

Des plantes contre la leishmaniose

Les populations originaires des régions tropicales possèdent une connaissance de leur pharmacopée traditionnelle et de leur environnement que la recherche biomédicale moderne se devait de valoriser. La recherche de substances naturelles à activité biologique, basée sur les nosologies et les pharmacopées traditionnelles, est développée dans plusieurs laboratoires dans le monde et tout spécialement depuis 10 ans, en coopération avec l'Orstom, à l'Instituto Boliviano de Biología de Altura (IBBA) à La Paz, Bolivie et depuis peu au Paraguay à l'Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS).

A partir d'enquêtes ethnopharmacologiques, de données chimiotaxonomiques et de l'expérience acquise sur le terrain dans d'autres pays sud-américains, l'unité de recherche "Substances naturelles d'intérêt thérapeutique" développe un programme de recherche de nouvelles molécules actives contre les deux principales endémies parasitaires dominantes en Bolivie et au Paraguay : les leishmanioses et la maladie de Chagas.

La leishmaniose cutanée présente des signes cliniques identifiés par les populations indigènes ce qui facilite la collecte d'informations sur l'emploi des remèdes locaux à base de plantes ou de produits d'origines diverses, généralement corrosifs.

De telles recherches se justifient, entre autres, par le peu de moyens thérapeutiques existant sur le marché sud-américain, leur coût prohibitif, leur toxicité, leur faible diffusion et les difficultés d'effectuer les traitements dans de bonnes conditions hospitalières. Il s'agit donc d'essayer de combler un vide thérapeutique, mais aussi de mettre au point des traitements ambulatoires efficaces, pour faciliter l'extension de la couverture sanitaire dans des zones sous-médicalisées. Ces maladies touchent, en priorité, des populations vivant en milieu rural avec de faibles ressources économiques.



Photo: Alain Bourrel

Cas de leishmaniose cutanée diffuse. Bolivie, région de l'Alto Beni.

.....



DOUZE MILLIONS DE VICTIMES PAR AN

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires transmises à l'Homme par des insectes appelés phlébotomes. La prévalence globale de cette maladie est estimée à 12 millions de personnes touchées dans le monde, dont 400 000 à 2 millions de nouveaux cas répertoriés chaque année.

Les leishmanioses sont des zoonoses parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre *Leishmania* qui appartiennent à la famille des Trypanosomatidae. Ces espèces sont morphologiquement peu différentes. La classification est basée sur des critères cliniques, épidémiologiques, géographiques et biochimiques. Les leishmanies se présentent sous deux formes différentes, suivant l'hôte :

- la forme mobile flagellée et extracellulaire, dite promastigote



“Flor de Mayo”
Erythrina sp, plante
utilisée pour traiter
la leishmaniose
cutanée.

Photo : Alain Fournier

Hierbas medicinales contra la leishmaniosis

La medicina moderna tiene mucho que aprender de los pueblos indígenas de las regiones tropicales, quienes conocen bien las hierbas medicinales de la zona.

Durante los últimos diez años, en colaboración con el Instituto Boliviano de Biología de Altura de La Paz, Bolivia, Orstom se ha consagrado a la búsqueda de sustancias naturales biológicamente activas empleadas en la farmacopea tradicional; recientemente, Orstom, junto con el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud de Paraguay inicio un trabajo de investigación similar. Ambos programas se centran en las dos principales endemias parasitarias de Sudamérica: la Leishmaniosis y la enfermedad de Chagas.

La Leishmaniosis, transmitida por la picadura del mosquito simúlido hembra, *Phlebotomus*, afecta a alrededor de 12 millones de personas en el mundo. Se trata de una enfermedad frecuente que produce llagas o úlceras en todo el cuerpo, y en los casos más graves, lesiones internas. Las medicinas existentes hoy en día presentan muchas desventajas y no tienen una amplia difusión.

Se realizaron trabajos de investigación en la selva de Bolivia, primero entre colonos del Altiplano, recién instalados ahí, y posteriormente, entre los indios

Chimanes, en su selva nativa al pie de la cordillera andina.

Los colonos, anteriormente no familiarizados con la enfermedad, no solo utilizan hierbas sino también cauterizan sus lesiones con productos que van del jugo de limón al ácido sulfúrico de la batería, pasando por el que-roso.

Su panoplia herbórea puso al descubierto dos especies que dan buenos resultados contra los cultivos de parásitos leishmania *in vitro*.

Sin embargo, son los Chimanes quienes descubrieron un tratamiento que sana eficazmente sus heridas. Estos mostraron a los investigadores las tres plantas que utilizan, las cuales se aplican directamente a la herida. Un cierto número de extractos de dichas plantas resultaron efectivos *in vitro*, al aislar sustancias activas de las tres. De éstas, algunas resultaron más efectivas que el medicamento de referencia. Estos interesantes resultados, después de haber sido probados por vía oral en ratones, han llevado a los investigadores a solicitar una patente. En cuanto a la Leishmaniosis visceral, aún quedan mucho por investigar; la OMS acaba de incluirla en la lista de enfermedades oportunistas que afectan a los enfermos de SIDA, además de que sigue siendo un grave problema de salud en muchos países.

- la forme immobile intracellulaire, dite amastigote, sans flagelle.

Les agents vecteurs des leishmanioses sont les phlébotomes, insectes diptères nématocères velus de 2 à 3 mm. Ils abondent toute l'année dans les régions tropicales et l'été dans les régions tempérées. Ils se rencontrent jusqu'à 3 000 mètres d'altitude. Les phlébotomes adultes gîtent toute la journée dans les recoins sombres (terriers, maisons).

Seule la femelle est hématophage, sa piqûre est douloureuse. Il existe plus de 600 espèces ou sous-espèces de phlébotomes dans le monde. Une trentaine d'espèces sont responsables de la transmission de la maladie.

La gravité des leishmanioses cutanées du Nouveau Monde tient à leur caractère récidivant, diffus (leishmanioses cutanées diffuses) et mutilant (leishmaniose mucocutanée).



Indien chimane pêchant à l'arc.

Les traitements des leishmanioses sont des produits généralement toxiques (antimoniés ou autres), peu maniables (administration parentérale, effets secondaires importants, hospitalisation souvent nécessaire), onéreux pour les populations et peu diffusés. Bien que des progrès aient été réalisés pour la mise au point de nouveaux médicaments, le traitement des leishmanioses ne donne toujours pas entière satisfaction. Il existe aussi de nombreux cas de résistance au traitement ou de rechute. D'importantes recherches sont entreprises et continuent d'intéresser de nombreux laboratoires.

LA COLONISATION DES TERRES TROPICALES

La colonisation récente des terres tropicales par les populations originaires de l'Altiplano, Quechuas

ou Aymaras, a engendré une forte augmentation du nombre de cas de leishmaniose cutanée. Ces populations arrivent dans la forêt, milieu hostile, auquel elles ne sont pas préparées. Dès leur arrivée, elles doivent s'acclimater à la chaleur, au changement de nourriture, et surtout au contact avec les maladies tropicales, essentiellement, la leishmaniose tégumentaire ou "espundia", la fièvre jaune, le paludisme et toutes les viroses, connues ou inconnues, endémiques à ces régions. Ces maladies sont totalement absentes en altitude. L'impact du choc avec ce milieu est accentué par la malnutrition, les changements de nourriture, d'habitat, de climat et les conditions de vie très difficiles : logement précaire, dispersé, infrastructures routières, sanitaires et éducatives peu développées. Cet éloignement de tout service (école, dispensaire) influe largement sur l'état physique et psychologique.



Le colon en arrivant doit défricher le lopin de forêt primaire ou secondaire, appelé "chaco", que lui a donné l'Etat bolivien. Au cours de cette phase de mise en valeur de la terre, les colons sont continuellement agressés par des nuées d'insectes, parmi lesquels se trouvent les phlébotomes, vecteurs de la leishmaniose cutanée.

Nous nous sommes d'abord intéressés principalement à deux régions de colonisation du département de La Paz, les Yungas (entre 3 000 m et 1 000 m d'altitude) vallées de colonisation déjà ancienne (20 à 30 ans) proche de La Paz, et l'Alto-Beni, situé dans le piémont andin à des altitudes variant entre 1 100 m et 200 m, une zone où la présence est plus récente. Une fois installé, le colon apprend vite à reconnaître, avec l'aide des membres les plus anciens de sa communauté, une leishmaniose tégumentaire

provoquée par le parasite *Leishmania braziliensis*. Le manque de connaissance d'un milieu profondément différent de celui qu'ils côtoyaient sur l'Altiplano oblige les colons à improviser des traitements. La leishmaniose tégumentaire représente pour eux une sorte de chancre qu'il faut brûler pour assainir la plaie. Cette représentation de la maladie est la même chez les Indiens Chimanes des forêts amazoniennes, à la différence près que chez ces derniers, l'espundia fait partie de leur environnement et qu'ils ne la craignent pas.

Lors de nos premières prospections sur le terrain, les colons que nous avons rencontrés, nous ont indiqué qu'ils employaient d'autres moyens que les plantes, notamment, l'essence de voiture, le gasoil, le kérosène, l'acide sulfurique de batterie, le jus de citron, ou la poudre noire des piles électriques. Certains même n'hésitent pas à brûler la lésion en l'approchant près d'une flamme. Cette caractéristique de causticité ou de corrosion des traitements est également commune à toutes les plantes utilisées contre l'espundia. Les latex d'arbre particulièrement corrosifs, tels que ceux de *Ficus* sp (Moraceae) ou d'*Ura crepitans* L. (Euphorbiaceae), sont couramment utilisés.

Après cette recherche, dans les zones de colonisation, de plantes supposées leishmanicides, le bilan était mince. Sur une dizaine de plantes récoltées sur information, seules deux espèces de *Bocconia* (Papaveraceae) avaient donné des résultats positifs *in vitro* sur les milieux de culture des parasites.



PHOTO: JAMES FAULNER

Indien chimane atteint d'une leishmaniose muco-cutanée.

Herbs against leishmaniasis

Indigenous peoples in tropical regions know their local medicinal herbs well, and modern medicine has much to learn from them. Over the past ten years, in collaboration with the Instituto Boliviano de Biología de Altura in La Paz, Bolivia, Orstom has been searching for biologically active natural substances used in traditional pharmacopoeias; more recently, similar work has been started with the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud in Paraguay. These programs are focusing on South America's two foremost endemic parasite diseases: leishmaniasis and Chagas' disease.

Leishmaniasis, transmitted by the bite of the female *Phelebotomus* sandfly, affects an estimated 12 million people world-wide. It is a recurrent disease, causing scattered sores or skin ulcers or, in its most severe forms, internal lesions. Existing drugs have many disadvantages and are not widely used. Research was carried out in forest areas of Bolivia, first among recent colonists from the Altiplano and then

among the Chimanes Indians in their native forests in the Andean foothills. The colonists, previously unfamiliar with the disease, not only use herbs but also cauterize their sores with products ranging from lemon juice to battery acid and kerosene. Their herbal panoply revealed two species that give positive results against cultures of *Leishmania* parasites *in vitro*.

The Chimanes, however, had clearly found a treatment that successfully healed their sores, and they showed the researchers the three plants they use, applied directly to the sore.

A number of extracts from these plants proved effective *in vitro*, and active substances were isolated from all three. Of these, some proved more effective than the reference drug. Following successful tests with one of these alkaloids in mice, by oral administration, a patent has been applied for.

Tests have yet to be run on visceral leishmaniasis, which is a serious health problem in some countries.

Les recherches se sont déroulées comme suit :

- par des enquêtes ethnopharmacologiques sur le terrain dans les régions touchées par la leishmaniose cutanée, auprès des colons d'origine altiplanique (Aymaras et Quechuas), vivant dans les régions tropicales du département de La Paz (Yungas, Alto-Beni) et d'un groupe d'Amérindiens habitant les selvas des derniers contreforts andins des départements de La Paz et du Beni, les Chimanes.

- par des triages biologiques avec différents extraits végétaux sur les formes extracellulaires des parasites. Ces tests simples permettent de cibler rapidement en 48 ou 72 heures les extraits actifs.

- par l'isolement des principes actifs par guidage biologique.

Par cette méthode, c'est la biologie qui conduit la séparation et l'isolement des composés actifs.

- par la réalisation d'une batterie de tests biologiques plus approfondis pour confirmer l'activité biologique des produits actifs isolés tels que : essais *in vitro* sur les formes intracellulaires, amastigotes de leishmanies, essais biologiques *in vivo* avec des souris infectées par des espèces du Nouveau Monde (*L. amazonensis*, *L. venezuelensis*) ou par celle responsable de la leishmaniose viscérale (*L. donovani*) ;

- par l'identification de la structure chimique des principes actifs isolés.

Cette partie du travail a été réalisée en France (Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry et à la Faculté de Pharmacie d'Angers).



Photo : Alain Fournet

Vue d'avion du Rio Maniqui avant l'atterrissage à Fatima de Chimane - Beni.

Pour en savoir plus

Berman J. D. (1988). Chemotherapy of leishmaniasis: biochemical mechanisms clinical efficacy and future strategies. *Rev. Infect. Dis.* 10, 560-586.

Croft S. L. (1988). Recent development in the chemotherapy of leishmaniasis. *Trends Pharmacol. Sci.*, 9, 376-381.

Fournet A. (1991). Plantes médicinales boliviennes antiparasitaires (leishmaniose et maladie de Chagas): *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae), *Pera benensis* Rusby (Euphorbiaceae) et *Ampelocera edentula* Kuhim (Ulmaceae).

Thèse de doctorat de l'Université de Paris-Sud, mention Sciences Pharmaceutiques.

Fournet A., Angelo Barrios A., Muñoz V., Hocquemiller R., Cavé A. et Bruneton J. (1993). 2-Substituted quinoline alkaloids as potential antileishmanial drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 859-863.

Le Pont F., Desjeux P., Torres Espejo M., Fournet A., Mouchet J. (1992). Leishmanioses et Phébotomes en Bolivie. Editions Orstom-Inserm, 116 p.

Après ces enquêtes chez les colons, nous nous sommes intéressés à un groupe de populations originaires des régions tropicales des derniers contreforts des Andes aux limites des départements de La Paz et du Beni, les Chimanes. Cette population particulièrement bien intégrée dans son milieu vit aux bords des rios Yucumo, Chimane et Maniqui. Le groupe Chimanes est évalué entre 4 000 et 5 000 personnes réparties sur une région de plus de 120 km de long sur 50 km de large. Ils vivent par famille ou par clan dans des groupements de quelques habitations aux toits de tuiles de palmes. Les Chimanes pratiquent la chasse et la cueillette et cultivent des parcelles de terres prises sur la forêt, pour y planter du manioc, du maïs, du riz, des ignames ou des bananes à cuire. Ils s'installent généralement près des rivières ou des fleuves qu'ils parcourent en pirogues. Ce sont d'habiles pêcheurs et chasseurs. Leur bonne connaissance du milieu naturel est illustrée par l'utilisation de plantes ichthyotoxiques pour la pêche, les "barbasco", les feuilles de *Tephrosia vogelii* (Leguminosae), la tige lianescente de *Serjania tenuifolia* (Sapindaceae) ou le latex de "soliman" *Ura crepitans* L. (Euphorbiaceae). Un bon nombre de sujets, adultes ou enfants, présentent des cicatrices caractéristiques d'une espundia. Trois plantes sont employées régulièrement pour la traiter, *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae), *Pera benensis* Rusby (Euphorbiaceae) et *Ampelocera edentula* Kuhl. (Ulmaceae). Ces trois plantes sont utilisées directement sur les lésions leishmaniennes. Les écorces, pour les trois espèces, sont récoltées par un grattage soigneux du tronc et sont appliquées fraîches sous la forme d'un emplâtre directement sur les plaies. Le cataplasme est renouvelé plusieurs fois par jour, jusqu'à cicatrisation complète de la lésion.

Contrairement aux plantes récoltées précédemment dans les zones de colonisation, plusieurs extraits préparés à base de ces trois plantes ont montré une activité leishmanicide *in vitro* sur plusieurs espèces de leishmanies au stade promastigote.

ETUDES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DES PLANTES LEISHMANICIDES

Treize alcaloïdes ont été isolés de *Galipea longiflora*, tous de type quinoléine, dont quatre nouveaux, que nous avons appelé Chimanines A, B, C et D, en hommage à nos informateurs. Sur les douze alcaloïdes testés sur des souris infectées soit par *Leishmania amazonensis* ou soit par *L. venezuelensis*, la 2-n-propylquinoléine et les chimanines B et D se révèlent autant ou plus actives que le médicament de référence, le Glucantime*. L'activité de certaines quinoléines administrées par voie orale a été confirmée expérimentalement sur des souris infectées par *L. donovani*. Ces résultats ont fait l'objet d'un dépôt de brevet (Fournet et al., 1991). Au plan de l'étude chimique, la synthèse des quinoléines de structure assez simple a été réalisée.

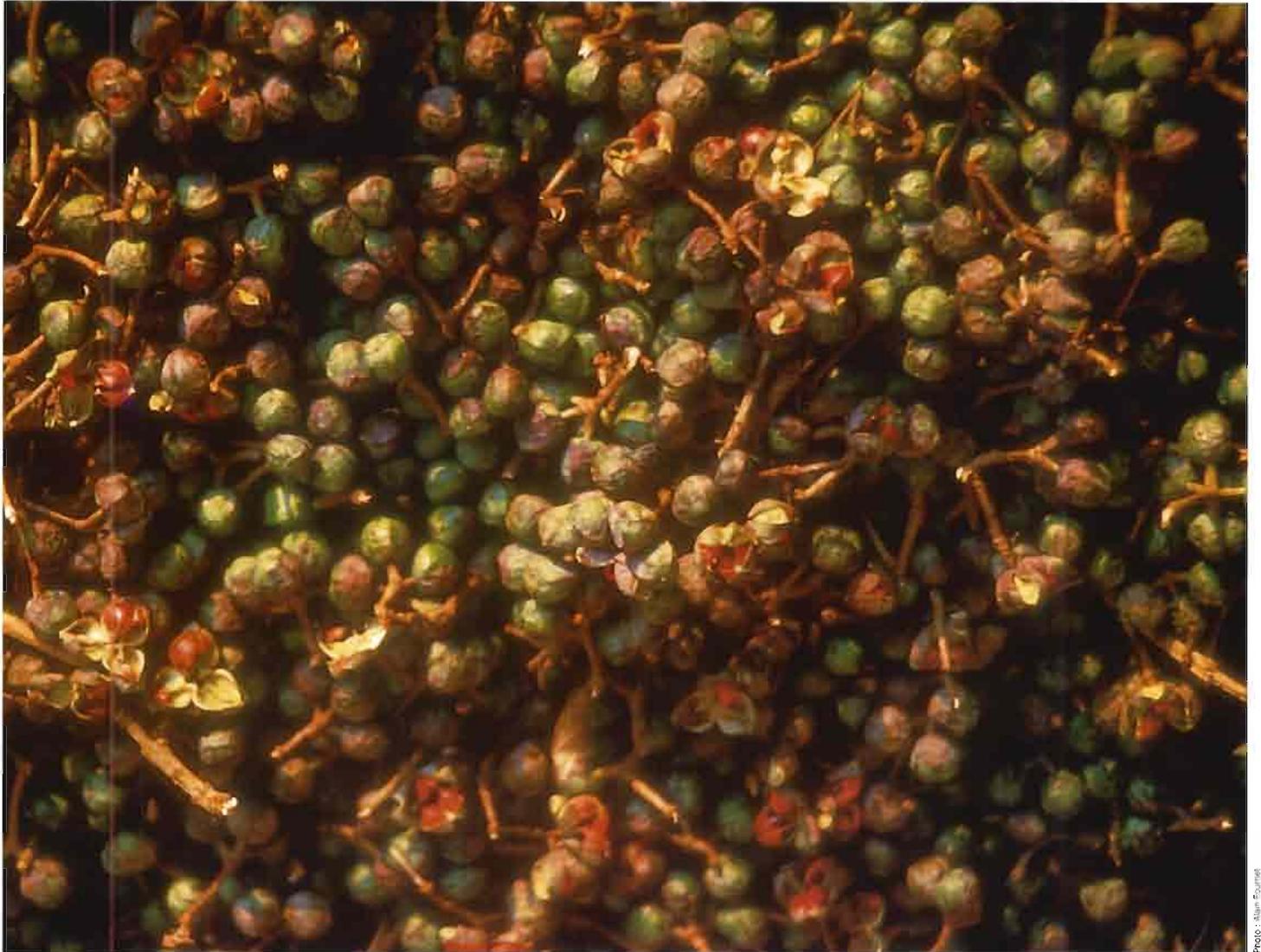


Photo: Alain Fournet

La synthèse des produits a également pour avantage de préserver la flore tropicale déjà trop dégradée par le défrichement et l'exploitation irrationnelle de la forêt.

De la deuxième plante, *Pera benensis*, trois naphoquinones ont été isolées dont une seule est réellement efficace, la plumbagone. Ce composé confirme son activité sur tous les modèles *in vivo*, mais présente l'inconvénient d'être toxique. Les deux autres, des dimères de la plumbagone, sont moins toxiques, mais moins efficaces que la plumbagone.

A partir de la troisième plante, *Ampelocera edentula*, un seul produit a été identifié, la 4-hydroxy-1-tétralone. Ce produit se révèle très actif lorsqu'il est appliqué à l'endroit de l'infection parasitaire et aussi à un degré moindre par administration par voie générale.

Il est nécessaire de tester l'ensemble des principes actifs isolés au cours de cette étude sur la leishmaniose viscérale (*Leishmania donovani* et *L. infantum*) qui présente au Brésil, dans les pays méditerranéens et en Asie (Inde et Pakistan) un réel problème de santé publique. Cette maladie est mortelle s'il elle

n'est pas traitée à temps. La leishmaniose viscérale est en nette recrudescence dans les zones d'endémie à cause de la résistance du parasite aux traitements classiques par les antimoniés pentavalents.

Un autre facteur important est venu s'ajouter récemment : la leishmaniose viscérale vient d'être incluse par l'OMS dans les maladies opportunistes chez les malades touchés par le syndrome d'immunodéficience acquise (Sida).

VERS UN PARTENARIAT INDUSTRIEL

L'Orstom, par l'intermédiaire de sa "Mission de valorisation et transferts", souhaite aller plus loin dans le développement des produits protégés par un brevet, en confiant la recherche clinique et le développement commercial à un partenaire industriel ■

Alain Fournet
Département Santé
UR "Substances naturelles
d'intérêt thérapeutique"

Fruits de "apaiñiki"
(*Pera benensis* Rusby,
Euphorbiaceae),
plante bolivienne
employée par les
Indiens Chimanes
pour traiter la leish-
maniose cutanée.

.....
Famille chimane.



Photo: Alain Fournet

Fournet Alain

Des plantes contre la leishmaniose

ORSTOM Actualités, 1995, (45), p. 2-7. ISSN 0758-833X