



Article Original

Formulation de Gélules à Base de Feuilles et de Tiges d'Artemisia Annua

Formulation of capsules of based on the powder of leaves and stems of Artemisia annua

Rosine D. K. Chougouo-Nkuitchou^{1,2}, Alain N'Guessan¹, Nkamenjo Cécile², Djoko Ernest², Kouamouo Jonas², Tane Pierre², Armand A. Koffi¹, Wouessidjewe Denis²

- (1) Laboratoire de Pharmacie galénique, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire
- (2) Laboratoire de Pharmacie galénique, Faculté de Pharmacie, Université des Montagnes, Bangangté, Cameroun.

Auteur correspondant :

Alain N'Guessan,
Mail : nguessan.alain@univ-fhb.edu.ci, Cel : +225 77 97 72 55

Mots-clés: *Artemisia annua*, Feuilles, Tiges, Paludisme, Gélules.

Keywords: *Artemisia annua*, Leaves, Stems, Malaria, Capsules.



RÉSUMÉ

Introduction. Depuis quelques années, les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artemisinine (CTA) sont l'objet de nombreux cas de résistances thérapeutiques. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré l'efficacité d'Artemisia annua (Asteraceae) sur les formes résistantes de Plasmodium. Ce travail a donc pour objectif de mettre au point des gélules à base de la poudre de feuilles et de tiges d'A. annua afin d'améliorer la prise en charge du paludisme en Afrique. **Méthodes.** Cette étude a consisté à caractériser la poudre et les granulés d'A. annua, obtenus par granulation humide par ajout de l'empois d'amidon de maïs. Puis des gélules dosées à 125 mg d'A. annua, ont été formulées et contrôlées selon la pharmacopée européenne 9e éd. **Résultats.** L'analyse granulométrique de la poudre a donné un diamètre médian (d50) inférieur à 50 µm et 600 µm pour les granulés. Les gélules obtenues, ont une répartition uniforme de la masse (125,7 mg). Le temps de désagrégation des gélules est de 3,5 ± 1,4 mn. Les teneurs en flavonoïdes totaux de la poudre et des gélules sont de 8,8 ± 1,2 mg et 1,6 ± 0,1 mg équivalent de quercétine. **Conclusion.** Ce travail a permis de mettre au point des gélules à base de feuilles et de tiges d'A. annua conformes à la Pharmacopée européenne 9e éd.

ABSTRACT

Introduction. In recent years, Artemisinin-based Therapeutic Combinations (CTAs) was the subject of numerous cases of therapeutic resistance. In addition, several studies have demonstrated the efficacy of Artemisia annua (Asteraceae) on the resistant forms of Plasmodium. This work therefore aims to develop capsules based on the powder of leaves and stems of A. annua to improve the management of malaria in Africa. **Methods.** This study consisted in characterizing the powder and granules of A. annua, obtained by wet granulation by adding corn starch paste. Then capsules containing 125 mg of A. annua, have been formulated and controlled according to the European Pharmacopoeia 9th Ed. **Results.** The particle size analysis of the powder gave a median diameter (d50) of less than 50 µm and 600 µm for the granules. The capsules obtained have a uniform distribution of mass (125.7 mg). The disintegration time of the capsules is 3.5 ± 1.4 min. The total flavonoid contents of the powder and capsules are 8.8 ± 1.2 mg and 1.6 ± 0.1 mg equivalent of quercetin. **Conclusion.** This work made it possible to develop capsules based on leaves and stems of A. annua conform to the European Pharmacopoeia 9th Ed.

1. INTRODUCTION

Artemisia annua L (*Asteraceae*), est une plante médicinale utilisée depuis des siècles dans la médecine traditionnelle chinoise pour traiter la fièvre, le paludisme et le cancer. Elle a montré une très bonne efficacité sur les différentes espèces de Plasmodium et a fait l'objet de nombreux travaux scientifiques. Par ailleurs, le paludisme est l'une des maladies parasitaires les plus répandues dans le monde. En 2018, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estimait à 215 millions, le nombre de cas de paludisme dans le monde, avec près de 600.000 décès par an [1]. Les traitements antipaludiques recommandés par l'OMS depuis quelques années, sont les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) [2]. Toutefois, en plus de leur coût relativement élevé, ces médicaments sont l'objet de nombreux cas de résistances thérapeutiques, ce qui oblige les chercheurs à réfléchir à d'autres alternatives [3,4]. Parmi celles-ci, l'utilisation des parties aériennes d'*A. annua* sous forme de tisane. En effet, plusieurs études ont démontré l'efficacité thérapeutique des feuilles et des tiges d'*A. annua* sur les formes résistantes de Plasmodium aux CTA [5,6]. En plus c'est une plante qui se cultive facilement dans les pays tropicaux et qui pourrait apporter une solution au problème de l'accessibilité aux traitements antipaludiques moins chers et de bonne qualité aux populations des pays pauvres [7,8]. Toutefois, aucun médicament à base de la poudre de feuilles et de tiges n'a à ce jour, été mis sur le marché pharmaceutique. Pourtant quelques essais de formulation de formes orales solides (gélules et comprimés) ont donné de bons résultats [5,9–11]. En effet, la mise au point de formes orales solides, pourrait contribuer à améliorer la stabilité de l'artémisinine, connue pour son instabilité en milieu aqueux [12,13]. En outre, l'administration de feuilles d'*A. annua* en poudre, présente l'avantage de délivrer le "totum" c'est-à-dire l'ensemble des molécules présentes dans la plante, agissant en synergie avec l'artémisinine [9]. Et une étude chinoise avait montré que des gélules d'*Artemisia annua* utilisées dans des essais pharmacologiques et cliniques sur des souris, les a guéri à 100% du paludisme à Plasmodium berghei et Plasmodium vivax [10]. Ce travail s'inscrit donc dans ce cadre et a pour objectif de mettre au point des gélules à base de feuilles et de tiges séchées d'*A. annua* de qualité pharmaceutique afin d'améliorer la prise en charge du paludisme en Afrique.

dans la ville de Bangangté (Cameroun), puis identifiée à l'herbier national sous le numéro Voucher 65647/HNC. Les semences utilisées provenaient de Mediplant (Centre de recherche sur les plantes médicinales et aromatiques CH 1964 Conthey/Suisse). La récolte a été réalisée 8 mois après le plantage, à maturité de la plante. Les feuilles et les tiges ont été découpées en morceaux de 3 cm environ, puis séchées à l'air libre et à l'ombre pendant 10 jours. Le matériel végétal séché a ensuite été pulvérisé à l'aide d'un broyeur à hélice (Moulinex, France) et tamisé. La poudre obtenue a été conservée dans des boîtes opaques en PVC hermétiquement fermées.

2.2 Caractérisation de la poudre

2.2.1 Examen organoleptique

La détermination des caractères organoleptiques a consisté à observer la poudre d'*A. annua*, à la toucher, à la sentir et à la goûter.

2.2.2 Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre d'*A. annua* selon les méthodes analytiques décrites dans la littérature [14].

2.2.3 Détermination de la solubilité

La solubilité a été déterminée en ajoutant progressivement des volumes croissants d'eau à environ 100 mg de la poudre d'*A. annua* à température ambiante, dans un bécher contenant 10 ml d'eau osmosée. Une agitation continue du mélange a été réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique (Velp Scientifica 275872) pendant 10 mn après chaque ajout d'eau. La solubilité de la poudre a été vérifiée visuellement. En cas de non solubilité de la poudre, l'essai a été poursuivi dans un bécher de 100 ml et a duré 24h à 96h. Le test a été répété 3 fois [15].

Le tableau ci-dessus donne sous le volume d'eau qui dissout complètement l'échantillon, la solubilité approximative de la poudre testée (Tableau I).

2.2.4 Détermination de l'humidité résiduelle

Un échantillon de 2 g (m) de la poudre d'*A. annua* a été placé dans une étuve (Memert, France) à 102°C pendant 2h et la masse obtenue, a été notée. Puis l'échantillon a été réintroduit dans l'étuve (102°C) et a été pesé toutes les heures jusqu'à ce que la différence de masse soit inférieure à 0,5 mg. La dernière masse constitue la masse finale (m'). Le taux d'humidité résiduelle (HR) a été déterminé par calcul selon la formule (1). Le test a été répété 3 fois [16].

$$HR \% = \frac{m - m'}{m} \times 100 \quad (1)$$

2.2.5 Détermination du pH

Une dispersion aqueuse de la poudre d'*A. annua* à 10% a été préparée et filtrée à l'aide de papier Hautman. Le pH du filtrat a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Prolabo, France) après étalonnage avec des solutions étalons acide et basique. L'essai a été répété 3 fois [16].

Tableau I : Différents types de solubilité selon l'OCDE

ml d'eau dissolvant 0,1 g	0,1	0,5	1	2	10	10	>
Solubilité approximative (g/l)	> 100 0	1000 à 200	200 à 100	100 à 50	50 à 10	10 à 1	< 10 0

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Matériel végétal

Cette étude a porté sur les feuilles et les tiges d'*Artemisia annua* (*Asteraceae*). La plante a été récoltée en Juin 2019

2.2.6 Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique de la poudre d'A. annua a été réalisée à l'aide d'une colonne de tamis (600 µm, 300 µm, 200 µm, 100 µm, 50 µm, fond) sous agitation pendant 5 mn. Les refus des différents tamis ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France) et des histogrammes des fréquences simples et cumulées de la taille des particules ont été réalisés afin de déterminer graphiquement la taille médiane (d_{50}) correspondant à la taille de 50% des particules. L'essai a été répété 3 fois [16].

2.2.7 Détermination de l'aptitude à l'écoulement

Un échantillon de 100 g de la poudre d'A. annua a été introduit dans un entonnoir normalisé dont l'orifice a été préalablement obturé avec l'index du doigt. Le temps d'écoulement de la poudre, a par la suite, été mesuré après l'ouverture de l'orifice de l'entonnoir et éventuellement la hauteur et le diamètre du cône formé. L'angle (α) du cône est déterminé par calcul selon la formule (2). L'essai a été répété 3 fois [16].

$$\tan(\alpha) = \frac{h}{r} \quad (2)$$

2.2.8 Détermination de l'aptitude au tassement

Un échantillon de 100 g de la poudre d'A. annua a été introduit dans une éprouvette graduée et tassé légèrement puis le volume (V_0) a été noté. Ensuite, 10 ; 500 et 1250 tassements ont été réalisés correspondant respectivement à V_{10} , V_{500} et V_{1250} . Si la différence entre V_{500} et V_{1250} est inférieure à 2 ml alors V_{1250} représente le volume tassé final. Dans le cas contraire, des tassements supplémentaires doivent être effectués jusqu'à ce que la différence entre V_{500} et le volume final (V_n) soit inférieure à 2 ml. Les valeurs obtenues ont permis de calculer les indices de Carr (IC) et de Hausner (IH) selon les formules (3) et (4). L'essai a été répété 3 fois [16].

$$IH = \frac{V_f}{V_0} \quad (3)$$

$$IC (\%) = \frac{V_0 - V_f}{V_0} \times 100 \quad (4)$$

2.2.9 Détermination du taux d'adhésivité

Cette étude a consisté à déterminer la quantité résiduelle de poudre d'A. annua qui reste fixée sur un verre de montre sec, après y avoir mis et renversé 5 g de la poudre à tester. Le verre de montre ayant été pesé avant et après le test à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). Le taux d'adhésivité (A) a été calculé en tenant compte de la quantité de poudre restée collée sur le verre

de montre, correspondant à la différence de la masse de poudre avant (m) et après le test (m') selon la formule (5) ci-dessous. L'essai a été répété 3 fois [17].

$$A \% = \frac{m - m'}{m} \times 100 \quad (5)$$

2.2.10 Détermination de la mouillabilité

Une prise d'essai de 2 g de poudre d'A. annua a été introduite dans un bécher de 250 ml et de l'eau osmosée a été ajoutée par fraction à l'aide d'une pipette afin de déterminer la quantité d'eau qui permet la dispersion totale de la poudre. L'opération a été répétée 3 fois [18].

2.3 Fabrication des gélules

La dose thérapeutique de la poudre d'A. annua chez l'adulte est de 1 g par jour pendant 5 jours [5]. L'écoulement de la poudre d'A. annua n'ayant pas donné de bons résultats, une granulation par voie humide avec l'empois d'amidon de maïs à 10% comme liant, a été effectuée afin d'améliorer les propriétés rhéologiques de la poudre pour in fine avoir un meilleur remplissage des capsules. Des essais de caractérisation ont également été effectués sur les granulés selon le même mode opératoire que les essais réalisés sur la poudre. Ensuite, le remplissage des capsules de taille n° 2, a été effectué par la méthode d'arasage sur une géluleuse manuelle. Le volume total de poudre à utiliser a été déterminé à l'aide de la table de remplissage des gélules [19].

2.4 Contrôles galéniques et biogaléniques

2.4.1 Examen macroscopique

Les caractéristiques macroscopiques des gélules ont été décrites. Il s'agit de l'aspect, de la coloration et le scellage des gélules [16].

2.4.2 Test d'uniformité de masse

20 gélules ont été prélevées au hasard et pesées individuellement à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). Puis elles ont été vidées et les capsules correspondant à chaque gélule, ont également été pesées. La différence des 2 masses, correspond à la masse de la poudre contenue dans chaque gélule. La moyenne (X) et les intervalles de confiance (IC et IC') ont été calculés selon les formules suivantes (6 et 7) :

$$IC' = X \pm 2PX \quad (6)$$

$$IC = X \pm PX \quad (7)$$

P étant l'écart limite et varie en fonction de la masse moyenne du contenu des gélules. L'essai a été répété 3 fois [16].

2.4.3 Temps de désagrégation

Ce test a porté sur 6 gélules prélevées au hasard et introduites individuellement dans les tubes de l'appareil à désagrégation (Pharmatest, France). Un disque a été placé dans chaque loge et le milieu de désagrégation utilisé est l'eau osmosée à 37°C. Le temps de désagrégation complète (TD) de chaque gélule a été noté. L'essai a été répété 3 fois [16].

2.5 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

2.5.1 Gamme d'étalonnage

Les flavonoïdes ont servi de marqueur dans cette étude. Aussi, une gamme d'étalonnage a-t-elle été réalisée en utilisant comme standard un flavonoïde de référence, la quercétine. Une solution mère (300 µg/ml) a été préparée par dissolution de 6 mg de quercétine dans 20 ml d'eau osmosée. Puis des solutions filles (0 à 300 µg/ml) ont été préparées. Un volume de 1 ml de chacune des solutions filles de quercétine, a été mélangé à 3 ml d'éthanol à 95% (v/v), 0,2 ml de chlorure d'aluminium 10% (v/v), 0,2 ml d'acétate de sodium 1M et 5,6 ml d'eau osmosée. L'ensemble a été laissé à incuber pendant 30 mn à l'obscurité. Les absorbances de chaque solution ont été mesurées par spectrophotométrie à 380 nm, correspondant à la longueur d'onde du pic maximum de la quercétine et ont permis de déterminer la droite d'étalonnage [20].

2.5.2 Dosage des flavonoïdes totaux dans la poudre

Dix échantillons de 500 mg de la poudre fine d'A. annua ont été prélevés au hasard et ont été macérés individuellement pendant 10 mn par agitation magnétique dans des béchers contenant 100 ml d'eau osmosée. Un volume de 1 ml du filtrat de chaque échantillon, a été préparé comme précédemment par ajout de 3 ml d'éthanol à 95% (v/v), 0,2 ml de chlorure d'aluminium 10% (v/v), 0,2 ml d'acétate de sodium 1M et 5,6 ml d'eau osmosée. L'ensemble a été laissé à incuber pendant 30 mn à l'obscurité. Les absorbances de chaque échantillon, ont été déterminées par spectrophotométrie à 380 nm et ont permis de déterminer par calcul, la teneur moyenne en quercétine de la poudre d'A. annua à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage [16,20].

2.5.2 Dosage des flavonoïdes totaux dans les gélules

Le contenu de 10 gélules prélevées au hasard, a été pesé individuellement et macéré pendant 10 mn par agitation magnétique dans des béchers contenant 50 ml d'eau osmosée. Un volume de 1 ml du filtrat de chaque échantillon, a été préparé comme précédemment et dosé par spectrophotométrie à 380 nm. Et la teneur en quercétine de chaque gélule a été déterminée par calcul [16,20].

3. RÉSULTATS

3.1 Caractéristiques pharmacotechniques

Les résultats des essais de caractérisations pharmacotechniques de la poudre et des granulés d'A. annua ont été consignés dans le Tableau II. La poudre

d'A. annua est de couleur vert-grisâtre, d'odeur forte caractéristique et de saveur amère (Fig. 1).



Figure 1 : Poudre de feuilles et de tiges d'Artemisia annua (Asteraceae)

La solubilité dans l'eau de la poudre et des granulés d'A. annua, réalisée selon la méthode ODCE, est très faible (< 1 g/l).

Tableau II : Paramètres pharmacotechniques de la poudre et des granulés d'A. annua

Paramètres	Poudre	Granulés
d₅₀ (µm)	< 50	600
IC (%)	12,5 ± 1,5	15,0 ± 1,3
IH	1,14 ± 0,2	1,18 ± 0,3
Solubilité (g/l)	< 1	< 1
HR (%)	12,8 ± 0,1	5,3 ± 0,2
pH	5,6 ± 0,1	5,7 ± 0,1

Les taux d'humidité résiduelle sont respectivement de 12,8 ± 0,1 % et de 5,3 ± 0,2 % pour la poudre et les granulés d'A. annua. Le pH de la poudre et des granulés en milieu aqueux à 10%, est de l'ordre de 5,6 ± 0,1 et 5,7 ± 0,1. Le test de comprimabilité réalisé par tassement, a donné des indices de Carr et de Hausner qui sont respectivement de 12,5 ± 1,5 et 1,14 ± 0,2 pour la poudre et de 15,0 ± 1,3 et 1,18 ± 1,3 pour les granulés (Tableau II). L'analyse granulométrique de la poudre par la méthode des tamis a donné un pic pour les particules de taille < 50 µm (49,6 %) et donc un diamètre médian (d₅₀ < 50 µm). Quant aux granulés, le pic se situe à 600 µm (63,9 %) avec un diamètre médian (d₅₀) de 600 µm. Les gélules obtenues sont lisses, brillantes, propres, non déformées et de couleur ivoire. La masse des granulés contenus dans les gélules est uniforme et est de 125,7 mg en moyenne. Le temps de désagrégation des gélules est de 3,5 ± 1,4 mn en moyenne.

Tableau III : Paramètres pharmacotechniques des gélules et de la poudre d'A. annua

Paramètres	Gélules	Poudre
Masse (mg)	125,7	500
IC (mg)	113,2 - 138,3	
TD (mn)	3,5 ± 1,4	
Teneur (mg)	1,6 ± 0,1	8,8 ± 1,2
Teneur (%)	1,0 ± 0,0	1,8 ± 0,2
Teneur (mg/g)	9,5 ± 0,0	17,5 ± 2,4
Gélule / Poudre (%)	54,9 ± 0,2	

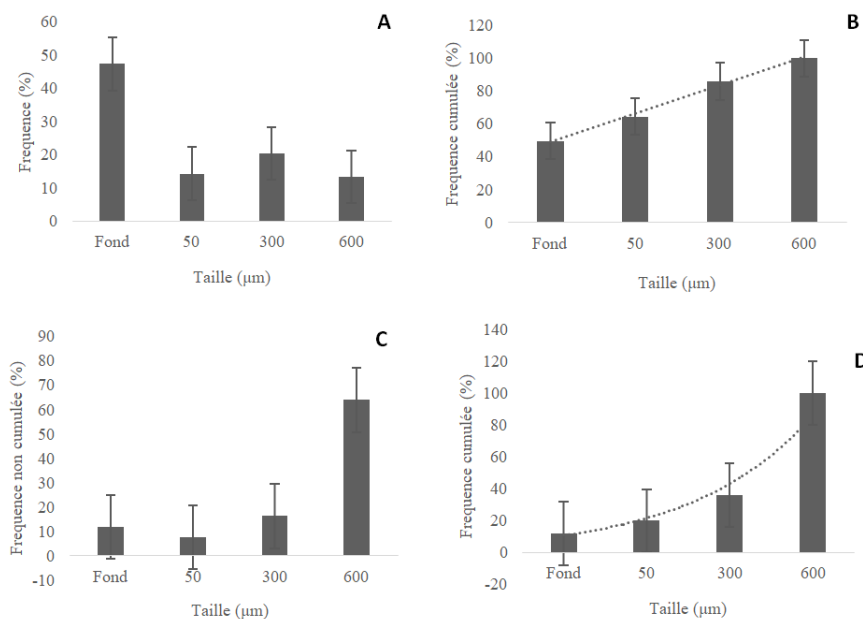


Figure 2: Répartition granulométrique déterminée à l'aide d'une colonne de tamis de la poudre d'Artemisia annua : fréquence non cumulée des tailles (A), fréquence cumulée des tailles (B) et des granulés d'Artemisia annua : fréquence non cumulée des tailles (C), fréquence cumulée des tailles (D).

3.2 Caractéristiques phytochimiques et teneur en flavonoïdes de la poudre et des gélules

Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoïdes, de terpènes, de stérols et de polyphénols dans la poudre et dans les granulés d'*A. annua* ayant servi à remplir les gélules. Cependant, les tests réalisés n'ont pu montrer la présence de tanins ni de saponosides (Tableau IV).

Tableau IV : Caractéristiques phytochimiques de la poudre et des granulés d'*A. annua*

Substances	Alcaloïdes	Tanins	Flavonoïdes	Terpènes	Stérols	Polyphénols
Poudre	+	+	+	+	+	+
Granulés	+	+	+	+	+	+

+ : Présence, - : Absence

Les teneurs en flavonoïdes de la poudre et des gélules d'*A. annua*, ont été déterminées par calcul à partir de la droite d'étalonnage dont l'équation est $y = 4,3714x - 0,0057$ avec un coefficient de régression $R^2 = 0,99$ (Fig. 3). Ce qui a permis d'obtenir une teneur moyenne de $8,8 \pm 1,2$ mg et $1,6 \pm 0,1$ mg équivalent de quercétine respectivement pour la poudre et les gélules. Ce qui correspond à des proportions de $1,0 \pm 0,0$ % et $1,8 \pm 0,2$ % de quercétine rapportées à la masse des gélules et de la poudre d'*A. annua*. Enfin la teneur en quercétine des gélules équivaut à $54,9 \pm 0,4$ % de celle contenue dans la poudre d'*A. annua* ayant servi à la fabrication des gélules.

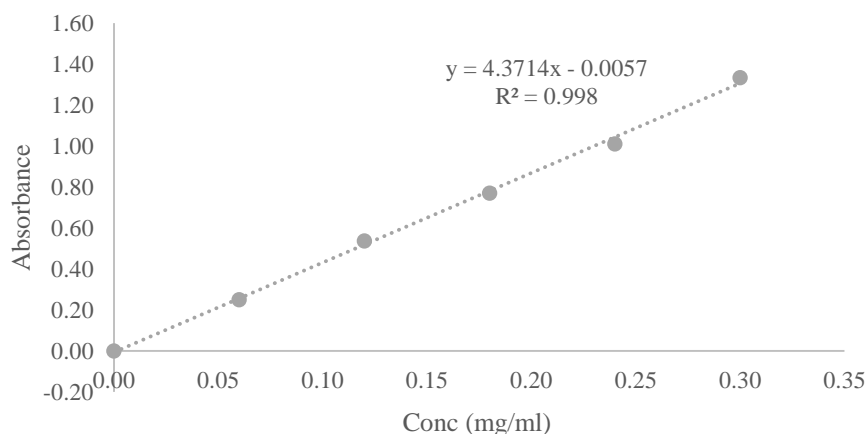


Figure 3 : Droite d'étalonnage de la quercétine réalisée par spectrophotométrie à 380 nm

4. DISCUSSION

4.1 Caractéristiques pharmacotechniques de la poudre et des granulés

Les essais réalisés, ont permis de déterminer les principales caractéristiques pharmacotechniques de la poudre et les granulés d'*A. annua*. Sur le plan macroscopique, la poudre se présente sous forme de fine poudre, de coloration vert-grisâtre, d'odeur forte caractéristique et de saveur amère. La finesse de cette poudre a été confirmée par l'analyse granulométrique des particules avec un diamètre médian (d_{50}) inférieur à 50 μm . L'amertume de la poudre a été confirmée par les travaux de Merlin et al. [21]. Ce goût désagréable influence très souvent négativement l'observance du traitement par les tisanes notamment chez les enfants. L'ajout d'un édulcorant est parfois nécessaire pour faciliter l'administration des tisanes [21]. Par ailleurs, la formulation de comprimés ou de gélules pourraient contribuer à améliorer sensiblement cet inconvénient. Le pH de la poudre et des granulés en milieu aqueux, est légèrement acide ($5,6 \pm 0,1$ et $5,7 \pm 0,1$). Ce qui pourrait être compatible avec le pH du tube digestif et éviter d'éventuelles irritations gastriques. Quant à la solubilité de la poudre et des granulés d'*A. annua* dans l'eau, réalisée selon la méthode ODCE, elle est très faible ($< 1 \text{ g/l}$). Mais cela n'empêche nullement l'extraction par infusion des substances actives de la plante. En effet, de nombreux travaux ont montré une bonne efficacité antipaludique de la tisane comparativement à l'artémisinine ou aux ACT [4–6]. Le taux d'adhésivité est également très faible ($0,61 \pm 0,1 \%$) avec un taux de mouillabilité de $2,3 \pm 0,6 \text{ mL}$. Cette propriété militerait en faveur d'une faible adhésion de la poudre d'*A. annua* aux parois des appareils utilisés [18,22,23]. Le taux d'humidité résiduelle des granulés est très faible ($5,3 \pm 0,2 \%$), comparativement à celui de la poudre qui semble être un peu plus élevé ($12,8 \pm 0,1 \%$). Cette teneur en eau est conforme à la littérature qui prévoit un taux d'humidité résiduelle de 11,4 % pour la poudre d'*A. annua*. La faible teneur en eau des granulés laisse présager d'une bonne conservation des gélules à la température ambiante. Par ailleurs, ce faible taux d'humidité pourrait éviter les phénomènes d'agglomération des granulés au sein des gélules et réduirait également d'éventuelles réactions enzymatiques ainsi que le développement des microorganismes [24]. Pour évaluer les propriétés rhéologiques de la poudre et des granulés d'*A. annua*, le test de comprimabilité sur la poudre a permis de déterminer les indices de Carr et de Hausner qui sont respectivement de $26,3 \pm 1,2$ et $1,44 \pm 0,11$. Ces résultats montrent bien que l'aptitude à l'écoulement de la poudre est médiocre [16]. Il a fallu donc procéder à une granulation par voie humide de la poudre pour améliorer ses propriétés rhéologiques de sorte à ce que le remplissage des gélules se fasse correctement avec une bonne uniformité de la masse des gélules et partant, de la teneur en substances actives [25,26]. Ainsi, les granulés obtenus ont-ils effectivement présenté des indices de Carr et de Hausner respectifs de

$13,1 \pm 1,3$ et $1,16 \pm 0,12$, caractéristiques d'un bon écoulement des granulés [27,28]. L'analyse granulométrique de la poudre d'*A. annua* a mis en évidence un diamètre médian $d_{50} < 50 \mu\text{m}$. La finesse de cette poudre pourrait expliquer sa forte cohésivité objectivée par la mauvaise aptitude à l'écoulement [29,30]. Quant aux granulés, le diamètre médian (d_{50}) est de 600 μm environs. C'est donc une poudre grossière, ce qui explique ses bonnes propriétés rhéologiques [31,32].

4.2 Caractéristiques pharmacotechniques des gélules

Les gélules obtenues ont présenté de bonnes caractéristiques macroscopiques. La répartition de la masse des granulés contenus dans les gélules, est également uniforme. Ces résultats corroborent ceux obtenus lors du test de compressibilité des granulés et qui ont montré un bon écoulement des granulés [31,33]. La désagrégation des gélules s'est également déroulée de façon rapide ($3,5 \pm 1,4 \text{ mn}$). Ce qui laisse présager une libération relativement rapide des granulés contenus dans les gélules, dans le tube digestif. Toutefois, la faible solubilité de ces granulés ($< 1 \text{ g/l}$) pourrait ralentir l'absorption plasmatique des substances actives de la plante [34,35]. L'étude de la cinétique de dissolution d'un traceur, aurait permis de confirmer cette hypothèse. Dans tous les cas, la formulation des feuilles d'*A. annua* sous la forme gélule, présente de nombreux avantages aussi bien pour les patients que pour le produit lui-même. En effet, pour un traitement avec la tisane des feuilles d'*A. annua*, la posologie recommandée pour un adulte, est de boire 1 L de tisane (5 g/l) par jour pendant 7 jours [6]. Mais, il s'avère que 1 L de tisane ne soit pas facile à ingurgiter en une journée, ce qui pourrait influencer négativement l'observance thérapeutique et augmenter le taux de rechutes des patients [21,36]. L'administration des gélules, non seulement masque l'amertume de la poudre d'*A. annua*, mais également diminue le volume d'eau à avaler lors des prises et de ce fait, pourrait contribuer à améliorer l'observance thérapeutique [37,38]. En outre, les gélules sont moins encombrantes que la tisane et peuvent être facilement être emportées. Il est également admis que la durée de conservation de l'artémisinine dans la tisane est brève, raison pour laquelle il est préconisé généralement d'utiliser la tisane fraîchement préparée et dont la durée de conservation n'excède pas 24h [21,36]. Par contre, la teneur en artémisinine dans la poudre, présente une meilleure stabilité chimique [12]. Ce résultat suscite donc l'intérêt de poursuivre des études de stabilité des gélules sur une durée de 3, 6 mois, voire 1, 2 et 3 ans en suivant non seulement la teneur en artémisinine et en flavonoïdes [39].

4.3 Caractéristiques phytochimiques et teneur en flavonoïdes de la poudre et des gélules

Les tests phytochimiques ont mis en évidence la présence d'alcaloïdes, de tanins, de flavonoïdes, de terpènes, de stérols et de polyphénols dans la poudre et dans les granulés d'*A. annua*. Les travaux d'Ogwang

(2011) sur la poudre de feuilles sèches d'*A. annua* ont également révélé la présence d'alcaloïdes, de coumarines, de flavonoïdes, de stérols et de triterpènes, de tanins, d'huiles volatiles, d'acides gras supérieurs et de composés réducteurs [40]. Les substances responsables de l'activité antipaludique d'*A. annua* sont principalement l'artémisinine et les flavonoïdes qui agissent en synergie [41]. En effet, les flavonoïdes présents dans les feuilles d'*A. annua*, favoriseraient l'absorption intestinale de l'artémisinine en inhibant les enzymes du CYP450, responsables de la métabolisation de l'artémisinine. Ils auraient également des propriétés immunomodulatrices bénéfiques chez les sujets atteints de maladies parasitaires [41,42]. Aussi, dans le cadre de cette étude, les flavonoïdes ont-ils été choisis comme traceur. La teneur en quercétine de la poudre d'*A. annua* et des gélules ont été déterminées par la méthode de spectrophotométrie UV-visible à 380 nm. La poudre d'*A. annua*, utilisée comme matière première pour la fabrication des gélules, a présenté une teneur de $8,8 \pm 1,2$ mg équivalent de quercétine, ce qui correspond à $1,8 \pm 0,2$ % de quercétine rapportée à la masse de la poudre (500 mg) soit $17,5 \pm 2,4$ mg/g. Ces résultats sont proches de ceux Nsengiyumva (2017) qui a obtenu un taux de 18.32 mg/g de flavonoïdes totaux dans la poudre de feuille d'*A. annua* [5]. Par contre d'autres travaux ont obtenu des résultats différents notamment, ceux de Ogwang (2011) qui ont mis en évidence une teneur en flavonoïdes variant de 9 à 11% [40]. Ainsi que de ceux de Weathers (2014) qui a obtenu une teneur en flavonoïdes totaux de 2,97 mg/g dans les feuilles séchées de la variété SAM d'*Artemisia annua* (variété améliorée) [43]. Le même auteur dans une seconde étude réalisée la même année, a obtenu une teneur en flavonoïdes de 5,04 mg/g dans les feuilles séchées de la même variété [11]. Ces différences pourraient être dues à plusieurs facteurs, notamment l'origine des variétés *A. annua* utilisées dans ces études, les conditions de croissance ainsi que les variations saisonnières et géographiques de ces plantes [24,44]. Quant aux gélules, la teneur moyenne en flavonoïdes obtenue est de $1,6 \pm 0,1$ mg, correspondant à $1,0 \pm 0,0$ % de la masse des gélules soit $9,5 \pm 0,6$ mg/g. La teneur en flavonoïdes des gélules équivaut à la moitié environ de celle contenue dans la poudre d'*A. annua* ($54,9 \pm 0,4$ %). La dose thérapeutique étant de 1 g de poudre d'*A. annua* par jour pendant 5 à 6 jours, il faudrait environ 18 mg équivalent de quercétine soit 12 gélules par jour et 72 gélules pour un traitement complet du paludisme. Ce nombre paraît élevé et pourrait être réduit en utilisant des capsules de plus grande capacité, de taille variant de N°00 à N°1 [45].

5. CONCLUSION

Le paludisme est la principale cause de maladie dans les régions tropicales et les effets de la maladie sont encore plus aggravés par les conditions de vie extrêmement difficiles de certaines populations pauvres. Le traitement par les feuilles et les tiges d'*A. annua* pourrait être une bonne alternative aux thérapies modernes utilisées et qui connaissent actuellement de nombreux cas de résistance. Aussi la mise au point de ces gélules de qualité

pharmaceutique conforme à la Pharmacopée 9^e éd, pourrait contribuer à une meilleure prise en charge des patients et à une meilleure conservation du médicament. A cet, des études complémentaires de stabilité et de dosage de l'artémisinine devraient être envisagées.

RÉFÉRENCES

- [1] Organisation mondiale de la santé, World malaria report 2018, 2018.
- [2] OMS | Traitement du paludisme. www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/fr/
- [3] M.A. Elfawal, M.J. Towler, N.G. Reich, P.J. Weathers, S.M. Rich, Dried whole-plant *Artemisia annua* slows evolution of malaria drug resistance and overcomes resistance to artemisinin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112 (2015) 821–826.
- [4] C. Nsanzabana, Resistance to artemisinin combination therapies (ACTs): do not forget the partner drug!, *Trop. Med. Infect. Dis.* 4 (2019) 26.
- [5] N.B. Daddy, L.M. Kalisya, P.G. Bagire, R.L. Watt, M.J. Towler, P.J. Weathers, *Artemisia annua* dried leaf tablets treated malaria resistant to ACT and iv artesunate, *Phytomedicine.* 32 (2017) 37–40.
- [6] J.O. Suberu, A.P. Gorka, L. Jacobs, P.D. Roepe, N. Sullivan, G.C. Barker, A.A. Lapkin, Anti-Plasmodial Polyvalent Interactions in *Artemisia annua* L. Aqueous Extract – Possible Synergistic and Resistance Mechanisms, *PLOS ONE.* 8 (2013) e80790. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080790>.
- [7] T. Aftab, M. Naeem, M. Idrees, M.M.A. Khan, L. Varshney, Cumulative role of irradiated sodium alginate and nitrogen fertilizer on growth, biochemical processes and artemisinin production in *Artemisia annua*, *Ind. Crops Prod.* 50 (2013) 874–881.
- [8] M. Ali, B.H. Abbasi, Production of commercially important secondary metabolites and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L., *Ind. Crops Prod.* 49 (2013) 400–406.
- [9] M. Onimus, S. Carteron, P. Lutgen, The surprising efficiency of *Artemisia annua* powder capsules, *Med. Aromat Plants.* 2 (2013) 2167–0412.
- [10] Y.-D. Wan, Q.-Z. Zang, J.-S. Wang, Studies on the antimalarial action of gelatin capsule of *Artemisia annua*, *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi.* 10 (1992) 290–294.
- [11] P.J. Weathers, M.J. Towler, Changes in key constituents of clonally propagated *Artemisia annua* L. during preparation of compressed leaf tablets for possible therapeutic use, *Ind. Crops Prod.* 62 (2014) 173–178.
- [12] K. R ath, K. Taxis, G. Walz, C.H. Gleiter, S.-M. Li, L. Heide, Pharmacokinetic study of artemisinin after oral intake of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (annual wormwood), *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70 (2004) 128–132.
- [13] S.P. Agarwal, A. Ali, Y. Dua, S. Ahuja, Determination of artemisinin in bulk and pharmaceutical dosage forms using HPTLC, *Indian J. Pharm. Sci.* 71 (2009) 98.
- [14] G.D. Brown, The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao), *Molecules.* 15 (2010) 7603–7698.
- [15] Test No. 105: Water Solubility, (n.d.). https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-105-water-solubility_9789264069589-en.
- [16] European Pharmacopoeia 9th Edition | EDQM - European Directorate for the Quality of Medicines, (n.d.).

- <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-9th-edition>.
- [17] P.G.C. Petean, M.L. Aguiar, Determining the adhesion force between particles and rough surfaces, *Powder Technol.* 274 (2015) 67–76. doi.org/10.1016/j.powtec.2014.12.047.
- [18] A. Alghunaim, S. Kirdponpattara, B.Z. Newby, Techniques for determining contact angle and wettability of powders, *Powder Technol.* 287 (2016) 201–215. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.10.002>.
- [19] S. Bhaskaran, G.C. Pradeep, P.K. Lakshmi, Formulation and evaluation of Diphenhydramine hydrochloride and Ibuprofen soft gelatin capsules. <Http://Www.Japsonline.Com/Counter.Php?Aid=110>. (2011).
- [20] C.-C. Chang, M.-H. Yang, H.-M. Wen, J.-C. Chern, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J. Food Drug Anal.* 10 (2002).
- [21] M.L. Willcox, S. Burton, R. Oyweka, R. Namyalo, S. Challand, K. Lindsey, Evaluation and pharmacovigilance of projects promoting cultivation and local use of Artemisia annua for malaria, *Malar. J.* 10 (2011) 84.
- [22] E. Agouri, R. Laputte, J. Rideau, Process for chemical modification of polyolefins to improve their wettability, Google Patents, 1978. www.google.com/patents/US4080405.
- [23] M. Fuji, T. Takei, T. Watanabe, M. Chikazawa, Wettability of fine silica powder surfaces modified with several normal alcohols, *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 154 (1999) 13–24.
- [24] S. Iqbal, U. Younas, K.W. Chan, M. Zia-Ul-Haq, M. Ismail, Chemical Composition of Artemisia annua L. Leaves and Antioxidant Potential of Extracts as a Function of Extraction Solvents, *Molecules.* 17 (2012) 6020–6032. <https://doi.org/10.3390/molecules17056020>.
- [25] A. Schüssele, A. Bauer-Brandl, Note on the measurement of flowability according to the European Pharmacopoeia, *Int. J. Pharm.* 257 (2003) 301–304.
- [26] K. Thalberg, D. Lindholm, A. Axelsson, Comparison of different flowability tests for powders for inhalation, *Powder Technol.* 146 (2004) 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.08.003>.
- [27] A. Peinado, J. Hammond, A. Scott, Development, validation and transfer of a near infrared method to determine in-line the end point of a fluidised drying process for commercial production batches of an approved oral solid dose pharmaceutical product, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 54 (2011) 13–20.
- [28] W.-J. Sun, H. Chen, A. Aburub, C.C. Sun, A platform direct compression formulation for low dose sustained-release tablets enabled by a dual particle engineering approach, *Powder Technol.* 342 (2019) 856–863.
- [29] P. Begat, D.A.V. Morton, J.N. Staniforth, R. Price, The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations I: Direct Quantification by Atomic Force Microscopy, *Pharm. Res.* 21 (2004) 1591–1597. doi.org/10.1023/B:PHAM.0000041453.24419.8a.
- [30] Fluidization of cohesive powders - ScienceDirect, www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003259108480030.
- [31] R. Agrawal, Y. Naveen, Pharmaceutical processing—A review on wet granulation technology, *Int. J. Pharm. Front. Res.* 1 (2011) 65–83.
- [32] The effect of dry granulation on flow behaviour of pharmaceutical powders during die filling | Request PDF, ResearchGate. (n.d.). <http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2017.08.064>.
- [33] P. Arnaud, D. Brossard, J.C. Chaumeil, Effect of the granulation process on nitrofurantoin granule characteristics, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24 (1998) 57–66.
- [34] M.R. Desrosiers, P.J. Weathers, Effect of leaf digestion and artemisinin solubility for use in oral consumption of dried Artemisia annua leaves to treat malaria, *J. Ethnopharmacol.* 190 (2016) 313–318.
- [35] M.E. Mustafa, A.O. Nur, Z.A. Osman, S.A. Ahmed, Influence of drug solubility and polymers supply source on the physical performance of matrix tablets, *Int J Pharm Pharm Sci.* 6 (2014) 308–12.
- [36] J. Munyangi, L. Cornet-Vernet, M. Idumbo, C. Lu, P. Lutgen, C. Perronne, N. Ngombe, J. Bianga, B. Mupenda, P. Lalukala, Artemisia annua and Artemisia afra tea infusions vs. artesunate-amodiaquine (ASAQ) in treating Plasmodium falciparum malaria in a large scale, double blind, randomized clinical trial, *Phytomedicine.* 57 (2019) 49–56.
- [37] W. Faisal, F. Farag, A.A. Abdellatif, A. Abbas, Taste masking approaches for medicines, *Curr. Drug Deliv.* 15 (2018) 167–185.
- [38] S.F. Barakh Ali, S. Dharani, H. Afrooz, M.A. Khan, E.M. Mohamed, K. Kohli, Z. Rahman, Application of salt engineering to reduce/mask bitter taste of clindamycin, *Drug Dev. Ind. Pharm.* (2019) 1–23.
- [39] M. Blessy, R.D. Patel, P.N. Prajapati, Y.K. Agrawal, Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review, *J. Pharm. Anal.* 4 (2014) 159–165.
- [40] P.E. Ogwang, J.O. Ogwal, S. Kasasa, F. Ejobi, D. Kabasa, C. Obua, Use of Artemisia annua L. infusion for malaria prevention: mode of action and benefits in a Ugandan community, *Br. J. Pharm. Res.* 1 (2011) 124.
- [41] J.F. Ferreira, D.L. Luthria, T. Sasaki, A. Heyerick, Flavonoids from Artemisia annua L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer, *Molecules.* 15 (2010) 3135–3170.
- [42] A.R. Bilia, P.M. de Malgalhaes, M.C. Bergonzi, F.F. Vincieri, Simultaneous analysis of artemisinin and flavonoids of several extracts of Artemisia annua L. obtained from a commercial sample and a selected cultivar, *Phytomedicine.* 13 (2006) 487–493.
- [43] P.J. Weathers, M.J. Towler, The flavonoids casticin and artemetin are poorly extracted and are unstable in an Artemisia annua tea infusion, *Planta Med.* 78 (2012) 1024–1026.
- [44] U. Soni, S. Brar, V.K. Gauttam, Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants, *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 6 (2015) 3654–3662.
- [45] C. van den Berg, C.P.M. Roelands, P. Bussmann, E.L.V. Goetheer, D. Verdoes, L.A.M. van der Wielen, Preparation and analysis of high capacity polysulfone capsules, *React. Funct. Polym.* 69 (2009) 766–770. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2009.06.008>.