



Article Original

Formulation Galénique d'Extrait Hydro-Alcoolique des Feuilles de *Tapinanthus Ogowensis* Utilisées pour le Traitement de l'Infertilité Féminine

Formulation test of an improved traditional medicine from hydroethanolic extract of Tapinanthus pentagonia

Nnanga Nga^{1,3,4}, Ngougoure Venembouo MA⁵, Mbole Mvondo J M¹, Soppo Lobè CV¹, Aba'a MD³, Nnomo Assiga K³, Olinga MF³, Arrey Arrah H³, Menyeng Mvomo AA³, Mpondo Mpondo AB³

RÉSUMÉ

Objectifs. Effectuer une formulation galénique d'un médicament traditionnel amélioré potentiellement efficace à base d'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Tapinanthus ogowensis*. **Matériels et méthodes.** Étude de type expérimental qui a eu lieu de novembre 2014 à mai 2015 à l'Institut de Recherches Médicales et d'Études des Plantes Médicinales de Yaoundé (IMPM) sur des plantes récoltées à Nkolofoulou, Département de la Mefou et Afamba. **Résultats.** Les gélules utilisées sont de taille 00 et deux types de remplissage ont été effectués : remplissage direct et remplissage après granulation humide de la poudre. Les gélules ont d'abord été remplies avec les granulés et le nombre de gélules par unité de prise était de 14, soit 0.09700g d'extrait par gélule ; puis il a été effectué un remplissage direct et nous avons obtenus 9 gélules par unité de prise, soit 0,1509 g d'extrait par gélule. Cette taille de gélule a été choisie dans l'optique de diminuer le nombre de gélule par prise. **Conclusion.** Cette étude a permis la formulation galénique de gélules à base d'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Tapinanthus ogowensis* présentant un bon profil de sécurité, de qualité et potentiellement efficace.

ABSTRACT

Objectives. To carry out a galenical formulation of a potentially effective improved traditional medicinal product based on hydro-alcoholic extract of the leaves of *Tapinanthus ogowensis*. **Materials and methods.** This experimental study was effected from November 2014 to may 2015 at the Institute of Medical Research and Studies of Medicinal Plants of Yaoundé (IMPM) on plants harvested in Nkolofoulou, Mefou and Afamba Division. **Results.** The capsules used are of size 00 and two types of filling have been carried out: direct filling and filling after wet granulation of the powder. The capsules were first filled with the granules and the number of capsules per unit of setting was 14, i.e. 0.09700 g of extract per capsule; then we carried out a direct filling and we obtained 9 capsules per unit of catch, i.e. 0.1509 g of extract per capsule. This size of capsule was chosen in order to reduce the number of capsules per dose. **Conclusion.** Our study allowed the formulation of capsules based on hydro-alcoholic extract of the leaves of *Tapinanthus ogowensis*, with a good profile of safety, quality and potential efficacy.

⁽¹⁾ Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique - FMSB - Yaoundé- Cameroun

⁽²⁾ Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique - FMSB - Yaoundé - Cameroun

⁽³⁾ Département de Sciences Pharmaceutiques - FMSP- Douala- Cameroun

⁽⁴⁾ Laboratoire de Technologie Pharmaceutique – IMPM – Yaoundé – Cameroun

⁽⁵⁾ Département de Pharmacognosie et Chimie Pharmaceutique - FMSB - Yaoundé- Cameroun

Correspondance : Pr Nnanga Nga. ngnnanga@yahoo.fr Tél. : 00237 677216802

Mots-clés. *Tapinanthus ogowensis*, infertilité féminine, médecine traditionnelle, gélule, granulation, extraction.

Key words. *Tapinanthus ogowensis*. Female infertility, traditional medicine, capsule, granulation, extraction.

INTRODUCTION

La formulation pharmaceutique est l'ensemble des opérations qui permettent de donner une forme à un médicament appelée forme galénique. Cette forme permet au médicament d'être facilement administrable, lui donne la possibilité d'atteindre son site d'action, dans des concentrations suffisantes pour assurer son efficacité. Le code de la Santé Publique définit le médicament ainsi qu'il suit : « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que

toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » [1].

Le règne végétal offre beaucoup de potentialités en termes de thérapeutique médicamenteuse. En Afrique, la médecine traditionnelle puise l'essentiel de ses ressources dans les plantes. Les phytomédicaments ou

médicaments traditionnels améliorés (MTA), constituent une alternative de première importance aux dépenses de santé pour la plupart des pays africains, qui dépendent encore, largement des firmes pharmaceutiques et les laboratoires étrangers.

A partir des enquêtes ethnobotaniques, des informations sur l'utilisation des plantes médicinales par des tradipraticiens et les populations sont rassemblées. Sur la base de ces informations, des études peuvent être entreprises afin de mieux étudier la matière végétale dans sa composition, ainsi que ses potentialités thérapeutiques, dans le but d'aboutir à la fabrication des médicaments traditionnels améliorés.

Parmi les très nombreuses familles de plantes utilisées en Afrique et au Cameroun en particulier, dans le traitement des maladies, il existe la famille des Ioranthacées constituée de plusieurs genres parmi lesquels, le genre *Tapinanthus* dont l'espèce *Tapinanthus ogowensis* fera l'objet de notre étude. En médecine traditionnelle cette plante est utilisée dans le traitement des infertilités féminines.

Les travaux à effectuer sur les extraits de feuilles de *Tapinanthus ogowensis* auront pour finalité la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré efficace, bien toléré et stable conformément aux normes de préparations et de formulations magistrales [2].

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette étude expérimentale a eu lieu de novembre 2014 à mai 2015 et le choix de la plante était basé sur les connaissances ethnobotaniques sur l'utilisation de *Tapinanthus ogowensis* par les populations dans le traitement de l'infertilité féminine. L'identification sur le terrain a été faite par les chercheurs de l'Institut de Recherches Médicales et d'études des Plantes Médicinales de Yaoundé et un échantillon a été déposé à l'herbier national au n° 6964-SRF-CAM. Les feuilles de la plante ont été récoltées dans la région du centre, à quelques kilomètres de Yaoundé, plus précisément à Nkolfoulou, Département de la Mefou et Afamba Nord en novembre 2014 dans la matinée. La plante a été récoltée sur *Persea americana*.

Dans le but de réaliser cette étude, quatre axes de recherche ont été envisagés :

- Extraction des principes actifs
- Screening phytochimique
- Contrôle de toxicité aiguë
- Formulation d'un médicament traditionnel amélioré.

Extraction

Les feuilles de *Tapinanthus Ogowensis* fraîchement récoltées sont lavées à l'eau, séchées pendant 48h à l'étuve réglée à 74°C puis pulvérisées. Une quantité de 800 g de poudre est macérée pendant 48h, successivement dans 4L d'hexane, d'acétate d'éthyle et d'un mélange eau/éthanol (30 :70) v/v. Après filtration, les solutions hexaniques, à l'acétate d'éthyle et hydroéthanolique ont été évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif de type Heidoph respectivement à 70 °C, 79 °C et 90 °c. Après extraction et concentration, 3 extraits ont été obtenus soit un extrait

hexanique, un extrait à l'acétate d'éthyle et un extrait hydroéthanolique. Le rendement de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Masse de l'extrait}}{\text{Masse de poudre initiale}} * 100\%$$

Screening phytochimique

Après préparation des différents extraits, nous avons procédé à la recherche des alcaloïdes, des composés phénoliques, des stéroïdes et terpenoïdes par les différentes réactions de précipitation communes à chaque composé [3].

Évaluation de la toxicité aiguë

Vingt rats femelles de l'espèce *wistar* ont été utilisés à cet effet. La méthode utilisée suit les lignes directrices 420 modifiées de l'OCDE pour l'évaluation de la toxicité aiguë par voie orale à dose fixe [4]. Il s'agit de marquer les animaux sur leurs queues par des numéros d'ordre pour permettre une identification aisée. Les diviser en 4 groupes de 5 rats chacun, un groupe de contrôle qui ne recevra que de l'eau distillée puis les autres groupes qui recevront l'extrait à différentes doses (300, 2000 et 5000 mg/kg de masse corporelle). Pendant la durée du contrôle de toxicité, observer les paramètres suivants : modification de la peau, les poils, les yeux, les tremblements, les convulsions, la salivation, la diarrhée, la léthargie, le sommeil et le coma.

Formulation des gélules

Le matériel utilisé est constitué principalement d'une étuve de type Manestypetrie, une plaque chauffante de marque KALORIK, deux tamis dont l'un de numéro 24 et de maille 200 micron et l'autre de numéro 21 et de maille 100 micron, un broyeur Heavy dutyblender de marque WARING COMMERCIAL, une balance de précision 0.001g de marque EXPLORER OHAUS, une balance analytique de précision 0.0001 kg et de marque METTLER PE22, un mélangeur de marque ERWEKA AR 400 et un granulater humide de marque ERWEKA. Avant la réalisation de la formulation, la dose unitaire suivante a été déterminée :

Perte en eau × masse d'une poignée de feuilles fraîches

Ensuite procéder à la préparation de la poudre de *Tapinanthus ogowensis* suivi de la Granulation humide et enfin le remplissage des gélules par les granules obtenues.

Le contrôle Pharmacotechnie des gélules fabriquées a été réalisé par un contrôle visuel des gélules pendant le remplissage et les gélules jugées non conformes ont été éliminées.

L'uniformité de masse a été réalisée sur 10 gélules prises au hasard et le Test de désintégration réalisé avec 6 gélules [5,6].

RÉSULTATS

Les extractions

Le rendement des différents extraits varie en fonction des solvants utilisés et allait de 4.44% pour l'extrait hexanique qui est le moins polaire des solvants utilisés à 26.61% pour l'extrait hydroéthanolique qui était le solvant le plus polaire. Le rendement de l'extrait à l'acétate d'éthyle et celui de l'extrait total sont respectivement de 11.94% et 17.96%. Plus la polarité du solvant est grande, plus le rendement des extraits obtenus est grand.

Screening phytochimique

Le screening phytochimique des différents extraits a montré la présence des stéroïdes. Les tanins, les flavonoïdes et les coumarines quant à eux ont été retrouvés dans un échantillon restreint. La présence de ces substances bioactives pourrait justifier l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle pour le traitement de l'infertilité féminine [7, 8].

Tableau I : Analyse chimique (qualitative) de quelques métabolites secondaires des extraits de *Tapinanthus Ogowensis*

Métabolites secondaires	Extrait hexanique	Extrait acétate D'éthyle	Extrait hydro éthanolique	Extrait total
Stéroïdes	++	++	+	+++
Terpenoïdes	-	-	-	-
Alcaloïdes	-	-	-	-
Tanin	-	++	+++	+++
Flavonoïdes	-	+	-	-
Coumarines	++	+	-	-
Composés réducteurs	-	-	-	-

Contrôle de toxicité

Les contrôles de toxicité sur les animaux n'ont montré aucun signe de toxicité clinique apparente tant sur le plan zootechnique (évolution pondérale, prise alimentaire, prise hydrique) que sur le plan physiologique. Après autopsie, les organes vitaux isolés n'ont pas non plus montré de signe apparent de toxicité, ce qui nous a permis de conclure que les extraits ne présentent pas toxicité sévère sur les organes étudiés.

Formulation galénique

Il a été formulé un médicament traditionnel amélioré sous forme de poudre sèche. Cette granulation a été utilisée pour le remplissage des gélules de taille 00 et deux types de remplissage, directe et indirecte ont été réalisés. Cette taille de gélule a été choisie dans l'optique de diminuer le nombre de gélule par unité de prise, car après les essais de remplissage, la poudre de *Tapinanthus* occupait un grand volume.

Contrôle Pharmacotechnie

Les contrôles pharmacotechniques, uniformité de masse et temps de désintégration effectués ont montré que les gélules fabriquées étaient conformes aux normes de la

pharmacopée internationale, permettant la validation de la méthode de fabrication idoïne.

DISCUSSION

Le but de cette étude était de produire une forme sèche à base de gélules à partir de l'extrait de *Tapinanthus ogowensis*, conformément aux normes de bonnes pratiques de formulation magistrale. Les extractions ont été faites avec différents solvants, hexane, acétate d'éthyle, eau/éthanol 30/70 v/v et eau. Les rendements des extractions étaient directement proportionnels à la polarité des solvants utilisés. Le screening phytochimique réalisé sur les extraits a permis la caractérisation d'un certain nombre de composés bioactifs issus du métabolisme secondaire de ces végétaux pouvant être tributaire de leur réputation en thérapie traditionnelle. Par ailleurs, l'innocuité de l'extrait a pu être mise en évidence par une évaluation du profil de toxicité aiguë effectuée sur des rats de l'espèce *Wistar*; ceci a donc permis la mise au point d'un médicament traditionnel amélioré présentant un bon profil de sécurité, de qualité et potentiellement efficace pour le traitement de l'infertilité féminine.

RÉFÉRENCES

1. Moulin M. Coquerel A. pharmacologie. 2^{ème} ed. Paris Masson ; 2007.
2. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Bonnes pratique de fabrication. Paris France, juillet 2011.
3. Ndamitso M., Musah M., Mohammed-Hadi Z., Idris S., Tijani O.J., Shaba E.Y. et Umar, A. Analyse du contenu photochimique et d'activité antibactérien des extraits des *Tapinanthus dodoneolius*. Researcher. 2013 ; 5(5).
4. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. Acute oral toxicity- fixed dose procedure. 17th December 2001.
5. Pharmacopée européenne, conseil de l'Europe, Strasbourg, France, 2.9.3.
6. The pharmaceutical society of Great Britain. The pharmaceutical Codex. 11thed. The pharmaceutical press, London. 1979.
7. Ekhaïse O F, Agboh MK and Uanseje S. Evaluation of the methanolic extract of mistletoe (*Tapinanthus bangwensis*) leaves grown on orange trees for the phytochemical properties and its physiological effects on streptozotocin induced diabetes mellitus in laboratory animals. World Applied Sciences Journal; 2010; 9 (9): 975-979.
8. Bassey M E. Phytochemical investigations of *Tapinanthus globiferus* (Loranthaceae) from two hosts and the taxonomic implications. ijCEPr; 2012 May Aug; Vol. 3.(2): 174-177.