contre le SIDA collaboreront avec l'OMS pour identifier les préparations médicinales traditionnelles qui méritent une évaluation scientifique plus poussée.
- La quête actuelle d'un remède contre le SIDA est partout marquée par l'urgence. Dans les pays industrialisés, cette activité relève en général de la recherche industrielle pharmaceutique ou est financée 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, pour déceler d'éventuels effets secondaires graves associés au traitement et pour identifier les thérapeutiques prometteuses et les soumettre aux protocoles de recherche et développement.

## Bibliographie

1. Chang, R.S. & 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 characterization 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. Sulfation 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. Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 64: 159-175 (1986).
7. Leven, M. et al. Antiviral activity of some *Amaryllidaceae* alkaloids. *Planta medica*, 33: 284-300 (1978).
8. Farnsworth, N.R. & Morris, R.W. Higher plants—the sleeping giant of drug development. *American journal of pharmacy*, 147: 46-52 (1976)