

FORMULATION DE COMPRIMÉS À BASE DE FEUILLES ET DE TIGES D'ARTEMISIA ANNUA.

Auteurs

Alain N'Guessan¹,
Rosine D.K. Chougouo-
Nkuitchou^{1,2},
Sandrine A. Any-Grah¹,
Ismaël L. Dally¹,
Awa Tuo¹,
Arthur G.J Lia¹,
Clémence N'guessan¹,
Armand A. Koffi¹

Services

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.

Correspondance

Alain N'Guessan
Mail : al.ngues@gmail.
com,

RÉSUMÉ

Ce travail a pour objectif de mettre au point des comprimés à base de la poudre de feuilles et de tiges d'*Artemisia annua* afin d'améliorer la prise en charge du paludisme en Afrique. Cette étude a consisté à évaluer les paramètres physicochimiques de la poudre et des granulés d'*A. annua*, obtenus par granulation humide. Des comprimés dosés à 500 mg d'*A. annua* ont ensuite été formulés et contrôlés selon la pharmacopée européenne 9^e éd. Les essais ont mis en évidence une poudre de saveur amère et de faible solubilité aqueuse. L'analyse granulométrique a donné un diamètre médian (d_{50}) inférieur à 50 μm pour la poudre et 500 μm pour les granulés. Les comprimés obtenus ont présenté des paramètres conformes à la Pharmacopée Européenne 9^e éd. Les teneurs en flavonoïdes totaux de la poudre et des comprimés sont respectivement de $8,8 \pm 1,2$ et de $7,6 \pm 0,3$ mg équivalent de quercétine. Ce travail a permis de mettre au point des comprimés à base de la poudre de feuilles et de tiges d'*Artemisia annua*. Cette forme galénique pourrait présenter d'énormes avantages aussi bien pour la qualité de la prise en charge des patients.

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

Artemisia annua tablet formulation.

SUMMARY

The aim of this work was to develop tablets based on powdered leaves and stems of Artemisia annua in order to improve the management of malaria in Africa. This study consisted in evaluating the physicochemical parameters of the powder and granules obtained by wet granulation. Tablets containing 500 mg of A. annua were then formulated and checked according to the European Pharmacopoeia 9th ed. The tests revealed a bitter flavor powder with low aqueous solubility. The particle size analysis gave a median diameter (d_{50}) of less than 50 μm for the powder and 500 μm for the granules. The tablets obtained presented parameters in accordance with the

*European Pharmacopoeia 9th Ed. The total flavonoid contents of the powder and the tablets are 8.8 ± 1.2 and 7.6 ± 0.3 mg of quercetin equivalent, respectively. We developed in this work, tablets based on powdered leaves and stems of *Artemisia annua*. This dosage form could have enormous advantages as well for the quality of patient care.*

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

1. INTRODUCTION

Le paludisme est la pathologie parasitaire la plus répandue dans le monde avec environ 230 millions de personnes en 2018 et près de 400.000 décès. L'Afrique demeure le continent le plus touché avec environ 213 millions de malades et 380.000 décès [Organization, 2019]. Les traitements recommandés par l'OMS sont les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (CTA) [Anon, n.d.]. Cependant, ces CTA font l'objet de plus en plus de résistances thérapeutiques vis-à-vis du Plasmodium [Nsanzabana, 2019; Suberu *et al.*, 2013b). L'alternative proposée est l'utilisation de tisanes obtenues par infusion aqueuse des parties aériennes d'*Artemisia annua* (Asteraceae), qui a montré de bons résultats dans des cas de résistance aux CTA [Elfawal *et al.*, 2015; Daddy *et al.*, 2017]. Toutefois, les tisanes d'*A. annua* ont présenté quelques inconvénients quant à leur instabilité en artémisinine et à leur goût désagréable [Räth *et al.*, 2004; Agarwal *et al.*, 2009]. Pour pallier à ces défauts, la réflexion est de plus en plus tournée vers la formulation de formes sèches orales à partir de la poudre des parties aériennes de la plante notamment des gélules et des comprimés. En effet, les travaux de Weather [2014] ont mis en évidence que des comprimés obtenus par compression directe de la poudre de feuilles séchées d'*A. annua*, avaient une bonne efficacité clinique sur des patients résistants aux CTA par voie orale et à l'artésunate par voie intraveineuse [Weathers & Towler, 2014; Daddy *et al.*, 2017]. L'analyse de ces comprimés a révélé la présence de plusieurs substances telles que l'artémisinine, l'arteannuin B, l'acide artémisinique, l'acide chlorogénique, la scopolétine, la chrysoplénétine et la quercétinine à des quantités plus stables et plus élevées que celles de la poudre de feuilles séchées et de la tisane [Weathers & Towler, 2014]. Ces résultats encourageants ont motivé ce travail avec pour objectif de mettre au point une formulation de comprimés à base de la poudre de feuilles et de tiges d'*A. annua* par la méthode de granulation humide afin d'améliorer la prise en charge du paludisme en Afrique.

2. METHODES

2.1 Sélection du matériel végétal

Cette étude a porté sur les feuilles et les tiges d'*Artemisia annua* (Asteraceae). La plante a été récoltée en Juin 2019 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 planting, 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 [Brown, 2010].

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 min 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 [Kishi & Hashimoto, 1989]. Le Tableau I donne la solubilité approximative en fonction du volume d'eau qui dissout complètement l'échantillon.

Tableau I : Différents types de solubilité selon l'OCDE.

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

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. L'échantillon a ensuite 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 a constitué 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 [Clavaud *et al.*, 2016].

$$\text{HR \%} = \frac{m - m'}{m} \times 100$$

(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 [Takács-Novák & Völgyi, 2004].

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 min. 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 [Pérez *et al.*, 2006] and their subsequent mathematical treatment and graphical expression (SeDeM Diagram).

2.2.7 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 (2) et (3). L'essai a été répété 3 fois [Bacher *et al.*, 2008].

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

(2)

$$IH = \frac{V_f}{V_0}$$

(3)

2.2.8 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 (4) ci-dessous. L'essai a été répété 3 fois [Petean & Aguiar, 2015].

$$A \% = \frac{m - m'}{m} \times 100$$

(4)

2.2.9 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. L'eau osmosée a ensuite 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 [Alghunaim, Kirdponpattara & Newby, 2016] especially the contact angle that a liquid would form on powders. The sessile drop, Wilhelmy plate and liquid penetration methods are then briefly compared, especially on the advantages and disadvantages of these techniques. The later part of the review summarizes some experimental details in determining wettability of powders utilizing liquid penetration into a packed column or the Washburn capillary rise (WCR).

2.3 Fabrication des comprimés

La dose thérapeutique de la poudre d'*A. annua* chez l'adulte est de 1 g par jour pendant 5 jours [Daddy *et al.*, 2017]. L'écoulement de la poudre d'*A. annua* n'ayant pas donné de bons résultats, une granulation par voie humide avec la gomme arabique (10 %, m/m) comme liant, a été effectuée afin d'améliorer les propriétés rhéologiques de la poudre en vue d'avoir un meilleur remplissage de la chambre de compression. Des essais de caractérisation ont été effectués sur les granulés selon le même mode opératoire que les essais réalisés sur la poudre. La compression des granulés a été réalisée à l'aide d'une presse alternative (Frogerais, France) après ajout de stéarate de magnésium (1%, m/m) et du talc (1%, m/m) utilisés comme lubrifiants.

2.4 Contrôles galéniques et biogaléniques

2.4.1 Examen macroscopique et organoleptique

Les caractéristiques macroscopiques et organoleptiques des comprimés obtenus ont été décrites. Il s'agit de l'aspect, l'homogénéité de la coloration, le goût et l'odeur des comprimés. Les dimensions des comprimés telles que la longueur et l'épaisseur ont également été déterminées à l'aide d'un pied à coulisse [Wang *et al.*, 2016].

2.4.2 Test d'uniformité de masse

20 comprimés ont été prélevés au hasard et pesés individuellement à l'aide d'une balance de précision (Sartorius, France). La moyenne (X) et les intervalles de confiance (IC et IC') ont été calculés selon les formules suivantes (5 et 6) :

$$IC = X \pm PX$$

(5)

$$IC' = X \pm 2PX$$

(6)

P étant l'écart limite et varie en fonction de la masse moyenne du contenu des gélules. L'essai a été répété 3 fois [De Spiegeleer *et al.*, 2005].

2.4.3 Temps de désagrégation

Ce test a porté sur 6 comprimés prélevés au hasard et introduits individuellement dans les tubes de l'appareil à désagrégation [Pharmatest, France). Un disque a été placé sur chacun des comprimés et le milieu de désagrégation utilisé est l'eau osmosée à 37°C. Le temps de désagrégation complète de chaque comprimé a été noté. L'essai a été répété 3 fois [Chowhan, 1979).

2.4.4 Test de friabilité

Un échantillon de comprimés de masse totale avoisinant 6,5 g a été prélevé au hasard et placé dans un friabilisateur (Erweka, France) tournant à 25 tr/min pendant 4 min. Les comprimés ayant été pesés ensemble avant (m) et après (m') le test. L'indice de friabilité (I) déterminé selon la formule ci-dessous (7) doit être inférieur à 1%. L'essai a été répété 3 fois [Osei-Yeboah & Sun, 2015) European Pharmacopeia (Pharm. Eur..)

$$I = \frac{m-m'}{m} \times 100 \quad (7)$$

2.4.5 Test de la dureté

10 comprimés ont été prélevés au hasard et placés individuellement entre les deux mâchoires d'un duromètre (Schleuniger 2E, Allemagne) qui sous l'effet d'une pression optimale, ont brisé les comprimés selon leur résistance. La moyenne des duretés (D_m), les valeurs minimale (D_{\min}) et maximale (D_{\max}) ont été déterminées. L'essai a été répété 3 fois [Blanco & Alcalá, 2006).

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 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a été préparée par dissolution de 6 mg de quercétine dans 20 ml d'eau osmosée. Puis des solutions filles (0 à 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 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 incubé pendant 30 min à l'obscurité. Les absorbances de chaque solution ont été mesurées par spectrophotométrie à 298 nm (Fig. 3), correspondant à la longueur d'onde du pic maximum de la quercétine et ont permis de déterminer la droite d'étalonnage [Chang *et al.*, 2002).

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 min 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 incubé pendant 30 min à l'obscurité. Les absorbances de

chaque échantillon ont été déterminées par spectrophotométrie, à 298 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 [Chang *et al.*, 2002].

2.5.3 Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux des comprimés

Un échantillon de 10 comprimés a été prélevé au hasard, et chaque comprimé a été pesé, pulvérisé au mortier, et macéré individuellement pendant 10 min, par agitation magnétique, dans un bécher 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. La teneur (% m/m) en quercétine de chaque comprimé a été déterminée par calcul, ainsi que la teneur de la poudre utilisée comme matière première pour la fabrication des comprimés. Ce qui a permis de calculer la valeur d'acceptation (VA) selon la formule de l'équation (8) en tenant compte de la valeur de référence (M), de la moyenne des teneurs en pourcentage (X), de la constante d'acceptabilité (k) et de l'écart-type des teneurs (s). La VA doit être inférieure à 15 pour valider si la répartition de la teneur en quercétine est uniforme dans les comprimés. Le test a été réalisé 3 fois [Chang *et al.*, 2002].

$$VA = | M - X | + ks$$

(8)

3. RESULTATS

3.1 Caractéristiques physicochimiques

Les résultats des essais de caractérisations physicochimiques de la poudre et des granulés d'*A. annua* ont été consignés dans le Tableau II. La poudre 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). Les taux d'humidité résiduelle sont respectivement de $12,5 \pm 0,3\%$ et de $5,5 \pm 0,7\%$ 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 $5,6 \pm 0,1$ et $5,7 \pm 0,1$. Le test de comprimabilité réalisé par tassement, a donné des indices de Carr et de Hausner

qui sont respectivement de $27,3 \pm 0,9$ et $1,4 \pm 0,5$ pour la poudre et de $14,2 \pm 0,3$ et $1,2 \pm 0,7$ pour les granulés (Tableau II).

Tableau II : Paramètres pharmacotechniques de la poudre et des granulés d'*Artemisia annua*

Paramètres	Poudre	Granulés
d_{50} (μm)	< 50	500
IC (%)	$27,3 \pm 0,9$	$14,2 \pm 0,3$
IH	$1,4 \pm 0,5$	$1,2 \pm 0,7$
Solubilité (g/l)	< 1	< 1
HR (%)	$12,5 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,7$
pH	$5,6 \pm 0,1$	$5,7 \pm 0,1$

L'analyse granulométrique de la poudre par la méthode des tamis a donné un pic pour les particules de taille < 50 μm (52,3 %) avec un diamètre médian (d_{50} < 50 μm). Quant aux granulés, le pic se situe à 500 μm (69,4 %) avec un diamètre médian (d_{50}) de 500 μm .

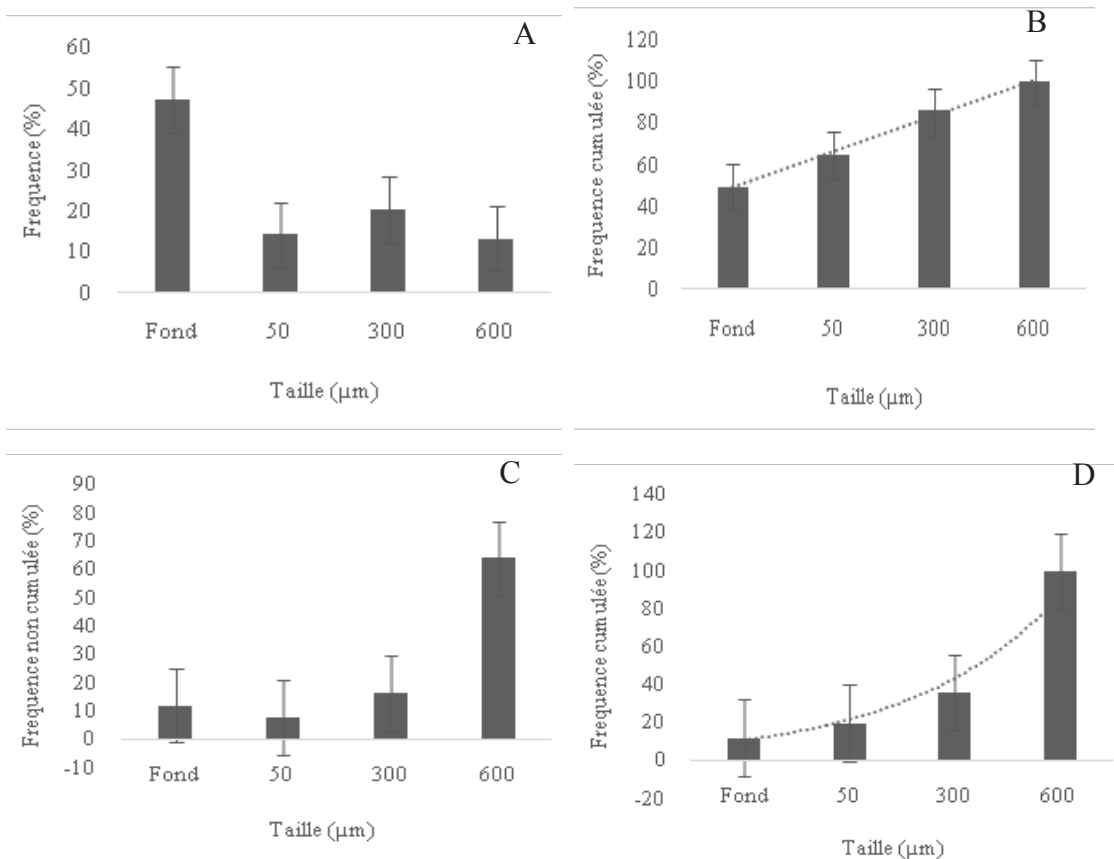


Figure 2: Répartition granulométrique déterminée à l'aide d'une colonne de tamis de la poudre d'*Artemisia annua* : fréquence non cumulée des tailles (A), fréquence cumulée des tailles (B) et des granulés d'*Artemisia annua* : fréquence non cumulée des tailles (C), fréquence cumulée des tailles (D).

3.2 Caractéristiques galéniques et biogaléniques

Les comprimés obtenus sont arrondis, lisses, de couleur uniforme et vert-grisâtre. La masse moyenne des comprimés est de 474,5 mg avec une répartition uniforme car toutes les masses individuelles des comprimés sont comprises dans les intervalles de confiance calculés (450,7 mg – 498,2 mg). L'indice de friabilité est de $0,6 \pm 0,2$ % avec une dureté moyenne de $74,3 \pm 3,7$ N ainsi que des duretés minimales et maximales respectives de 57,2 N et 96,1 N. Le temps de désagrégation des comprimés est de $8,9 \pm 1,2$ min en moyenne.

3.3 Caractéristiques phytochimiques et teneur en flavonoïdes de la poudre et des comprimés

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 comprimés d'*A. annua*. Cependant, les tests réalisés n'ont pu montrer la présence de tanins ni de saponosides (Tableau III).

Tableau III : Caractéristiques phytochimiques de la poudre et des comprimés d'*Artemisia annua*

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

+ : Présence, - : Absence

Les teneurs en flavonoïdes de la poudre et des comprimés d'*A. annua* ont été déterminées par calcul, à partir de la droite d'étalonnage dont l'équation est $y = 4,371x - 0,0057$ avec un coefficient de régression $R^2 = 0,998$ (Fig. 3). Ce qui a permis d'obtenir une teneur moyenne de $8,8 \pm 1,2$ mg et $7,6 \pm 0,3$ mg équivalent de quercétine respectivement pour la poudre et les comprimés. La teneur en quercétine des comprimés équivaut à $92,2 \pm 2,7$ % de la teneur en quercétine de la poudre d'*A. annua* ayant servi à la fabrication des comprimés. Par ailleurs, la valeur d'acceptation (VA) de la répartition de la teneur en flavonoïdes des comprimés est de $12,3 \pm 1,1$ (Tableau IV).

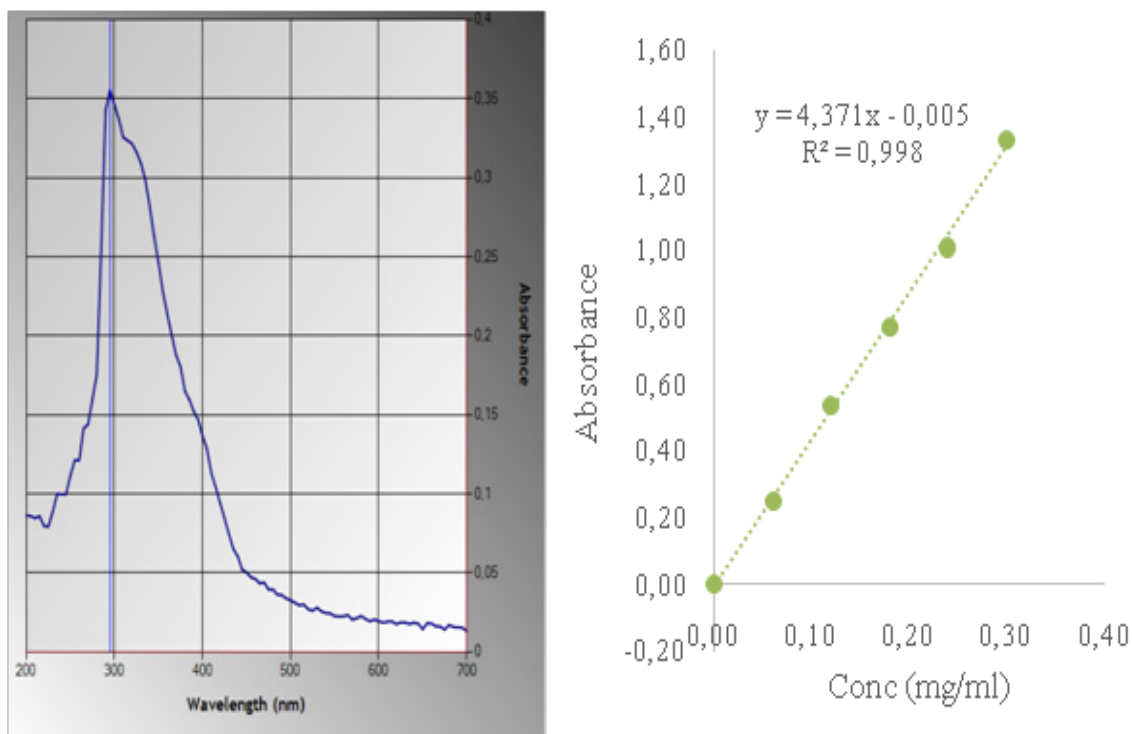


Figure 3 :Chromatogramme (à gauche) et droite d'étalonnage (à droite) de la quercétine réalisée par spectrophotométrie uv-visible à 298 nm

Tableau IV : Paramètres pharmacotechniques des comprimés et de la poudre d'*Artemisia annua*

Paramètres	Comprimés	Poudre
Masse (mg)	474,5 ± 8,3	500
IC (mg)	450,7 - 498,2	
TD (min)	8,9 ± 1,2	
Dureté (N)	74,3 ± 3,7	
Dmin, Dmax	57,2 - 96,1	
I (%)	0,6 ± 0,2	
Teneur (mg)	7,6 ± 0,3	8,8 ± 1,2
Teneur (%)	92,2 ± 2,7	
VA	12,3 ± 1,1	

4. DISCUSSION

4.1 Caractéristiques physicochimiques de la poudre et des granulés

Les essais réalisés ont permis de déterminer les principales caractéristiques physicochimiques de la poudre et des granulés d'*A. annua*. Sur le plan macroscopique, la finesse de la poudre a été confirmée par l'analyse granulométrique des particules avec un diamètre médian (d50) inférieur à 50 µm. L'amertume de la poudre a été confirmée par les travaux de Merlin et al. [Willcox et al., 2011]. Ce goût désagréable pourrait influencernégativement 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 [Willcox et al., 2011]. Par ailleurs, la formulation de comprimés a pour objectif d'améliorer cet inconvénient surtout avec un enrobage. Le pH de la poudre et des granulés en milieu aqueux est légèrement acide (5,6 ± 0,1 et 5,7 ± 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 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 CTA [Nsanzabana, 2019; Daddy et al., 2017; Suberu et al., 2013b]. Le taux d'adhésivité est également très faible (0,6 ± 0,1 %) avec un taux de mouillabilité de 2,3 ± 0,6 mL. Cette propriété militerait en faveur d'une faible adhésion de la poudre d'*A. annua* aux parois des appareils utilisés [Agouri, Laputte & Rideau, 1978; Fuji et al., 1999; Alghunaim, Kirdponpattara & Newby, 2016]. Le taux d'humidité résiduelle des granulés est très faible (5,5 ± 0,7 %), comparativement à celui de la poudre qui semble être un peu plus élevé (12,5 ± 0,3 %). 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*[1]. La faible teneur en eau des granulés laisse présager d'une bonne conservation des comprimés à la température ambiante. Par ailleurs, ce faible taux d'humidité pourrait éviter d'éventuelles réactions enzymatiques ainsi que le développement des microorganismes [Iqbal et al., 2012]. Pour évaluer les propriétés rhéologiques de la poudre et des granulés d'*A. annua*, le test de compressibilité sur la poudre a permis de déterminer les indices de Carr et de Hausner qui sont respectivement de $27,3 \pm 0,9\%$ et $1,4 \pm 0,5$. Ces résultats montrent bien que l'aptitude à l'écoulement de la poudre est médiocre [Blanco et al., 2020]. 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 matrices se fasse correctement avec une bonne uniformité de la masse des comprimés, et partant, de la teneur en substances actives [Schüssele & Bauer-Brandl, 2003; Thalberg, Lindholm & Axelsson, 2004]. Ainsi, les granulés obtenus ont effectivement présenté des indices de Carr et de Hausner respectifs de $14,2 \pm 0,3\%$ et $1,2 \pm 0,7$, caractéristiques d'un bon écoulement des granulés [Peinado, Hammond & Scott, 2011; Sun et al., 2019]. L'analyse granulométrique de la poudre d'*A. annua* 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 [Begat et al., 2004]. Quant aux granulés, le diamètre médian (d_{50}) est de $500 \mu\text{m}$ environ. C'est donc une poudre grossière, ce qui explique ses bonnes propriétés rhéologiques [Agrawal & Naveen, 2011].

4.2 Caractéristiques galéniques et biogaléniques des comprimés

Les comprimés obtenus ont présenté de bonnes caractéristiques macroscopiques. La répartition de la masse des comprimés est également uniforme. Ces résultats corroborent ceux obtenus lors du test de compressibilité des granulés et qui ont montré un bon écoulement des granulés [Agrawal & Naveen, 2011; Schiano, Chen & Wu, 2018; Arnaud, Brossard & Chaumeil, 1998]. L'indice de friabilité ($< 1\%$) et la dureté des comprimés ($> 50 \text{ N}$), sont conformes aux spécifications de la Pharmacopée Européenne 9e éd. Ils pourront donc montrer une bonne résistance aux chocs durant les opérations de stockage et de distribution [Chowhan, 1979; Osei-Yeboah & Sun, 2015]. La désagrégation des comprimés s'est également déroulée dans un délai acceptable ($8,9 \pm 1,2 \text{ min}$), inférieur à 15 min. Ce qui laisse présager une libération relativement rapide des substances actives contenues dans ces comprimés, dans le tube digestif. Toutefois, la faible solubilité des granulés ($< 1 \text{ g/l}$) pourrait ralentir l'absorption plasmatique des substances actives de la plante [Desrosiers & Weathers, 2016; Mustafa et al., 2014]. 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 comprimé, présenterait 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 [Suberu et al., 2013a]. 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 [Willcox et al., 2011; Munyangi et al., 2019]. L'administration des comprimés, non seulement réduit l'amertume de la tisane 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 [Faisal et al., 2018; Barakh Ali et al., 2019]. En outre, les comprimés sont moins encombrants que la tisane et peuvent facilement être emportés. 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 [Willcox et al., 2011; Munyangi et al., 2019]. Par contre, la teneur en artémisinine dans la poudre, présente une meilleure stabilité chimique[Ráth et al., 2004]. Ce résultat suscite donc l'intérêt de poursuivre des études de stabilité des comprimés sur une durée de 3 à 6 mois, voire 1, 2 et 3 ans en suivant non seulement la teneur en artémisinine mais aussi en flavonoïdes[Blessy et al., 2014].

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

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 comprimés 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, de triterpènes, de tanins, d'huiles volatiles, d'acides gras supérieurs et de composés réducteurs[Ogwang et al., 2011]. Les substances responsables de l'activité antipaludique d'*A. annua* sont principalement l'Artémisinine et les flavonoïdes qui agissent en synergie [Ferreira et al., 2010]. 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 [Ferreira et al., 2010; Bilia et al., 2006]. 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 comprimés a été déterminée par la méthode de spectrophotométrie UV-visible à 298 nm. La poudre d'*A. annua*, utilisée comme matière première pour la fabrication des comprimés, 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 de Nsengiyumva (2017) qui a obtenu un taux de 18,32 mg/g de flavonoïdes totaux dans la poudre de feuille d'*A. annua* [Daddy et al., 2017]. 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% [Ogwang et al., 2011] ; ainsi que de ceux de Weathers (2014) qui ont obtenu une teneur en flavonoïdes totaux de 2,97 mg/g dans les feuilles séchées de la variété SAM d'*Artemisia annua* (variété améliorée) [Weathers & Towler, 2012]. 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 [Weathers & Towler, 2014]. Ces différences pourraient être dues à plusieurs facteurs, notamment l'origine des variétés d'*A. annua* utilisées dans ces études, les conditions de croissance ainsi que les variations saisonnières et géographiques de ces plantes [Soni, Brar & Gauttam, 2015; Iqbal et al., 2012]. Quant aux comprimés, la teneur moyenne en flavonoïdes obtenue est de $7,6 \pm 0,3$ mg, correspondant à $92,2 \pm 2,7$ % de la teneur en flavonoïdes de la poudre d'*A. annua*. La dose thérapeutique étant de 1 g de poudre d'*A. annua* par jour pendant 5 à 6 jours, il faudrait donc environ 2 comprimés par jour, soit un total de 12 comprimés pour un traitement complet du paludisme. Par ailleurs, la valeur d'acceptation de la répartition de la teneur en flavonoïdes ($VA_{10} = 12,3$) étant inférieure à 15, ce résultat milite en faveur d'une bonne uniformité de la teneur en substances actives des comprimés et donc d'une éventuelle reproductibilité des effets thérapeutiques de ceux-ci [Dastgiri, Siahni & Tamizi, 2017].

CONCLUSION

Ce travail a permis de mettre au point des comprimés à base de poudre de feuilles et de tiges d'*Artemisia annua* pour la prophylaxie et le traitement de l'accès palustre. Cette forme galénique pourrait présenter d'énormes avantages aussi bien pour la qualité de la prise en charge des patients que pour une meilleure conservation des substances actives de la plante. A cet effet, des études complémentaires de stabilité et de dosage de l'artémisinine devraient être envisagées.

conflits d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

RÉFÉRENCES

1. Agarwal, S.P., Ali, A., Dua, Y. & Ahuja, S. (2009) Determination of artemisinin in bulk and pharmaceutical dosage forms using HPTLC. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 71 (1), 98.
2. Agouri, E., Laputte, R. & Rideau, J. (1978) US Patent 4,080,405. *Process for chemical modification of polyolefins to improve their wettability*. [Online]. Google Patents. Available from: <https://www.google.com/patents/US4080405> [Accessed: 24 November 2016].
3. Agrawal, R. & Naveen, Y. (2011) Pharmaceutical processing—A review on wet granulation technology. *International journal of pharmaceutical frontier research*. 1 (1), 65–83.
4. Alghunaim, A., Kirdponpattara, S. & Newby, B.Z. (2016) Techniques for determining contact angle and wettability of powders. *Powder Technology*. [Online] 287, 201–215. Available from: doi:10.1016/j.powtec.2015.10.002.
5. Arnaud, P., Brossard, D. & Chaumeil, J.C. (1998) Effect of the granulation process on nitrofurantoin granule characteristics. *Drug development and industrial pharmacy*. 24 (1), 57–66.
6. Bacher, C., Olsen, P.M., Bertelsen, P. & Sonnergaard, J.M. (2008) Compressibility and compactibility of granules produced by wet and dry granulation. *International Journal of Pharmaceutics*. [Online] 358 (1), 69–74. Available from: doi:10.1016/j.ijpharm.2008.02.013.
7. Barakh Ali, S.F., Dharani, S., Afrooz, H., Khan, M.A., et al. (2019) Application of salt engineering to reduce/mask bitter taste of clindamycin. *Drug development and industrial pharmacy*. (just-accepted), 1–23.
8. Begat, P., Morton, D.A.V., Staniforth, J.N. & Price, R. (2004) The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations I: Direct Quantification by Atomic Force Microscopy. *Pharmaceutical Research*. [Online] 21 (9), 1591–1597. Available from: doi:10.1023/B:PHAM.0000041453.24419.8a.
9. Bilia, A.R., de Malgalhaes, P.M., Bergonzi, M.C. & Vincieri, F.F. (2006) Simultaneous analysis of artemisinin and flavonoids of several extracts of *Artemisia annua* L. obtained from a commercial sample and a selected cultivar. *Phytomedicine*. 13 (7), 487–493.
10. Blanco, D., Antikainen, O., Räikkönen, H., Mah, P.T., et al. (2020) Image-based Characterization of Powder Flow to Predict the Success of Pharmaceutical Minitablet Manufacturing. *International Journal of Pharmaceutics*. 119280.
11. Blanco, M. & Alcalá, M. (2006) Content uniformity and tablet hardness testing of intact pharmaceutical tablets by near infrared spectroscopy: a contribution to process analytical technologies. *Analytica chimica acta*. 557 (1–2), 353–359.
12. Blessy, M., Patel, R.D., Prajapati, P.N. & Agrawal, Y.K. (2014) Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 4 (3), 159–165.
13. Brown, G.D. (2010) The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao). *Molecules*. 15 (11), 7603–7698.

14. Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M. & Chern, J.-C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*. 10 (3).
15. Chowhan, Z.T. (1979) Moisture, Hardness, Disintegration and Dissolution Interrelationships in Compressed Tablets Prepared by the Wet Granulation Process. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. [Online] 5 (1), 41–62. Available from: doi:10.3109/03639047909055661.
16. Clavaud, M., Roggo, Y., Dégardin, K., Sacré, P.-Y., et al. (2016) Moisture content determination in an antibody-drug conjugate freeze-dried medicine by near-infrared spectroscopy: A case study for release testing. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 131, 380–390.
17. Daddy, N.B., Kalisya, L.M., Bagire, P.G., Watt, R.L., et al. (2017) Artemisia annua dried leaf tablets treated malaria resistant to ACT and iv artesunate. *Phytomedicine*. 32, 37–40.
18. Dastgiri, A., Siah, M. & Tamizi, E. (2017) A Comparative In-Vitro Study for Evaluation of Physicochemical Properties of the Domestic and Innovator Brands of Sertraline Hydrochloride Tablets Available in the Iranian Market: Invitro comparison of the quality of Iranian and imported brands of sertraline hydrochloride tablets. *Pharmaceutical Science*. 23 (4), 271–277.
19. De Spiegeleer, B., Van Vooren, L., Thonissen, T. & Joye, P. (2005) Mass uniformity: influence of operational compression conditions on breakability of scored tablets as part of manufacturing robustness evaluation. *Journal of Food and Drug Analysis*. 13 (1).
20. Desrosiers, M.R. & Weathers, P.J. (2016) Effect of leaf digestion and artemisinin solubility for use in oral consumption of dried Artemisia annua leaves to treat malaria. *Journal of ethnopharmacology*. 190, 313–318.
21. Elfawal, M.A., Towler, M.J., Reich, N.G., Weathers, P.J., et al. (2015) Dried whole-plant Artemisia annua slows evolution of malaria drug resistance and overcomes resistance to artemisinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112 (3), 821–826.
22. Faisal, W., Farag, F., Abdellatif, A.A. & Abbas, A. (2018) Taste masking approaches for medicines. *Current drug delivery*. 15 (2), 167–185.
23. Ferreira, J.F., Luthria, D.L., Sasaki, T. & Heyerick, A. (2010) Flavonoids from Artemisia annua L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules*. 15 (5), 3135–3170.
24. Fuji, M., Takei, T., Watanabe, T. & Chikazawa, M. (1999) Wettability of fine silica powder surfaces modified with several normal alcohols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 154 (1), 13–24.
25. Iqbal, S., Younas, U., Chan, K.W., Zia-Ul-Haq, M., et al. (2012) Chemical Composition of Artemisia annua L. Leaves and Antioxidant Potential of Extracts as a Function of Extraction Solvents. *Molecules*. [Online] 17 (5), 6020–6032. Available from: doi:10.3390/molecules17056020.
26. Kishi, H. & Hashimoto, Y. (1989) Evaluation of the procedures for the measurement of water solubility and n-octanol/ water partition coefficient of chemicals results of a ring test in Japan. *Chemosphere*. 18 (9–10), 1749–1759.
27. Munyangi, J., Cornet-Vernet, L., Idumbo, M., Lu, C., et al. (2019) 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, 49–56.
28. Mustafa, M.E., Nur, A.O., Osman, Z.A. & Ahmed, S.A. (2014) Influence of drug solubility and polymers supply source on the physical performance of matrix tablets. *Int J Pharm Pharm Sci*. 6 (10), 308–12.
29. Nsanzabana, C. (2019) Resistance to artemisinin combination therapies (ACTs): do not forget the partner drug! *Tropical medicine and infectious disease*. 4 (1), 26.
30. Ogowang, P.E., Ogowal, J.O., Kasasa, S., Ejobi, F., et al. (2011) Use of Artemisia annua L. infusion for malaria prevention: mode of action and benefits in a Ugandan community. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 1 (4), 124.
31. Organization, W.H. (2019) *World malaria report 2019*.
32. Osei-Yeboah, F. & Sun, C.C. (2015) Validation and applications of an expedited tablet friability method. *International Journal of Pharmaceutics*. [Online] 484 (1), 146–155. Available from: doi:10.1016/j.ijpharm.2015.02.061.

33. Peinado, A., Hammond, J. & Scott, A. (2011) 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. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 54 (1), 13–20.
34. Pérez, P., Suñé-Negre, J.M., Miñarro, M., Roig, M., et al. (2006) A new expert systems (SeDeM Diagram) for control batch powder formulation and preformulation drug products. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. [Online] 64 (3), 351–359. Available from: doi:10.1016/j.ejpb.2006.06.008.
35. Petean, P.G.C. & Aguiar, M.L. (2015) Determining the adhesion force between particles and rough surfaces. *Powder Technology*. [Online] 274, 67–76. Available from: doi:10.1016/j.powtec.2014.12.047.
36. R ath, K., Taxis, K., Walz, G., Gleiter, C.H., et al. (2004) Pharmacokinetic study of artemisinin after oral intake of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (annual wormwood). *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 70 (2), 128–132.
37. Schiano, S., Chen, L. & Wu, C.-Y. (2018) The effect of dry granulation on flow behaviour of pharmaceutical powders during die filling. *Powder Technology*. 337, 78–83.
38. Sch ussele, A. & Bauer-Brandl, A. (2003) Note on the measurement of flowability according to the European Pharmacopoeia. *International journal of pharmaceutics*. 257 (1), 301–304.
39. Soni, U., Brar, S. & Gauttam, V.K. (2015) Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 6 (9), 3654–3662.
40. Suberu, J.O., Gorka, A.P., Jacobs, L., Roepe, P.D., et al. (2013a) Anti-Plasmodial Polyvalent Interactions in *Artemisia annua* L. Aqueous Extract – Possible Synergistic and Resistance Mechanisms. *PLOS ONE*. [Online] 8 (11), e80790. Available from: doi:10.1371/journal.pone.0080790.
41. Suberu, J.O., Gorka, A.P., Jacobs, L., Roepe, P.D., et al. (2013b) Anti-plasmodial polyvalent interactions in *Artemisia annua* L. aqueous extract–possible synergistic and resistance mechanisms. *PloS one*. 8 (11), e80790.
42. Sun, W.-J., Chen, H., Aburub, A. & Sun, C.C. (2019) A platform direct compression formulation for low dose sustained-release tablets enabled by a dual particle engineering approach. *Powder technology*. 342, 856–863.
43. Tak acs-Nov ak, K. & V olgyi, G. (2004) Alkalimetry in alcohol–water mixtures with potentiometric end-point detection: Critical remarks on a newer method of European Pharmacopoeia. *Analytica Chimica Acta*. [Online] 507 (2), 275–280. Available from: doi:10.1016/j.aca.2003.11.049.
44. Thalberg, K., Lindholm, D. & Axelsson, A. (2004) Comparison of different flowability tests for powders for inhalation. *Powder Technology*. [Online] 146 (3), 206–213. Available from: doi:10.1016/j.powtec.2004.08.003.
45. Wang, Z., Jiang, C., Xu, H. & Wyszynski, M.L. (2016) Macroscopic and microscopic characterization of diesel spray under room temperature and low temperature with split injection. *Fuel Processing Technology*. 142, 71–85.
46. Weathers, P.J. & Towler, M.J. (2014) Changes in key constituents of clonally propagated *Artemisia annua* L. during preparation of compressed leaf tablets for possible therapeutic use. *Industrial crops and products*. 62, 173–178.
47. Weathers, P.J. & Towler, M.J. (2012) The flavonoids casticin and artemetin are poorly extracted and are unstable in an *Artemisia annua* tea infusion. *Planta medica*. 78 (10), 1024–1026.
48. Willcox, M.L., Burton, S., Oyweka, R., Namyalo, R., et al. (2011) Evaluation and pharmacovigilance of projects promoting cultivation and local use of *Artemisia annua* for malaria. *Malaria journal*. 10 (1), 84.