



ESJ Natural/Life/Medical Sciences

Formulation et Fabrication des Suppositoires à Visée Antipaludique à Base du Beurre de Karité Contenant *Artémisia annua* Cultivé à L'ouest Cameroun

Lionel Tematio Nague

Emmanuel Mpondo

Emmanuel Nnanga Nga

Laboratoire de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique,
Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales,
Université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun

Clautaire Mwebi Ekengoue

Association Scientifique Africaine pour l'Innovation et l'Entrepreneuriat
(ASAIE), Yaoundé, Cameroun

Richard Vivien Youagam

Association Scientifique Africaine pour l'Innovation et l'Entrepreneuriat
(ASAIE), Yaoundé, Cameroun

Ministère des Finances (MINFI), Cameroun

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n27p204](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n27p204)

Submitted: 08 June 2022

Accepted: 11 August 2022

Published: 31 August 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Nague L.T., Mpondo E., Nga E.N., Ekengoue C. M. & Youagam R.V. (2022) *Formulation et Fabrication des Suppositoires à Visée Antipaludique à Base du Beurre de Karité Contenant Artémisia annua Cultivé à L'ouest Cameroun*. European Scientific Journal, ESJ, 18 (27), 204. <https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n27p204>

Résumé

Le but de la présente étude est de formuler et fabriquer des suppositoires à visée antipaludique à base de matières premières locales afin d'améliorer la prise en charge du paludisme, essentiellement chez les enfants âgés de moins de 5 ans. Pour faire cela, on a utilisé comme principe actif la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* provenant de la Région de l'Ouest-Cameroun et comme excipient le beurre de karité en provenance de la région du Nord Cameroun puis amélioré à 4% de silice colloïdale. Les essais organoleptiques ont mis en évidence une poudre de couleur grisâtre, de saveur amère et très odorante. L'analyse granulométrique a montré que la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* a une granulométrie allant de très

fine à fine. La concentration en flavonoïdes totaux de la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artemisia annua* est de 76,9 µg/ml d'équivalent de quercétine. Les suppositoires à visée antipaludique fabriqués à partir de 250mg de poudre de feuilles et tiges sèches de *Artemisia annua* et 1820mg de beurre de karité+4% de silice colloïdale ont suivi un contrôle pharmaceutique. Ce contrôle qualité des suppositoires à visée antipaludique contenant *Artemisia annua* fabriqués en utilisant le beurre de karité comme excipient a donné des valeurs des paramètres physico-chimiques en adéquation aux valeurs standards. La forme galénique issue de cette formule pourrait présenter une meilleure prise en charge thérapeutique des patients et particulièrement les enfants, au Cameroun et ailleurs en Afrique.

Mots-clés: Paludisme, enfants, *Artemisia Annua*, Beurre de Karité, suppositoires, prise en charge thérapeutique, Cameroun

Formulation and Manufacture of Suppositories for Antimalarial Purposes Containing *Artemisia annua* Cultivated at West Cameroon

Lionel Tematio Nague

Emmanuel Mpondo

Emmanuel Nnanga Nga

Laboratoire de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique,
Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales,
Université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun

Clautaire Mwebi Ekengoue

Association Scientifique Africaine pour l'Innovation et l'Entrepreneuriat
(ASAIE), Yaoundé, Cameroun

Richard Vivien Youagam

Association Scientifique Africaine pour l'Innovation et l'Entrepreneuriat
(ASAIE), Yaoundé, Cameroun

Ministère des Finances (MINFI), Cameroun

Abstract

This paper focuses on formulating and manufacturing antimalarial suppositories based on local materials in order to improve the management of malaria mainly for children under 5 years of age. Doing it, we used as active principle the powder of leaves and stems of *Artemisia annua* from Western Cameroon and, as an excipient, shea butter improved with 4% colloidal silica from the Northern Cameroon. The tests revealed a greyish-coloured powder

with a bitter taste and a very fragrant one. The particle size analysis showed that the powder of leaves and stems of *Artemisia annua* has a particle size ranging from very fine to fine. The concentration of total flavonoids in the powder of leaves and stems of *Artemisia annua* is 76.9 µg/ml of quercetin equivalent. Antimalarial suppositories made from 250mg of *Artemisia annua* leaf and stem powder and 1820mg of shea butter, enhanced with 4% colloidal silica, have undergone pharmaceutical control. This quality control of *Artemisia annua* antimalarial suppositories, manufactured using shea butter as an excipient, gave values of the physico-chemical parameters in line with the standards values. The galenic form resulting from this formula could offer better therapeutic management of patients, particularly children, in Cameroon and elsewhere in Africa.

Keywords: Malaria, children, *Artemisia Annua*, Shea Butter, suppositories, therapeutic management, Cameroon

1. Introduction

Le paludisme reste la principale cause de mortalité dans le monde (Talapko et al., 2019). C'est la maladie la plus courante en Afrique et dans certains pays d'Asie. Les principales victimes sont les enfants de moins de 5 ans (Danis & Genetilini, 1998). Plus de la moitié de la population mondiale souffre du paludisme. Près de 99 % des décès concernent l'Afrique dont 86 % des décès concernent des enfants de moins de 5 ans. Il s'agit d'une érythrocytopathie due à un hématozoaire du genre plasmodium (Danis & Genetilini, 1998). Le paludisme est une maladie grave qui se transmet à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle infecté de l'espèce Anophèles (Talapko et al., 2019).

Le traitement du paludisme repose sur le traitement curatif d'une part et préventif d'autre part. Dans l'ensemble, l'arsenal antipaludique comporte plusieurs molécules classées, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en fonction de leur mode d'action et leur structure chimique. Le choix d'une molécule antipaludique dépend de plusieurs critères (SPILF, 2008). L'objectif étant la guérison sans rechute, tout en évitant des complications iatrogènes (SPILF, 2008). Malheureusement, les efforts déployés pour lutter contre le paludisme sont contrariés par l'apparition et la propagation de résistance à la plupart des molécules présentes sur le marché avec pour conséquence une proportion importante de décès dans les pays en développement (Basco, 2003).

Face à l'augmentation progressive de cette résistance, il a été nécessaire de réagir à deux niveaux (Chekem & Wierucki, 2006). D'abord, proposer l'utilisation de nouvelles molécules reconnues comme efficaces pour le traitement du paludisme. Ensuite, valoriser les traitements combinant plusieurs

molécules reconnues efficaces afin de diminuer la probabilité de résistances du parasite (Chekem & Wierucki, 2006). De nos jours, de nouvelles méthodes de lutte contre le paludisme reposent sur le développement de nouvelles molécules et surtout le développement de combinaisons thérapeutiques reposant sur l'association d'un dérivé d'Artémisinine avec une ou plusieurs autres molécules connues sous le nom de Artemisinine-based Combination Therapy (ACT) (Davis et al., 2005), suivant les recommandations de l'OMS en vue de sa rapidité d'action et l'impact sur la transmission.

L'Artémisinine est une molécule issue de *Artemisia annua*, d'activité très rapide. Pour plus de détails sur *Artemisia annua*, les lecteurs sont invités à lire les travaux de Chougou et al. (2012) et Lutgen (2009). L'Artémisinine est une lactone sesquiterpénique isolé de *Artemisia annua* et de formule brute $C_{15}H_{22}O_5$ (Robert et al., 2005). L'Artémisinine a une action sur les trophozoïtes jeunes et empêche leur évolution vers les trophozoïtes tardifs responsables des complications de l'accès palustre. Cette molécule pénètre dans les globules rouges parasités et arrête précocement la maturation des schizontes. Elle a également un effet gamétocytocide qui diminue le risque de transmission de l'infection (Barbara et al., 2008). Les molécules d'Artemisinine sont des substances qui agissent comme schizonticides sanguins. Toutefois, chez les enfants de moins de 5 ans, les plus concernés par la pandémie, il se pose non seulement le problème de dose mais aussi de forme de médicaments. Chougou et al. (2013) démontrent en 2011 que la limonade de *Artemisia annua* sous sa forme suppositoire est plus acceptée par les enfants et plus efficace que lorsqu'il est sous la forme de tisane (Chougou et al., 2013).

Les suppositoires sont des préparations unidoses. Leur forme, volume et consistance sont adaptés à l'administration par voie rectale. Ils contiennent une ou plusieurs substances actives, dispersées ou dissoutes dans une base appropriée qui est plus souvent fusible à la température du corps, parfois soluble ou dispersible dans l'eau (Pharmacopée Européenne, 2011). Il existe deux mécanismes de libération du principe actif à partir des suppositoires. Le premier correspond à la libération du principe actif par fusion (à 37°C). Le second repose sur la libération du principe actif par dissolution de l'excipient dans l'ampoule rectale. Par conséquent, les suppositoires renferment le plus souvent d'autres excipients tels que les absorbants, les tensioactifs, les conservateurs antimicrobiens, antioxydants et les colorants autorisés (Le Hir, 1981; Allen, 2000; Readon, 1997; Schoonon, 1979). Ces derniers sont des substances inactives par elles-mêmes mais qui facilitent l'administration et la conservation du principe médicamenteux (Le Hir, 1981; Readon, 1997). Parmi ces substances, on distingue les excipients hydrophiles et les excipients lipophiles (Liversidge, 1981).

Les excipients lipophiles sont constitués essentiellement des glycérides hémi-synthétiques et des glycérides naturelles tel que le beurre de cacao. Djoko et al. (2018) dans leurs travaux portant sur la formulation des suppositoires et ovules à base de beurre de karité comme excipient, ont montré que ce dernier présente de grandes similitudes d'utilisation en cosmétique et en agroalimentaire avec le beurre de cacao. Après une analyse physique, chimique et pharmacotechnique, des échantillons de beurre de karité en provenance de la Région du Nord Cameroun ont été améliorés respectivement par la cire blanche et la silice colloïdale aux taux respectifs de 1, 2, 4 et 6 %. Ces auteurs sont parvenus à la conclusion que le beurre de karité amélioré avec 4% de silice colloïdale peut être valablement utilisé comme excipient pour suppositoires. Ce résultat scientifique associé à l'intérêt de l'Artemisinine dans le traitement du paludisme constitue notre motivation à mener cette étude. L'objectif de la présente étude est de formuler et fabriquer les suppositoires à visée antipaludique sous la base de matières premières locales disponibles telles que le beurre de karité et l'Artemisinine, composés chimiques extraits des plantes karité et *Artemisia annua* respectivement. Ce faisant, nous allons déterminer dans un premier temps le caractère organoleptique (couleur, odeur et saveur), les paramètres physicochimiques (granulométrie, humidité résiduelle, masse volumique apparente par tassement) et les indices caractéristiques (Indice de Carr et Indice de Hausner) de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*. Par la suite, nous allons procéder au dosage de l'Artémisine contenue dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* ainsi qu'à la formulation, dont la détermination des proportions des réactifs à utiliser (Poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* et beurre de karité amélioré avec 4% de Silice colloïdale). Enfin, nous procéderons à la fabrication des suppositoires à visé antipaludique en utilisant comme principe actif la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* et comme excipient le beurre de karité dans les proportions convenablement définies.

Cet article est constitué de cinq parties. La première partie est détaillée ci-dessus. La seconde partie porte sur la méthodologie de recherche. Dans cette partie sont présentés de manière détaillée l'ensemble du matériel utilisé ainsi que les différentes méthodes de collecte, d'analyse et de traitement des données. Tour à tour, nous avons présenté la méthode de collecte, de séchage et de préparation de la poudre des feuilles et tiges de *Artémisia annua*, les méthodes d'analyses physicochimiques (humidité résiduelle, granulométrie et volume apparent par tassement) et de détermination des indices caractéristiques (indices de Carr et de Hausner) de ladite poudre. Toujours dans cette même partie sont présentés les méthodes d'extraction et détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par le Trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) ainsi que celle de dosage de l'Artémisinine contenue dans cette poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*, suivie de la

formulation et de la fabrication des suppositoires. La troisième partie présente de manière claire, précise et concise les différents résultats de l'étude et leur interprétation. Ces résultats sont discutés dans la quatrième partie. L'étude s'achève à la cinquième partie par une conclusion.

1. Méthodologie

1.1. Collecte et séchage du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué essentiellement des feuilles et des tiges de *Artemisia annua* (Figure 1a) récoltés dans la ville de Bangangté, à l'Ouest du Cameroun. La récolte des feuilles et tiges de *Artemisia annua* s'est faite dès l'apparition du premier bouton floral, dans l'après midi (entre 13h et 15h) correspondant à la période de la journée où la plante accumule le plus de composés actifs dans sa partie aérienne. Les plantules utilisées pour la culture venaient du CIPCRE (Cercle International pour la Promotion de la Création) et identifiées à l'HNC (Herbier National du Cameroun) sous le numéro Voucher 65647/HNC. Après la récolte du matériel végétal a suivi le séchage. Le séchage a été effectué dans une salle bien aérée et ventilée d'air ambiant pendant 3 jours à l'abri du soleil. Pendant ce temps, la plante a été conservée à température ambiante (25°C) dans des sachets plastiques en polyéthylène de densité faible, solidement noués. Après transformation du matériel végétal (feuilles et tiges de *Artemisia annua*) en poudre (Figure 1b), une série de contrôles ont été effectués et exploités dans la suite.



(a)



(b)

Figure 1: Matière première constituant le principe actif lors de la formulation et de la fabrication des suppositoires à visée antipaludique à l'aide du beurre de karité contenant *Artemisia annua* cultivé à l'Ouest Cameroun comme excipient. (a) Feuilles et tiges de *Artemisia annua* ; (b) poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua*.

1.2. Essai organoleptique et détermination du taux d'humidité

L'essai organoleptique a consisté en la détermination du caractère macroscopique de la poudre des feuilles et tiges de *Artemisia annua*. Il s'est agit essentiellement d'apprécier la couleur, la texture, la saveur et l'odeur de la poudre obtenue après avoir séché et écrasé au moulin le mélange de feuilles et tiges de *Artemisia annua*. Le mode opératoire a consisté à observer la poudre des feuilles et tiges de *Artemisia annua*, à la toucher, à la sentir et à la goûter. Pour ce qui est du taux d'humidité, la méthode indiquée par Le Hir et al. (2009) a été utilisée. Au laboratoire, l'analyse s'est déroulée en deux intervalles: T=145°C, temps=10min; T=135°C, temps=30min. Le couvercle du dessiccateur infrarouge ouvert, une coupelle en aluminium a été placée sur ce dernier, puis taré. Enfin, 1g d'échantillon déjà préparé dans la coupelle en aluminium a été pesé.

1.3. Mesure de la masse volumique apparente par tassement

La mesure du volume en fonction du tassement a été effectuée à l'aide d'un volumétre. Ce dernier est une éprouvette graduée subissant des vibrations d'amplitude standardisée. La mesure du volume en fonction du tassement s'est faite sous très faible contrainte de manière à analyser l'aptitude de la poudre à se réarranger. Le mode opératoire a consisté à introduire, dans une éprouvette normalisée de 200ml, 50g de poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* non lubrifiée. La compressibilité de la poudre a été évaluée à partir de divers indices tels que l'indice de Carr (I_{Carr}) (Eq.1), l'indice de Hausner ($I_{Hausner}$) (Eq.2) et la quantité $V_{10}-V_{500}$ dans laquelle V_{10} est le volume de la poudre après 10 tassements et V_{500} le volume de la poudre après 500 tassements. Dans les équations précédentes (Eq.1), V_0 est le volume sans tassement:

$$I_{Carr} = \frac{V_0 - Volume_{tassée}}{V_0} \times 100 \quad (1),$$

$$I_{Hausner} = \frac{Volume_{aérée}}{Volume_{tassée}} \quad (2).$$

1.4. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique de la poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* s'est faite de deux manières afin de s'assurer de la véracité des résultats obtenus: d'abord la méthode directe ou tamisage puis la méthode indirecte ou diffraction laser. Dans le premier cas, chaque tamis a été pesé à 0,1g près. Un échantillon de poudre de 51g exactement pesé a été déposé dans le tamis du haut et recouvert d'un couvercle (Figure 2a). La colonne de tamis a été agitée pendant 5min puis chacun des tamis a été séparé avec précaution,

sans perte de matière. Le refus de chaque tamis a été de nouveau pesé et la masse déterminée. La même masse du produit collectée dans la base a été déterminée. La colonne de tamis a été réassemblée et agitée pendant 5min. Ensuite ; on a séparé et pesé à nouveau pour ledit tamis comme décrit précédemment. L'opération a été répétée autant de fois que nécessaire pour atteindre le dernier tamis. L'analyse une fois terminée, les masses obtenues ont été additionnées. Pour valider l'analyse granulométrique, un histogramme du pourcentage de poudre retenue en fonction du diamètre des tamis a été tracé (Figure 2b).

La diffraction laser quant à elle mesure les distributions granulométriques des particules, en mesurant la variation angulaire de l'intensité de lumière diffusée lorsqu'un faisceau laser traverse un échantillon de particules dispersées. Le principe de la méthode consiste à disperser un échantillon représentatif à concentration adéquate dans un gaz approprié (voie sèche) ou un liquide approprié (voie humide). Celui-ci est traversé par un faisceau de lumière monochromatique, généralement produit par une source laser. Les grosses particules diffractent la lumière à de petits angles par rapport au faisceau laser et les petites particules diffractent la lumière à des angles supérieurs. Les données relatives à l'intensité diffusée en fonction de l'angle sont analysées pour calculer la taille des particules qui ont créé l'image de diffraction sous la base de la théorie de Mie. La taille des particules est représentée par le diamètre de la sphère équivalente, ayant le même volume que la particule (Pharmacopée Européenne, 2011). Au laboratoire, deux échantillons de 1g et 2g respectivement de poudre de feuilles et de tiges de *Artemisia annua* non lubrifiée ont été dispersés dans la cellule de mesure avec une pression d'air de 0,8; 1 et 1,2 bar pour la méthode par voie sèche, à partir de la quelle le diamètre des particules a été déterminé.

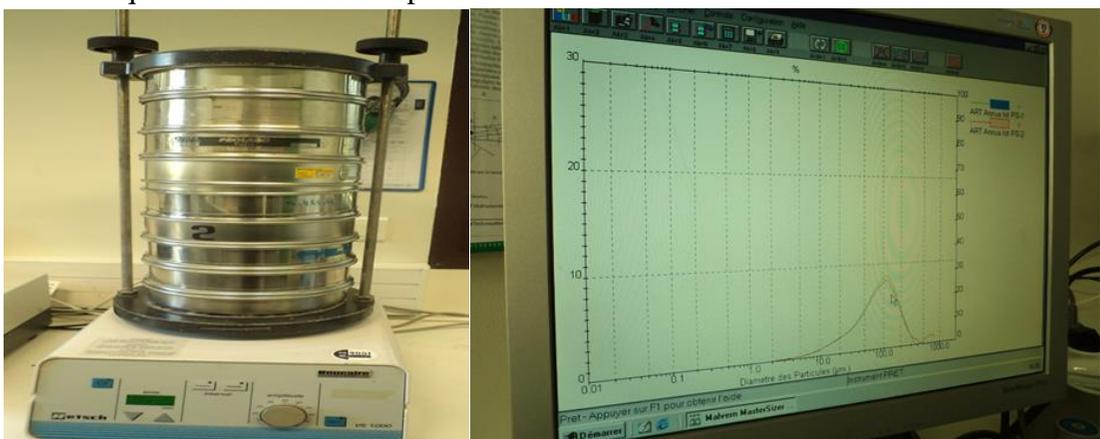


Figure 2: (a) colonne de tamis utilisé pour l'analyse granulométrique ; (b) histogramme du pourcentage de poudre retenue en fonction du diamètre des tamis.

1.5. Dosage de l'Artemisininine

Le dosage de l'Artemisininine s'est effectué en plusieurs phases. La première est la chromatographie sur couche mince densitométrie (CCMD). Cette phase a permis d'identifier et de déterminer la teneur en Artemisininine dans la gamme d'étalonnage de la poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua*. Le principe de la méthode est basé sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases dont l'une est stationnaire ou fixe et l'autre mobile. La CCMD s'effectue pour analyser un mélange. Sur la phase fixe sont déposées des microquantités du mélange à séparer et cette phase est mise au contact de la phase mobile. La phase mobile migre de bas en haut par capillarité le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. Chaque constituant migre à une certaine distance, caractéristique de la substance qui est appelée rapport frontal ou rétention frontale (R_f). Chaque tache correspond à un constituant et peut être identifiée par comparaison de son R_f avec celui d'un témoin. Au laboratoire, afin de déterminer la teneur en Artemisininine, une CCMD a été effectuée avec comme phase mobile un solvant constitué d'hexane/diéthyléther (1,2/1) et comme phase stationnaire de la silice sur support d'Aluminium. Cette opération a permis de vérifier la présence d'Artemisininine dans les différents échantillons. Une fois la plaque révélée, avec de l'Anisaldéhyde en milieu acide (acide acétique + acide sulfurique), elle a été chauffée à 100°C puis balayée afin d'obtenir un support numérique. Le logiciel MESURIM a été utilisé pour la lecture du scan de manière à tracer les courbes en fonction des absorbances au niveau de chaque tache sélectionnée. Ces absorbances correspondent à la teneur du composé étudié.

La seconde phase porte en la vérification de la présence d'Artemisininine dans la poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua*. Pour ce qui est du mode opératoire, 100mg de poudre de feuilles et de tiges ont été mixés pendant 30s dans 5ml de Toluène. L'extrait a été centrifugé (3770trs/min) pendant 5min. La concentration en Artemisininine a été établie en se référant à la droite d'étalonnage. Une solution mère d'Artemisininine à 1mg/ml a été préparée dans du Toluène. 5 standards ont été préparés à partir de cette solution pour être déposés sur la plaque de silice. Leurs concentrations en Artemisininine étant de 50, 100, 150, 200, et 250µg/ml. La lecture a été faite par le logiciel MESURIM. La droite d'étalonnage a été tracée en rapportant avec la concentration en Artemisininine à la surface de la tache du dépôt. Sur une plaque avec gel de silice (10x20cm), ont été déposés des extraits à 15mm du bord inférieur de la plaque à 5mm, 15mm, à 25mm, 35mm, 45mm, 55mm de largeur. Le développement ayant duré 60min. La révélation a été effectuée en pulvérisant sur la plaque une solution composée d'acide acétique, d'acide sulfurique et d'anisaldéhyde pendant 10s, puis en portant pendant 10min à l'étuve à 100°C. Après migration, la plaque a été révélée et les R_f des différentes taches ont été calculés.

Le dosage de l'Artemisinin dans la poudre de feuilles et de tiges de *Artemisia annua* par la CCMD représente la troisième phase du dosage de l'Artemisinin. Cette phase consiste à déterminer la capacité de la méthode d'analyse à donner des résultats proportionnels à la concentration de la substance à analyser. Pour cette phase, la solution standard a été préparée à partir de 1mg d'Artemisinin pure dissout dans 1ml de Toluène. Quant à la gamme d'étalonnage, celle-ci a été faite dans une série de tubes de concentrations croissantes. Ensuite, des dépôts ont été effectués sur la plaque CCMD équivalent à 2µl d'Artemisinin. Les aires sous la courbe lues à l'aide du logiciel MESURIM ont permis de tracer la droite de régression à partir de laquelle le coefficient de corrélation a été calculé. 2µl de chaque solution ont été déposés sur la plaque de silice préalablement activée (c'est-à-dire chauffé à l'étuve à 100°C pendant 1h). Après migration et révélation, la plaque a été scannée et lue avec le logiciel MESURIM. Les valeurs obtenues ont été utilisées pour tracer la droite d'étalonnage. La migration a été effectuée dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (1,2/1). La révélation de la plaque a été faite avec de l'acide acétique + acide sulfurique + l'anisaldéhyde dans les proportions (10/0,2/0,1) avant d'être chauffée à 100°C sur une plaque chauffante. 03 essais ont été réalisés. Après la CCMD et la lecture au densitomètre, des valeurs pour chaque tache de chacune des plaques ont été obtenues. Par la suite, la moyenne des valeurs pour chaque tache ainsi que l'écart-type et le coefficient de variation de chacun ont été calculés. En utilisant la droite d'étalonnage $Y = a + bX$, la limite de détection est la plus petite concentration que l'on peut distinguer du blanc. C'est la valeur à partir de laquelle un test statistique de comparaison de la réponse à la valeur 0 devient significatif. Il vient donc les équations ci-dessous (Eq.3 et Eq.4) dans lesquelles Y_{LD} est la densité optique pour $X = 0$ et S_a l'écart-type sur l'ordonnée à l'origine de la droite de régression.

$$Y_{LD} = a + 3S_a \quad (3),$$

$$X_{LD} = \frac{a + 3S_a}{b} \quad (4).$$

1.6. Extraction et détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par le Trichlorure d'Aluminium (AlCl₃)

L'extraction des flavonoïdes est basée sur leur solubilité dans les solvants polaires tels que l'eau et l'alcool. 4g de poudre de feuilles et tiges séchées ont été macérés dans 100ml du mélange éthanol/eau distillée (7/3) à froid avec renouvellement deux fois de suite du solvant laissé à 4°C pendant 24h à chaque renouvellement. Cette opération a permis de solubiliser les

flavonoïdes. Après filtration, les solvants ont été évaporés à l'étuve à 35°C. Ensuite chaque extrait a été repris dans 25ml d'éthanol à 70°C et débarrassé de la chlorophylle, des lipides, des cires et des graisses par lavage avec 25ml d'éther de pétrole. La teneur en flavonoïdes a été déterminée dans la phase aqueuse. En revanche, la détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par le trichlorure d'Aluminium (AlCl₃) est une méthode de dosage basée sur la formation d'un complexe de couleur jaune résultant de la liaison entre l'AlCl₃ et les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes. A 1ml de chaque extrait préalablement dissout est ajouté 1ml de solution d'AlCl₃. Après 1h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420nm. La teneur en flavonoïdes est calculée en termes de mg d'équivalent de quercétine par g de matière sèche.

1.7. Formulation galénique

En vue de la formulation galénique, le choix de l'excipient a été fait en fonction des caractéristiques du principe actif, de l'indice d'hydroxyle, du point de fusion et de la température de coulée et de prise en masse. Pour la détermination du facteur de déplacement, deux séries de six suppositoires pour enfant ont été préparées. La première série ne contenant que de l'excipient (beurre de karité+4% de silice colloïdale) et la seconde série contenant de l'excipient additionné à la poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua*. La masse des deux séries de suppositoires ainsi que la masse totale de poudre de *Artemisia annua* ont permis par la suite de déterminer le facteur de déplacement suivant l'équation 5. Dans cette équation, les paramètres x , y , p et $y - p$ représentent respectivement le poids de l'excipient pur, le poids des six suppositoires (poudre de feuilles et de tiges de *Artemisia annua* additionnée à l'excipient) de la série, la quantité de principes actifs à répartir dans la série ainsi que la masse en grammes d'excipient.

$$f = \frac{x - (y - p)}{p} \quad (5).$$

1.8. Préparation des suppositoires

La préparation des suppositoires n'est réellement possible qu'après détermination de la formule unitaire des suppositoires. Connaissant le facteur de déplacement et la quantité de poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* par suppositoire, la masse exacte d'excipient à utiliser est donnée par l'équation 6 dans laquelle M est la quantité totale d'excipient à utiliser en grammes, F la contenance du moule pour le nombre de suppositoires à fabriquer, f le facteur de déplacement du principe actif et S la quantité de principe actif pour le nombre de suppositoire à fabriquer. $M(g)$ de beurre de

karité+4% de silice colloïdale et S(g) de poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua*, quantités majorées à 10% pour couvrir les pertes, ont été utilisés pour préparer 6 suppositoires. Après fonte du beurre de karité dans un mortier préalablement chauffé, la silice colloïdale à 4% a été ensuite ajoutée, puis la poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* sous agitation constante. L'agitation a été maintenue jusqu'au début de l'épaississement de la préparation, moment où a eu lieu la coulée dans les alvéoles des moules. Après 10min, l'excédent de masse a été raclé et les moules ont été laissés à la température du laboratoire jusqu'à durcissement complet. Le Tableau I présente les étapes détaillées de fabrication des suppositoires à visée antipaludique pédiatriques à base de *Artemisia annua* en prenant le beurre de karité amélioré avec 4% de silice colloïdale comme principal excipient.

$$M = f - (F \times S)$$

(6).

Tableau I. Synoptique de fabrication des suppositoires à visée antipaludique chez les enfants à l'aide du beurre de karité+4% de silice colloïdale contenant *Artemisia annua* cultivé à l'Ouest Cameroun. **Source :** Travail original.

Étape	Lieu	Parcours des produits
1	Mortier	Introduction de la masse d'excipient (beurre de karité) avec un excédent de 10 %, préalablement chauffé, dans le mortier puis de 4% de silice colloïdale anhydre.
2		Ajouter de la quantité de poudre de feuilles et tiges de <i>Artemisia annua</i> nécessaire pour remplir les six (6) alvéoles du moule, puis agitation.
3	Moule	Couler du mélange dans le moule avant prise totale en masse.
4		Refroidissement jusqu'à la prise totale en masse.
5		Démoulage et conditionnement du produit fini.

2. Résultats

Dans cette partie, l'ensemble des résultats présentés regroupe :

- Le caractère organoleptique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* ;

- Les résultats d'analyse physicochimique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* ;
- Les valeurs des indices caractéristiques de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* ;
- La concentration en flavonoïdes totaux par le $AlCl_3$ et d'Artémisinine dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*;
- Les résultats de formulation, de fabrication et du contrôle pharmaceutique des suppositoires.

2.1. Caractère organoleptique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*

Le caractère organoleptique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique en utilisant le beurre de karité amélioré à 4% de Silice colloïdale comme excipient est indiqué dans le Tableau II. Le Tableau II montre que la poudre des feuilles et tiges de *Artemisia annua* utilisée pour la fabrication des suppositoires à visée antipaludique est de couleur grisâtre, très odorante et de saveur amère.

Tableau II. Caractères organoleptiques de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique. **Source :** Résultat original.

Paramètre	Couleur	Saveur	Odeur
Caractère organoleptique	Grisâtre	Amère	Très caractéristique

2.2. Analyse physicochimique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*

Les résultats d'analyse physicochimiques de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique en utilisant le beurre de karité amélioré à 4% de Silice colloïdale comme excipient sont indiqués dans les Tableaux III à VI. Ces résultats montrent que la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée a une granulométrie allant de très fine à fine. L'humidité résiduelle moyenne de la poudre de *Artemisia annua* est de 12,35 % par séchage à l'étuve et 12,69 % par séchage à l'infrarouge. Le volume moyen obtenu sans tassement est de $V_0 = 200$ ml et ceux obtenus après 10, 500 et 1250 tassements (V_{10} , V_{500} , V_{1250}) sont respectivement 192, 156 et 154ml.

Tableau III. Granulométrie de la poudre de *Artémisia annua* obtenue par tamisage. **Source :**
Résultat original.

Numéro ou diamètre tamis (μm)	Refus (g)	Pourcentage de poudre retenue (%)	Refus cumulé (g)	Pourcentage de refus cumulé (%)	Pourcentage des tamisats cumulés (%)
1000	0,6	1,17	0,6	1,88	98,81
710	0,65	1,27	1,25	2,47	96,36
500	0,6	1,17	1,85	3,66	92,7
315	0,45	0,8	2,3	4,55	88,15
250	0,75	1,47	3,05	6,03	82,11
125	2,4	4,7	5,45	10,79	71,32
63	28,75	56,37	34,2	67,76	3,55
Fond du tamis	16,35	32,05	50,45	100	96,44

Tableau IV. Granulométrie de la poudre de *Artémisia annua* obtenue par diffraction laser. **Source :** Résultat original.

Paramètre	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Moyenne
Pression (bar) en fonction du diamètre D du tamis utilisé	0,8	1	1,2	/
D(10)	19,6	18	19,1	18,9 \pm 0,8
D(50)	84,5	84	86,1	84,8 \pm 1,1
D(90)	188,4	202	216	202,1 \pm 9,8

Tableau V. L'humidité résiduelle de la poudre en fonction des méthodes de séchage. **Source :** Résultat original

Méthode de séchage	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Moyenne de l'humidité résiduelle (%)
Etuve 105 °C pendant 24 h	12,60	12,26	12,21	12,35 \pm 0,27
Infra rouge	12,66	12,72	/	12,69 \pm 0,04

Tableau VI. Différents volumes obtenus après tassement. **Source :** Résultat original

Volume (ml)	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai moyen
V₀	200	200	200	200,00 \pm 0,00
V₁₀	192	190	194	192,00 \pm 1,41
V₅₀₀	156	156	156	156,00 \pm 0,00
V₁₂₅₀	154	154	154	154,00 \pm 0,00

2.3. Indices caractéristiques de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*

Les indices caractéristiques (indices de Carr et de Hausner) de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique en utilisant le beurre de karité amélioré à 4% de Silice colloïdale comme excipient sont indiqués dans le Tableau VII.

Tableau V. Indices caractéristiques de la poudre de *Artemisia annua* comparés aux valeurs indiquées par la Pharmacopée Européenne. **Source :** Résultat original

Indices	Résultats	Intervalles de valeurs des indices caractéristiques de la poudre de <i>Artémisia Annua</i> selon la Pharmacopée Européenne (2011).
Indice de Hausner (I_{Ha})	1,3	$1 < I_{Ha} < 1,2$ légèrement compressible et cohésive $1,2 < I_H < 1,4$ compressible et cohésive
Indice de Carr (I_{Carr})	23	23-35 coulabilités médiocres
$V_{10}-V_{500}$	36	< 20 ml bonne réorganisation de la Poudre

2.4. Extraction, détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par le Trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$) et dosage de l'Artémisinine

Les résultats d'extraction et la détermination de la teneur en flavonoïdes totaux par le $AlCl_3$ ainsi que ceux du dosage d'Artémisinine contenue dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* utilisée pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique en utilisant le beurre de karité amélioré à 4% de Silice colloïdale comme excipient sont indiqués dans les Tableaux VIII et IX. Ces tableaux montrent que la concentration en flavonoïdes totaux de la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* est de 76,9 $\mu\text{g/ml}$ d'équivalent de quercétine. Par ailleurs, le coefficient de variation moyen inférieur à 5 % (3,94 %) traduit une bonne répétabilité de la méthode.

Tableau VIII. Evaluation de la répétabilité de la méthode de dosage de l'Artemisinine.

Source : Résultat original.

Concentration en Artémisinine ($\mu\text{g/ml}$)	Moyennes des surfaces sous la courbe	Ecart type	Coefficient de variation (%)
50	601	0,5	0,08
100	1112	0,53	0,04
150	1518	0,53	0,03
200	1965	0,53	0,02
250	2457	0,52	0,02
Moyenne			0,03

Tableau IX. Évaluation de la répétabilité de la méthode de dosage des flavonoïdes. **Source :**
 Résultat original.

Concentration de quercétine (µg/ml)	Absorbance (429 nm)	Coefficient de variation (%)
5	0,150 ± 0,002	1,73
10	0,317 ± 0,014	4,41
15	0,499 ± 0,023	4,66
20	0,671 ± 0,029	4,32
25	0,852 ± 0,039	4,58
Moyenne		3,94

2.5. Formulation, fabrication et contrôle qualité des suppositoires

Suite aux résultats d'analyse du principe actif présentés dans les sections précédentes ainsi que ceux de l'excipient obtenu par Djoko et al. (2018), la formule obtenue pour un suppositoire consiste à additionner 250mg de poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* à 1820mg de beurre de karité+à 4% de silice colloïdale. Après fabrication, les suppositoires obtenus sont illustrés à la Figure 3. Le contrôle qualité des produits finis a porté essentiellement sur le caractère organoleptique, l'uniformité de masse, le temps de désagrégation, le temps de fusion ainsi que la détermination de la teneur en Artémisinine du produit. Dans le premier cas, les suppositoires à visée antipaludique contenant *Artemisia annua* fabriqués sont de forme torpille, d'aspect brillant, de couleur noirâtre, de texture lisse, sans fissures et homogène. La masse moyenne des suppositoires fabriqués à visée antipaludique à l'aide du beurre de karité contenant *Artémisia annua* est de 2,15g avec un écart maximum tolérable $e = 5\%$, soit $e = 0,10g$. Pour ce qui est du temps de désagrégation, le test a été effectué sur une série de 6 suppositoires. Au bout de 8min16s, tous les suppositoires se sont désagrégés. Pour ce qui est du point de fusion, une valeur moyenne de $35,7 \pm 0,3^{\circ}C$ a été obtenue. Les suppositoires fabriqués ont été conservés à l'abri de la lumière. Au bout de 4 semaines, le dosage de l'Artémisinine a été effectué dans le but d'apprécier la stabilité de la teneur en Artémisinine. Le résultat obtenu a révélé une teneur en Artémisinine de 6,35% pour un suppositoire de 2g dosé à 250mg de poudre totale de feuilles et tiges de *Artémisia annua*, ce qui représente 0,5% d'Artémisinine comme dans la matière première. Ces différentes valeurs obtenues suite au contrôle qualité des produits finis sont dans les plages de valeurs que recommande la Pharmacopée Européenne (2011). Le conditionnement des produits finis a consisté à les conserver dans des moules emballages et conditionnés dans une boîte portant chacune une étiquette sur laquelle sont mentionnées les informations indiquées dans le Tableau X.



Figure 3: Suppositoires à visée antipaludique fabriqués à base du beurre de karité+4% de silice colloïdale et contenant *Artemisia Annuua* cultivé à l’Ouest-Cameroun

Tableau X. Informations inscrites sur les étiquettes des moules emballages des suppositoires à visée antipaludique formulés et fabriqués à l’aide du beurre de karité contenant *Artémisia annua* cultivé à l’Ouest Cameroun. **Source :** Résultat original.

Désignation	Information
Nom du médicament	Palustop Plus
DCI	Poudre de <i>Artemisia annua</i>
Excipient	Beurre de karité + 4 % de silice colloïdale
Forme galénique	Suppositoire
Dosage	250 mg
Numéro de lot	14S – 001
Date d’expiration	/
Présentation	Boîte de 12 suppositoires enfants
Composition	250mg de poudre de <i>Artémisia annua</i> exprimée en 1,25 mg d’Artémisinine et 0,03 mg équivalent de quercétine
Indication	Palustop Plus est indiqué pour le traitement du paludisme simple

3. Discussion

La Détermination du caractère organoleptique a montré que la poudre des feuilles et tiges de *Artemisia annua* utilisée pour la fabrication des suppositoires à visée antipaludique est de couleur grisâtre, très odorante et de saveur amère. Cette amertume a été également confirmée par Willcox et al. (2011) et N'Guessan et al. (2019). Ce goût désagréable peut être la cause du refus par les enfants de la limonade de *Artémisia Annu*a sous forme de tisane. Une remarque qui a été également faite par N'Guessan et al. (2019) qui, dans leur étude ont relevé que l'amertume de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia Annu*a pourrait influencer négativement l'observance du traitement par les tisanes notamment chez les enfants. Suite à cette amertume, Willcox et al. (2011) ont proposé l'ajout d'un édulcorant pour faciliter l'administration des tisanes tandis que N'Guessan et al. (2019) ont vu en la formulation des comprimés un moyen d'améliorer cet inconvénient surtout à l'aide d'un enrobage.

Les valeurs moyennes de taux d'humidité résiduelle de la poudre de *Artémisia annua*, obtenues par séchage à l'étuve à 105°C pendant 24h et par séchage par rayonnement infra-rouge sont respectivement 12,35% et 12,69 %. Ces valeurs du taux d'humidité résiduelle de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* sont très proches de la valeur indiquée par la littérature, qui prévoit un taux d'humidité de 11,4% (Agarwal et al., 2009). Cette valeur élevée de la teneur en eau dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* peut favoriser d'éventuelles réactions enzymatiques ainsi que le développement de microorganismes (Iqbal et al., 2012). Toutefois, des valeurs plus faibles, et particulièrement en dessous de 10% sont recommandées par Pharmacopée Européenne (2011). La faible teneur en eau de poudre de feuilles et tiges de *Artémisia Annu*a laisse présager pour une bonne conservation des suppositoires à température ambiante.

Pour évaluer les propriétés rhéologiques de la poudre de *Artémisia annua*, le test de compressibilité sur la poudre a permis de déterminer les indices de Carr et de Hausner qui sont respectivement de $23 \pm 0,9$ et $1,3 \pm 0,5$. Ces résultats sont en adéquation avec ceux de N'Guessan et al. (2019), et traduisent selon Blanco et al. (2020), la médiocrité de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* à l'écoulement. En revanche, la différence des volumes moyens obtenus après 10 et 500 tassements (V_{10} et V_{500}) a donné une valeur de 36, caractéristique d'une réorganisation moyenne de la poudre de *Artémisia annua* selon la Pharmacopée Européenne (2011).

L'analyse granulométrique de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* montre que cette dernière a une granulométrie allant de très fine à fine. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Begat et al. (2004). Ces derniers ont montré qu'une telle finesse de la poudre de feuilles et tiges de

Artémisia annua pourrait expliquer sa mauvaise aptitude à l'écoulement et à contrario, traduire sa forte cohésivité.

Le dosage de la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* au $AlCl_3$ par la CCMD a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche. Les travaux de Ogwang et al. (2011) ont également révélé la présence des flavonoïdes dans la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua*. Dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua*, ce sont l'Artémisinine et les flavonoïdes qui agissent en synergie (Bilia et al., 2006). En effet, les flavonoïdes présents dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia Annua* favoriseraient l'absorption intestinale de l'Artémisinine en inhibant les enzymes responsables de la métabolisation de l'Artémisinine (N'Guessan et al., 2019). Les flavonoïdes présents dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* auraient également des propriétés immunomodulatrices bénéfiques chez les sujets atteints de maladies parasitaires (Ferreira et al., 2010 ; Bilia et al., 2006). La poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* utilisée comme matière première pour la formulation et la fabrication des suppositoires à visée antipaludique a une concentration en flavonoïdes de 76,9µg/ml d'équivalent de quercétine. Ce résultat est très différent de ceux obtenus par Weathers et Towler (2012), Weathers et Towler (2014) et N'Guessan et al. (2019) qui ont obtenu respectivement des taux de 2,97mg/g ; 5,04mg/g ; 18,32mg/g et 8,8mg/g . Cette différence s'explique par plusieurs facteurs, et notamment l'origine des variétés de *Artémisia annua* utilisées dans les différentes études, les conditions de croissance mais aussi les variations saisonnières et géographiques de ces plantes comme le montre bien Iqbal et al. (2012) et Soni et al. (2015). Toutefois, la valeur de la concentration en flavonoïdes dans la poudre de feuilles et tiges de *Artémisia annua* est 03 fois plus faible que celle obtenue par Chougouo et al. (2012), ce qui peut être justifié par le fait que la poudre utilisée soit un mélange de feuilles et de tiges de *Artémisia annua*.

Le caractère organoleptique et les valeurs limites des masses des suppositoires à visée antipaludique formulés et fabriqués à l'aide du beurre de karité contenant *Artémisia annua* cultivé à l'Ouest Cameroun sont en conformité aux exigences de la Pharmacopée Européenne (2011). L'élévation du point de fusion facilite l'administration du suppositoire.

Conclusion

Il a été question dans cette étude de formuler et fabriquer les suppositoires à visée antipaludique à l'aide du beurre de karité contenant *Artémisia annua* cultivé à l'Ouest Cameroun comme principe actif. La poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia annua* utilisée est de couleur grisâtre, de saveur amère et très odorante. L'analyse granulométrique a montré qu'il s'agit d'une poudre à granulométrie allant de très fine à fine. La concentration

en flavonoïdes totaux de la poudre de feuilles et tiges sèches de *Artémisia Annua* est de 76,9µg/ml équivalent de quercétine. La formule retenue pouvant permettre une fabrication des suppositoires à visée antipaludique a consisté à additionner 250mg de poudre de feuilles et tiges de *Artemisia annua* à 1820mg de beurre de karité+4 % de silice colloïdale anhydre. Le contrôle pharmaceutique des suppositoires fabriqués a donné des valeurs des paramètres pharmacotechniques en adéquations aux valeurs standards. La forme galénique issue de cette formule pourrait présenter d'énormes avantages pour la qualité de prise en charge des patients et essentiellement les enfants.

Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

References:

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) : 98-100. DOI : 10.4103/0250-474X.51948
2. Allen, L.V. (2000). Compounding suppositories Part I: Theoretical considerations. Int J Pharm compd, 4(4):289-293. PMID: 23985394.
3. Basco, L.K. (2003). Molecular Epidemiology of Malaria in Cameroon: Longitudinal surveillance of in vitro pyriméthamine resistance in Plasmodium falciparum. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 69(2): 174-78. ISSN : 0002-9637.
4. 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. Doi:10.1023/B:PHAM.0000041453.24419.8a
5. 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. DOI : 10.1016/j.phymed.2006.01.008
6. Blanc, B., Weniger, B., Nicolas, J.-P². (2008). Réflexions autour de la culture d'*Artemisia annua* et de la production d'artémisinine, Ethnopharmacologia, 41: 82-88. [En ligne]. Consulté le 10 Mai 2022. URL : <https://www.jardinsdumonde.org/wp-content/uploads/2016/03/R%C3%A9flexions-autour-de-la-culture-Artemisia-annua-Barbara-Blanc-Bernard-Weniger-Jean-Pierre-Nicolas.pdf>

7. 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* 581, 119280 : 1-10. DOI : 10.1016/j.ijpharm.2020.119280
8. Chekem, L., Wierucki, S. (2006). Extraction de l'Artémisinine et synthèse de ses dérivés Arthésunate et Artéméther. *Med. Trop.* 66: 602-605. DOI : 10.1007/s10298-007-0218-6
9. Chougouo, R., Chuipet, G., Kouamouo, J., Fomekong, D., Lutgen, P., Kouemeni, L. et al. (2013). Validation of pediatric galenic form of antimalarial with *Artemisia annua*>> 6th MIM Pan-African Malaria Conference, Durban in South Africa, 143. [En ligne]. Consulté le 02 Juin 2022. URL : <https://mesamalaria.org/sites/default/files/2018-12/MIM%20abstract%20book%20Oct%202013.pdf>
10. Chougouo, R., Kouamouo, J., Moyou- Somo, R. A. (2012). Penge on'Okoko: Comparative Study of the therapeutic efficacy of artesunate alone or in combination with amodiaquine and tea of *Artemisia annua* cultivated in West Cameroon. *Journal of Pharmaceutical, Biomedical and Natural Sciences, Annals of Pharmacy, University of Kinshasa*, 4(1) : 127-48.
11. Danis, M., Genetili, M. (1998). Le paludisme, ce fléau mondial. *Revue du praticien* 48: 254-56.
12. Davis, T.M., Karunajeewa, H.A., Ilett, K.F. (2005). Artemisinin-based combination therapies for uncomplicated malaria. *Med. J. Aust*, 2 1 : 181-5.
13. Djoko, E., Tematio, N.L.F., Chougouo, R., Wouessidjewe, D. (2018). Essai de formulation de suppositoires et ovules à base de beurre de karité utilisé comme excipient. *Phytothérapie* : 1-7. DOI : 10.3166/phyto-2018-0065.
14. 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. DOI : 10.3390/molecules15053135
15. 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.
16. Le Hir, A. (1981). *Abrégé de pharmacie galénique formes pharmaceutiques*. 3^e édition Revue et Complétée. Edité par Masson : 295-306. ISBN 10 : 2225676399 ISBN 13 : 9782225676390.

17. Le Hir, A., Chaumeil, J.-C., Brossard, D. (2009). Contrôle granulométrique des poudres. In: Janot M. dir. Pharmacie Galénique: Bonne pratique de fabrication des médicaments, Paris, Masson : 126-128.
18. Liversidge, G.G., Grant, D.J.W., Padfield, J.M. (1981). Influence of physic-chemical interactions on the properties of suppository I. Interactions between the constituents of fatty suppository bases. *International Journal of Pharmaceutics*, 7(3): 211-223. DOI : [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(81\)90107-1](https://doi.org/10.1016/0378-5173(81)90107-1).
19. Lutgen, P. (2009). La tisane de *Artemisia annua* une puissante polythérapie: Maladies tropicales, aspects humanitaires et scientifiques; Luxembourg, 4:24-56.
20. N'Guessan, A., Chougouo Nkuitchou, R.D.K., Any-Grah, S.A., Dally, I.L., Tuo, A., Lia, A.J.L., N'Guessan, C., Koffi, A.A. (2019). Formulation de comprimés à base de feuilles et de tiges à base d'*Artémisia Annu*. *Cah. Santé Publique*, 1(18) : 59-74.
21. Ogwang, P.E., Ogwal, 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. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 1 (4) : 124-132. DOI : 10.9734/BJPR/2011/392
22. Pharmacopée européenne, 7^{ème} édition. (2011). Edition du conseil de l'Europe, Strasbourg, 602-608.
23. Realdon N., Ragazzi, E., Dal Zotto, M., Dalla Fini, G. (1997). Layered excipient suppositories: the possibility of modulating drug availability. *International Journal of Pharmaceutics*, 148(2): 155-163. DOI : [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(96\)04841-7](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(96)04841-7)
24. Robert, A., Benoit-Vical, F., Claparols, C., Meunier, B. (2005). The antimalarial drug artemisinin alkylates heme in infected mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102(38):13676-13680. DOI : 10.1073/pnas.0500972102
25. Schoonon, A.J.M., Moolenaar Internal person, F., Huizinga, T. (1979). Release of drugs from fatty suppository bases I: the release mechanism. *International Journal of Pharmaceutics*, 4(2), 141-152. DOI : [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(79\)90062-0](https://doi.org/10.1016/0378-5173(79)90062-0)
26. 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.
27. SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de la Langue Française). (2008). Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *plasmodium falciparum* : recommandations pour la pratique clinique 2007 (révision de la conférence de consensus 1999) texte long. *Réanimation* 17 : e1-e54. DOI : 10.1016/j.reaurg.2008.03.004.

28. Talapko, J., Skrlec, I., Alebic, T., Jukic, M., Vcev, A. (2019). Malaria : the past and the present. *Microorganisms*, 7(179) : 1-17. Doi : 10.3390/microorganisms7060179
29. 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. DOI : 10.1055/s-0032-1314949
30. 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. DOI : 10.1016/j.indcrop.2014.08.033
31. 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(84): 1-6. [En ligne]. Consulté le 03 Septembre 2021. URL : <https://malariajournal.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1475-2875-10-84.pdf>