

## **Essai de Production d'extrait Bioactif et Bio-aromatisant à Partir des Racines de *Mondia whitei* (Hook f.) Skeels (Apocynaceae) d'écologie Béninoise**

***Balbine Fagla Amoussou,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

***Marius Eric Badoussi,***

Ecole Nationale Supérieure de Biosciences et Biotechnologies Appliquées, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques, Dassa-Zoumé, Bénin

***Saturnin Houndji,***

***Saliou Odjegnide,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

***Joachim Gbenou,***

Faculté des Sciences et Techniques de Natitingou, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques

***Polycarpe Kayode,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

Doi:10.19044/esj.2019.v15n21p339 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n21p339](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n21p339)

---

### **Résumé**

*Mondia whitei* est une plante médicinale et aromatique populaire endémique en Afrique tropicale utilisée dans le traitement de diverses affections humaines et pour l'aromatisation de plusieurs aliments . Le présent travail vise à déterminer les meilleures conditions d'extraction des extraits bioactifs et aromatisants des racines de *M. whitei* pour une utilisation efficiente des vertus de ce dernier. A cet effet, une caractérisation des racines de cette plante a été réalisée à travers l'évaluation de sa toxicité larvaire, le criblage phytochimique et la recherche de l'isovanilline. Ensuite, la méthode de réponse de surface à travers un plan composite centré a été utilisée pour la détermination des conditions d'extraction. Les paramètres d'extraction variés sont la température d'extraction (25 à 75°C) et la composition du solvant (eau et chlorure de méthylène : 0 à 100%). La qualité des différents extraits obtenus lors de l'exécution du plan expérimental a été évaluée à travers la

détermination de leur densité en vanilline, en anthocyanes, de leur teneur en phénols totaux et de leur activité antioxydante. Il a été révélé la non toxicité des racines de *M. whitei* ( $CL_{50} > 0,1\text{mg/mL}$ ) et la présence de l'isovalline dans les racines. Le criblage phytochimique a mis en exergue la présence de huit groupes phytochimiques ayant des activités pharmacologiques avérées. L'analyse de la variance a montré que seule la composition du solvant d'extraction (eau – chlorure de méthylène) a eu un effet significatif ( $P < 0,05$ ) sur la qualité des extraits notamment la densité en vanilline, en anthocyanes et la teneur en phénols totaux avec des coefficients de détermination respectivement de 0,753, 0,734 et de 0,596 pour des valeurs maximales respectives de 3,00 UA (Unité d'Absorbance)/g, 1,29 UA/g et 0,426 g/100 g. Par ailleurs, aucun des paramètres d'extraction n'a affecté l'activité antioxydante des extraits. La détermination de la teneur en vanilline des racines de *Mondia whitei*, peut servir de marqueur de contrôle de qualité des racines de *Mondia whitei*. Il faudra définir d'autres paramètres pour une extraction optimale des principes bioactifs des racines de *Mondia whitei*.

---

**Mots-clés :** Phytothérapie, Bénin, toxicité larvaire, vanilline, criblage phytochimique, activité antioxydante

## **Bioactive and Bio-flavoring Extract Production Test from the Roots of *Mondia whitei* (Hook f.) Skeels (*Apocynaceae*) of Beninese Ecology**

***Balbine Fagla Amoussou,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

***Marius Eric Badoussi,***

Ecole Nationale Supérieure de Biosciences et Biotechnologies Appliquées, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques, Dassa-Zoumé, Bénin

***Saturnin Houndji,***

***Saliou Odjegnide,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

***Joachim Gbenou,***

Faculté des Sciences et Techniques de Natitingou, Université Nationale des Sciences, Technologies, Ingénierie et Mathématiques

***Polycarpe Kayode,***

Ecole de Nutrition et des Sciences et Technologies Alimentaire, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin

---

### **Abstract**

*Mondia whitei* is a popular medicinal and aromatic plant endemic in tropical Africa used in the treatment of various human ailments and for the flavoring of several foods. This paper focuses on determining the best conditions for extraction of bioactive and flavoring extracts from the roots of *M. whitei* for an efficient use of its virtues. To this end, a characterization of the roots of *Mondia whitei* was made through the evaluation of its larval toxicity, phytochemical screening, and the search for isovanillin. Then, the surface response method across a central composite design was used to determine the extraction conditions. The extraction parameters varied are the extraction temperature (25 to 75 ° C) and the solvent composition (water and methylene chloride: 0 to 100%). The quality of the extracts obtained during the execution of the experimental plan was evaluated through the determination of their vanillin density, anthocyanins, their content of total phenols, and their antioxidant activity. The non-toxicity of *M. whitei* roots (CL

50 > 0.1mg / mL) and the presence of isovalline in the roots were revealed. Phytochemical screening has highlighted the presence of eight phytochemical groups with proven pharmacological activities. Analysis of the variance showed that only the composition of the extraction solvent (water - methylene chloride) had a significant effect ( $P < 0.05$ ) on the quality of the extracts, especially the density in vanillin, in anthocyanins, and the total phenol content. This is with coefficients of determination of 0.753, 0.734 and 0.596 for respective maximum values of 3.00 AU (Absorbance Unit) / g, 1.29 AU / g and 0.426g/100g respectively. In addition, none of the extraction parameters affected the antioxidant activity of the extracts. The determination of the vanillin content of *Mondia whitei* roots can serve as a quality control marker for *Mondia whitei* roots. It will be necessary to define other parameters for optimal extraction of the bioactive principles of *Mondia whitei* roots.

---

**Keywords:** Phytotherapy, Benin, Larval toxicity, Vanillin, Phytochemical screening, Antioxidant activity

## Introduction

L'utilisation de remèdes à base de plantes est très répandue dans les pays développés et en développement (Olaku & White, 2011). Ce type de traitement est d'une importance vitale pour les populations dépourvues d'autres options de soins de santé. En 2002, l'Organisation Mondiale de la Santé estimait que 80% de la population mondiale des pays en développement dépendaient des plantes et des praticiens de la médecine traditionnelle pour satisfaire leurs besoins en soins de santé primaires (WHO, 2002). En outre, l'utilisation de plantes médicinales et l'analyse subséquente des principes actifs ont joué un rôle important dans la formation de nombreux médicaments modernes. Au cours des deux dernières décennies, les pays développés et en développement ont enregistré une augmentation significative de la demande de médicaments à base de plantes, avec des ventes mondiales estimées à 60 milliards de dollars EU (Hoareau & DaSilva, 1999).

Au nombre des plantes médicinales d'écologie béninoise se trouve *Mondia whitei* (Hook.f.) Skeels (Akouegninou et al., 2006). Appartenant à la famille des Apocynaceae, sous-famille des Periplocoideae *M. whitei* est un grimpeur ligneux vivace mesurant de 3 à 6 m de hauteur, avec des tiges retors qui exsudent du latex blanc lorsqu'il est coupé. Elle a de grandes feuilles cordiformes, opposées. La surface poilue doux et de stipules distinctives en forme d'étoile (Ross, 1978). Les fleurs de couleur pourpre rougeâtre et des inflorescences ramifiées (Watcho et al., 2004).

En Afrique tropicale, au nord de l'équateur, la floraison a lieu de mai à août, avec un pic de juin à juillet ; au sud de l'équateur, *Mondia whitei* fleurit d'octobre à mars, avec un pic entre novembre et janvier. Les fleurs ont une

odeur de fruit légèrement déplaisante qui s'intensifie l'après-midi ; elles sont probablement pollinisées par des mouches. Elles restent ouvertes.

*Mondia whitei* est présent dans des milieux très divers, depuis la forêt humide, la ripisylve, la forêt marécageuse et les lisières de forêt jusqu'à la savane humide à semi-sèche, parfois sur les berges des rivières, du niveau de la mer jusqu'à 2000 m d'altitude (Watcho *et al.*, 2004).

C'est une plante polyvalente aux nombreuses utilisations documentées ou transmises aux générations suivantes de bouche à oreille (Aremu *et al.*, 2011). Parmi les différents groupes ethniques en Afrique tropicale, *M. whitei* est connu comme un laxatif doux, pour soulager les douleurs abdominales, soulager les nausées ainsi que pour le traitement de la fièvre, de la bilharziose et de la dysfonction sexuelle (Crouch *et al.*, 1998).

Les racines et l'écorce de racine ont une odeur prononcée de vanille et ont le goût à la fois de réglisse et de gingembre. Dans toute l'Afrique, les racines sont très appréciées comme aphrodisiaque, pour traiter les pannes sexuelles, prévenir l'éjaculation précoce et augmenter la production de sperme. Ce sont d'habitude les racines fraîches ou séchées ou l'écorce de racine qui se mastiquent pour obtenir ces effets. La décoction ou l'infusion de racine ou d'écorce de racine se prend couramment pour traiter les affections gastro-intestinales, maux d'estomac et indigestions, ainsi que pour ses vertus fortifiantes et apéritives. Au Bénin, l'extrait de plante se prend pour traiter le paludisme (Watcho *et al.*, 2007).

Malgré sa longue utilisation, il n'existe que peu d'études sur l'isolement des composés bioactifs de *M. whitei*. Le composé le plus commun et le plus connu isolé de *M. whitei* est le 2-hydroxy-4-méthoxybenzaldéhyde qui est un puissant inhibiteur de la tyrosinase (Kubo & Kinst-Hori, 1999). Le composé a également été isolé de *M. whitei* par des chercheurs antérieurs, comme le soulignent Koorbanally *et al.* (2000). En outre, les auteurs ont rapporté pour la première fois l'isolement de l'isovanilline, que l'on pensait auparavant être synthétique à partir de *M. whitei*. Par la suite, le premier rapport sur l'isolement de coumarines et de coumarinolignanes ainsi que de coumarinolignanes chlorées du genre *Mondia* a été rapporté par Patnam *et al.* en 2005. Récemment, des expériences ont conduit à l'isolement du (-) - loliolide, qui présentait une affinité pour le SERT dans un test de liaison (Neergaard *et al.*, 2010). Cependant pour bénéficier des bienfaits de *M. whitei*, il faudra déterminer les meilleures conditions d'extraction de ces composés. Le présent travail vise donc à déterminer les meilleures conditions d'extraction d'extraits bioactifs et aromatisants des racines de *M. whitei*, par l'utilisation de la méthode de réponse de surface.

## Matériel et méthodes

### Matériel

Le matériel végétal utilisé, dans le cadre de cette étude, est constitué des racines de *Mondia whitei* (Hook f.) Skeels, communément appelé « êchégoun » par les hollis et « tchrigoun » par les fons et les gouns qui sont toutes des ethnies du Sud de la République du Bénin (ex-Dahomey). Ces racines ont été collectées dans la zone agroécologique du centre du Bénin et plus spécifiquement dans la commune de Covè (Zagnanando) à Banamè.

### Méthodes

#### Méthode de prétraitement des racines de *Mondia whitei*

Avant l'extraction des composés aromatiques, les racines de *Mondia whitei* ont été séchées à l'étuve à 35 °C pendant 24 heures. Ensuite, elles ont été moulues à l'aide d'un moulin muni d'un tamis de 2 mm de maille. Enfin, on a obtenu une poudre qui a été utilisée pour les différentes analyses.

#### Caractérisation de la racine de *Mondia whitei*

La caractérisation des racines de *Mondia whitei* a été faite à travers l'évaluation de sa toxicité larvaire, le criblage phytochimique de la poudre des racines et la révélation de la présence de la vanilline. Le test de toxicité larvaire a été fait selon la méthode décrite par Adjatin et *al.* (2013). Le criblage phytochimique a été effectué en utilisant la méthode standard basée sur des réactions de coloration et de précipitation comme décrite par Houghton et Raman (1998) et utilisée par Adjatin et *al.* (2013). Le Tableau 1 indique les différents groupes chimiques recherchés et les tests de leur mise en évidence.

**Tableau 1.** Test de mise en évidence et observations des composés phytochimiques.

Composés phytochimiques	Test de mise en évidence	Observations (résultats positifs)
Alcaloïdes	Réactif de Mayer	Précipité blanc jaunâtre
	Réactif de Dragendorff	Précipité rouge orangé
Tannins	Chlorure ferrique	Coloration bleu-noire
Tannins Catéchiques	Réactif de Stiasny	Précipité rose
Tannins Galliques	Chlorure ferrique et saturation avec acétate de sodium	Teinte bleue
Flavonoïdes	Test de Shinoda avec la poudre de magnésium	Coloration orangée
Anthocyanes	Acide chlorhydrique et ammoniacque à 50%	Coloration rouge violacée
Leuco-anthocyanes	Réaction de Shinoda	Coloration rouge brun
Dérivés quinoniques	Réactif de Born-trager	Coloration rose ou rouge violacée
Saponosides	Test d'indice de mousse	Présence importante mousse de 1 cm au moins
Triterpénoïdes	Réaction de Liebermann-Buchard.	Coloration bleue, verte ou violette

Stéroïdes	Réaction de kedde	Coloration rouge au vin
Mucilages	Test d'alcool absolu	Précipité floconneux
Composés réducteurs	Test avec liqueur de fehling	Précipité rouge brique
Anthracéniques libres	Test avec chloroforme et ammoniac	Pas de coloration rouge
Anthracéniques Combinés O-hétérosides	Test d'acide chlorhydrique avec chloroforme et ammoniac	Coloration rouge
Anthracéniques Combinés C-hétérosides	Test de FeCl <sub>3</sub> avec chloroforme et ammoniac	Coloration rouge

Quant à la révélation de la présence de la vanille dans la racine, elle a été faite par la méthode de chromatographie sur couche mince

### **Plan Expérimental d'extraction des composés bioactifs et aromatisants des racines de *Mondia whitei***

La méthode de réponse de surface à travers un plan composite centre a été utilisée pour la détermination des conditions d'extraction. En effet, cette méthode qui limiterait le nombre d'expérimentations, évaluerait tous les effets (Linéaires, quadratiques, interactions) des paramètres étudiés et permettrait d'établir un modèle mathématique conduisant à l'obtention d'un produit de qualité souhaitée (Myers & Montgomery, 1995 ; Anjum et *al.*, 1997). Les paramètres d'extraction variés sont la température d'extraction (25 à 75°C) et la composition du solvant (eau et chlorure de méthylène : 0 à 100%). Ces deux paramètres ont été retenus à cause de leur influence sur la vanilline, le bio-aromatisant à extraire. En effet, la vanilline est volatile entre 81-83°C et soluble dans le chlorure de méthyle (Bouthin et *al.*, 2006). Le modèle a généré quatorze observations qui sont distribuées comme suit : six points centraux (central point) : (0, 0), quatre points axiaux (start point) : (0, + $\alpha$ ), (0, - $\alpha$ ), (+ $\alpha$ , 0), (-  $\alpha$ , 0) et quatre points du noyau (Kernel point): (+1, -1), (-1, +1), (+1, +1), (-1, -1). La matrice du modèle montrant la combinaison des variables est présentée dans le Tableau 2.

Les différentes concentrations de solvant (chlorure de méthylène et eau) définies dans le dispositif sont préparées dans des fioles jaugées. A 1,2 g d'échantillon prélevé dans un tube à essai, sont ajoutés 10 mL de solvant (Koorbanally et *al.*, 2000 ; Patnam, 2004 ; Watcho et *al.*, 2006). L'extraction a été réalisée dans une étuve munie d'un agitateur et réglée en fonction des températures prédéfinies dans le dispositif. Les échantillons subissent environ 20 minutes d'incubation pour atteindre la température régnant dans l'enceinte de l'étuve. Après cette période d'incubation, les échantillons sont mis en agitation pendant 30 minutes. Le mélange est ensuite séparé par centrifugation à 3500 tours/ min pendant 15 minutes. Le surnageant est recueilli et le culot est extrait à nouveau, deux fois dans les mêmes conditions que précédemment. Les trois extraits sont mélangés et homogénéisés au vortex avant d'être analysés.

**Tableau 2.** Matrice du modèle montrant la combinaison des variables

N°	Codes		Variables	
	Solvant	Température	Solvant (chlorure de méthylène) (%)	Température
1	0	0	50	50
2	0	0	50	50
3	0	0	50	50
4	0	0	50	50
5	0	0	50	50
6	0	0	50	50
7	+1	+1	80,05	65,02
8	-1	+1	19,95	65,02
9	-1	-1	19,95	34,98
10	+1	-1	80,05	34,98
11	+ $\alpha$	0	100	50
12	0	+ $\alpha$	50	75
13	- $\alpha$	0	0	50
14	0	- $\alpha$	50	25

La qualité des différents extraits obtenus lors de l'exécution du plan expérimental (Tableau 2), a été évaluée à travers la détermination de leur densité en vanilline, en anthocyanes, de leur teneur en phénols totaux et de leur activité antioxydante.

### **Evaluation de la qualité des différents extraits**

#### **Mesure de la densité optique en vanilline**

L'absorbance (densité optique) de la vanilline a été lue aux longueurs d'ondes proposées par Bouthin et *al.* (2006). Ainsi, l'absorbance de la vanilline a été lue à 347 nm. Le spectrophotomètre (6715UV/Vis. Spectrophotometer JENWAY) a été utilisé pour ces mesures.

#### **Détermination de la teneur en anthocyanes**

La teneur en anthocyanes des extraits a été mesurée à 525 nm en utilisant la méthode décrite par Abdel-Aal et Hucl (1999). Les valeurs d'absorbance ont été rapportées par gramme de poudre de racine séchée. La concentration en anthocyanes a été déterminée et les résultats sont exprimés en mg d'anthocyane pour 1g d'échantillon (base sèche).

#### **Détermination de la teneur en phénols totaux**

La teneur en phénols totaux a été mesurée par la méthode de Folin – Ciocalteu modifiée de Singleton et Rossi (1965) telle que décrite par Kayodé et *al.* (2012) L'acide gallique a été utilisé comme standard. Les résultats ont été exprimés en gramme de phénols totaux pour 100 g d'échantillons.



### Détermination de l'activité antioxydante

La capacité antioxydante totale des extraits a été déterminée par le test de piégeage des radicaux 2,20-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). L'activité de piégeage de radicaux DPPH des extraits a été déterminée selon la méthode décrite par Brand-Williams et *al.* (1995) tel que rapporté et calculé par Kayodé et *al.* (2012).

### Analyses statistiques

Les données expérimentales dérivées du dispositif de «Central Composite design» ont été analysées à l'aide du logiciel Minitab14. Pour chaque variable, le modèle de régression adéquat a été choisi en se basant sur la valeur de la probabilité de l'analyse de la variance liée à la validation du modèle de régression : il s'agit de modèle de la régression linéaire à effet quadratique ou «Full quadratic». Une équation polynomiale de second degré a été proposée pour établir la relation entre la réponse(Y) et les variables(X) suivant la formule ci-après :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_1^2 + b_4X_2^2 + b_5X_1X_2$$

Avec:

$b_0$  = constante

$b_1$  et  $b_2$  = modèle de régression à effet linéaire

$b_3$  et  $b_4$  = modèle de régression linéaire à effet quadratique

$b_5$  = modèle de la régression linéaire à effet interactif

Lorsque le modèle est significatif, l'optimisation des réponses est effectuée pour prédire la combinaison de la température  $X_1$  et du solvant  $X_2$  qui permettrait d'obtenir un bio-aromatissant dont la concentration en vanilline, en anthocyanes, en phénols, et l'activité antioxydante sont prédictives.

### Résultats

#### Profil toxicologique et composition phytochimique de la racine de l'espèce *Mondia whitei*

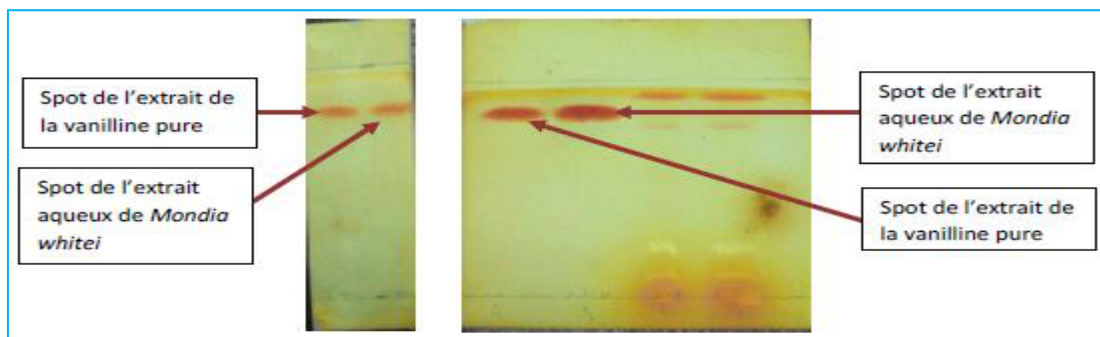
Le test de toxicité larvaire des extraits aqueux, éthanolique et de dichlorométhane des racines de *M. whitei* a révélé que la Concentration Létale qui inhibe la moitié des populations des larves ( $CL_{50}$ ) était respectivement de 0,256 mg/mL, 0,206 mg/mL et 0,275 mg/mL. Le criblage phytochimique (Tableau 3) a mis en exergue la présence de 8 groupes phytochimiques notamment les tanins galliques, les coumarines, mucilages et les composés réducteurs.

**Tableau 3.** Groupes chimiques identifiés dans les racines de l'espèce *Mondia whitei*

Composés chimiques	Degré de présence
Alcaloïdes	+
Tanins galliques	+++
Triterpénoïdes	+
Stéroïdes	+
Mucilages	++
Coumarines	+++
Composés réducteurs	++
Anthocyanes	++

**Légende :** + : peu présent ; ++ : présent ; +++ : majoritairement présent.

L'analyse de la chromatographie sur couche mince (Figure 1) montre des spots bien visibles présents au niveau de la fraction aqueuse des racines de *Mondia whitei* et de la standard vanilline pure migrant au même facteur de rétention Rf (0,88). Ceci nous permet de dire que la vanilline est contenue dans la fraction aqueuse des racines de *Mondia whitei*.



**Figure 1.** Spot de l'extraction aqueuse de la racine de *Mondia whitei* et de la vanilline pure

### 3.2 Effet des paramètres d'extraction sur la qualité des extraits des racines de *Mondia whitei*

Les réponses du modèle pour la teneur en phénols, les valeurs d'absorbance de la vanilline, des anthocyanes et de l'activité antioxydante des extraits des racines de *Mondia whitei* sont présentées dans le Tableau 4. Le Tableau 5, quant à lui, récapitule les coefficients de régression des variables du modèle. Ces réponses indiquent l'effet des facteurs d'extraction qui sont la température et le solvant (% chlorure de méthylène/eau) sur les réponses du modèle suite aux conditions d'extraction appliquées.

**Tableau 4.** Réponses du modèle pour l'absorbance de la vanilline, des anthocyanes, des phénols totaux et de l'activité antioxydante.

Code	Absorbance de la vanilline (UA)	Absorbance des anthocyanes (UA/g)	Phénols totaux (g/100g)	Activité antioxydante (mg/L)
1	2,69	1,2032	0,2031	1,69
2	2,69	1,2916	0,2195	1,73
3	2,69	1,2934	0,2361	0,9933
4	2,69	0,6554	0,1897	0,915
5	2,69	1,0406	0,3519	1,967
6	2,69	1,2914	0,4259	2,239
7	1,369	0,9499	0,0471	25,574
8	2,796	0,9347	0,138	9,329
9	2,322	0,9442	0,1269	0,447
10	1,192	0,005	0,0169	24,172
11	1,517	0,2374	0,0314	1,188
12	2,69	0,7059	0,2452	0,837
13	3	1,2541	0,139	6,135
14	2,69	0,8021	0,1481	1,577

Les codes 1 à 14 représentent les valeurs des facteurs prédéfinis pour le modèle (1 à 6 = 50 % de chlorure de méthylène, 50°C ; 7=80,05 % de chlorure de méthylène, 65,02°C ; 8= 19,95 % de chlorure de méthylène, 65,02°C ; 9= 19,95% de chlorure de méthylène, 34,98°C ; 10= 80,05 % de chlorure de méthylène, 34,98 % ; 11=100% de chlorure de méthylène, 50°C ; 12= 50% de chlorure de méthylène, 75°C, 13= 0 % de chlorure de méthylène, 50°C ; 14=50% de chlorure de méthylène, 25°C).

**Tableau 5.** Valeurs et significativité des coefficients de régression des variables dans le modèle

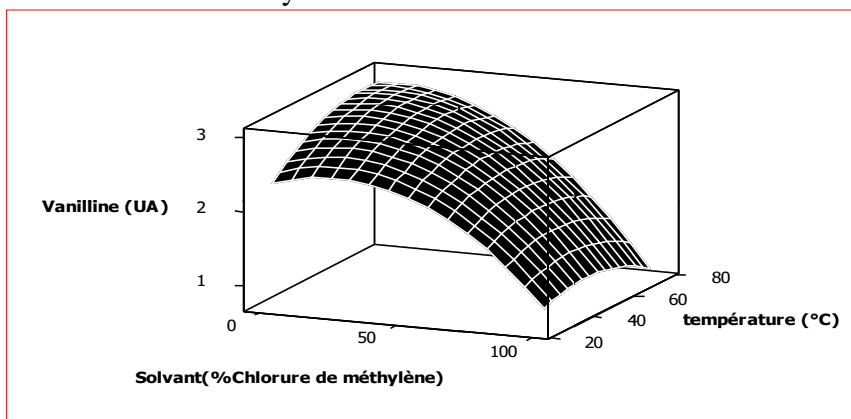
Coefficients	Vanilline	Anthocyanes	Phénols totaux	Activité antioxydante
b <sub>0</sub>	2,6177	-0,4563	0,25987	3,082
b <sub>1</sub>	0,1136	0,1353	0,0354	1,579
b <sub>2</sub>	-0,8766*	-0,4563*	-0,06629	5,537
b <sub>3</sub>	-0,2096	-0,4254	-0,10674	3,945
b <sub>4</sub>	-0,6413	-0,4337	-0,21822*	6,403
b <sub>5</sub>	-0,2056	0,6608	0,01322	-5,179
R <sup>2</sup>	0,753	0,734	0,596	0,219

**Légende et interprétation**

b<sub>0</sub>= constante, b<sub>1</sub> et b<sub>2</sub>= coefficient de régression à effet linéaire pour la température et le solvant respectivement, b<sub>3</sub> et b<sub>4</sub> = coefficient de régression à effet quadratique pour la température et le solvant respectivement, b<sub>5</sub> = coefficient de régression à effet interactif ; \*= significatif au seuil de 5%, \*\*=Hautement significatif au seuil de 1%, \*\*\*=Très hautement significatif au seuil de 1‰; R<sup>2</sup> = coefficient de corrélation ajusté.

### 3.2.1 Effet des paramètres d'extraction sur la densité optique de la vanilline des extraits des racines de *Mondia whitei*

La densité optique de la vanilline varie de 1,192 à 3,00 UA (Unité d'Absorbance) (Tableau 4). L'analyse de la variance a révélé que la composition des solvants d'extraction a un effet significatif ( $P < 0,05$ ) sur l'absorbance de la vanilline. Le coefficient de détermination est élevé pour la vanilline et est égale à 0,753 (Tableau 5). La Figure 2 montre l'évolution de la vanilline en fonction de la température et du solvant d'extraction. Il ressort de cette figure que la densité optique de l'extrait en vanilline diminue au fur et à mesure que la concentration en chlorure de méthylène du solvant d'extraction augmente. Cette diminution est plus prononcée entre 60 et 75 °C pour une teneur en chlorure de méthylène du solvant comprise entre 50 et 100 %. Cette tendance suggère, dans les conditions d'extraction appliquées, que le maximum de vanilline peut être extrait avec un solvant aqueux ayant une teneur en chlorure de méthylène avoisinant 25 %.

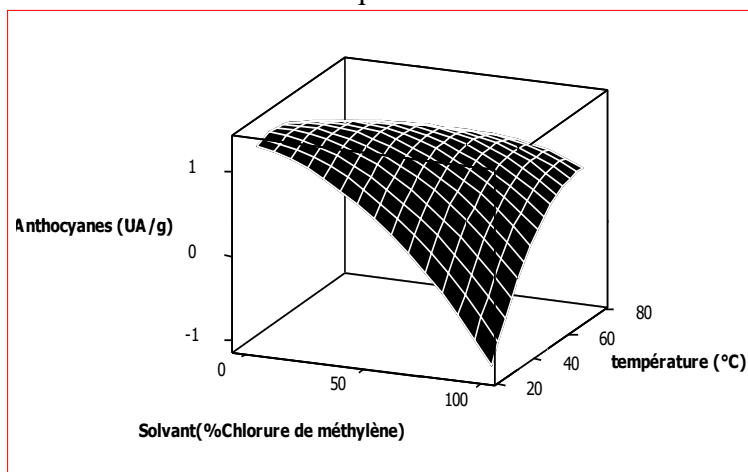


**Figure 2.** Courbe de surface réponse de l'absorbance de la vanilline en fonction de la température (°C) et du solvant

### 3.2.2 Effet des paramètres d'extraction sur la densité en anthocyanes des extraits

Parmi les différents traitements appliqués (**Tableau 4**), la plus grande densité (1,29 UA/g) en anthocyanes a été obtenue au niveau des traitements 2, 3 et 4 (température = 50 °C et solvant = 50 % de chlorure de méthylène) et la plus faible valeur (0,005 UA/g) a été obtenue au niveau du traitement 10 (Température = 34,98 °C et Solvant = 80,05 % de chlorure de méthylène). L'analyse de la variance a révélé que le solvant d'extraction a eu un effet significatif ( $P < 0,05$ ) sur la concentration en anthocyanes des extraits. Le coefficient de détermination est élevé pour la teneur en anthocyane et est égale à 0,734 (**Tableau 5**). La **Figure 3** montre la courbe tendancielle de la densité des anthocyanes en fonction de la température et du solvant d'extraction. Globalement, on observe une tendance des anthocyanes à diminuer avec

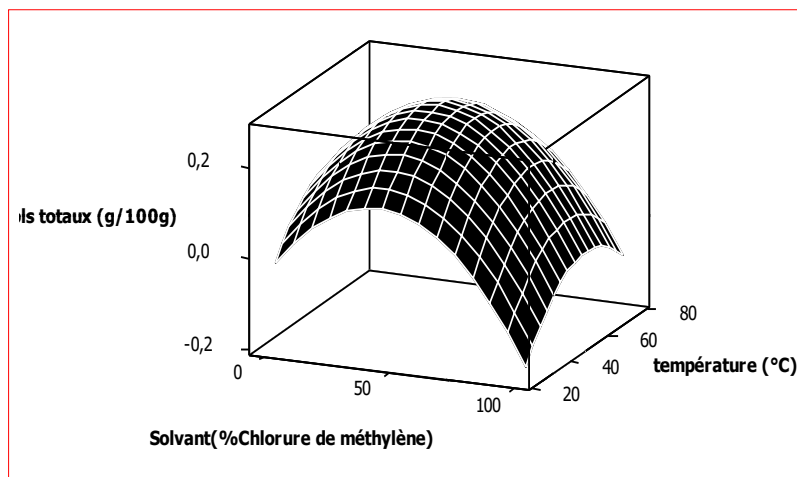
l'élévation de la concentration du chlorure de méthylène dans le solvant et à augmenter avec l'élévation de la température.



**Figure 3.** Courbe de surface réponse de l'absorbance des anthocyanes en fonction de la température (°C) et du solvant

### 3.2.3 Effet des paramètres d'extraction sur la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante des extraits

Les teneurs en phénols totaux des extraits varient très peu de façon significative en fonction des paramètres d'extraction. Plus précisément, on note que l'effet quadratique du solvant d'extraction est statistiquement significatif au seuil de 5 % (**Tableau 5**). La courbe tendancielle des phénols totaux est représentée à la **Figure 4**. On observe une tendance des phénols totaux à augmenter avec l'élévation de la concentration de chlorure de méthylène dans le solvant d'extraction. Mais, à partir de 50 % de chlorure de méthylène dans le solvant d'extraction, on observe une diminution des phénols totaux avec l'élévation de la concentration de chlorure de méthylène dans le solvant d'extraction. Ainsi, la plus grande concentration (0,4259 g/100 g) en phénols totaux a été obtenue au niveau du traitement 6 (température : 50 °C et solvant à 50 % de chlorure de méthylène) et la plus faible valeur (0,0314 g/100 g) a été obtenue au niveau du traitement 11 (Température = 50 °C et Solvant = 100 % chlorure de méthylène). De cette analyse il ressort que les composés phénoliques des racines de *Mondia whitei* sont très peu extraits en milieu fortement concentré en chlorure de méthylène. Par ailleurs, aucun des paramètres d'extraction n'a affecté l'activité antioxydante des extraits. Cependant, il faut signaler que cette activité a été mesurée par la méthode 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. D'autres méthodes doivent être utilisées pour confirmer les présents résultats.



**Figure 4.** Courbe de surface de réponse de l'absorbance des phénols totaux en fonction de la température (°C) et du solvant.

### 3.3. Corrélation entre les variables mesurées

L'analyse du tableau de corrélation de Pearson (**Tableau 6**) montre que les phénols totaux sont corrélés positivement avec les anthocyanes ( $r = 0,625$ ;  $p < 0,05$ ), avec La vanilline ( $r = 0,676$ ,  $p < 0,01$ ) et négativement avec l'activité antioxydante ( $r = -0,557$ ;  $p < 0,01$ ). Il existe une corrélation hautement significative entre les valeurs d'absorbance des anthocyanes et de la vanilline ( $r = 0,708$  ;  $p < 0,01$ ). Mais, les valeurs d'anthocyanes sont faiblement et négativement corrélées avec l'activité antioxydante ( $r = -0,375$ ;  $p < 0,05$ ). La vanilline est en corrélation forte et négative avec les valeurs de l'activité antioxydante.

**Tableau 6.** Matrice de corrélation de Pearson entre les différentes variables

	Vanilline	Anthocyanes	Phénols totaux
Anthocyanes	0,708**		
Phénols totaux	0,676**	0,625*	
Activité antioxydante	-0,714**	-0,375	-0,557*

Légende : \* :significatif au seuil de5%\*\* :significatif au seuil de1%

## 4. Discussion

### 4.1. Valeurs ethnobotanique de l'espèce *Mondia whitei*

Des études ethnobotaniques citent continuellement l'utilisation locale de l'espèce. Une décoction de racine de *M. whitei* est documentée à induire du travail en Ouganda (Ssegawa & Kasenene, 2007), lutter contre l'infection palustre au Bénin et au Nigéria (Hermans et al., 2004 ; Odugbemi et al., 2007), éradiquer l'infestation par le ver (anthelminthiques) au Nigéria (Idu et al., 2010) et soigner l'infertilité masculine au Cameroun (Focho et al., 2009). Au Kenya, une enquête a montré que *M. whitei* est pratiquement utilisé pour de nombreux problèmes, par exemple ; la teigne, les maladies de la peau, les vers

de l'estomac, les maladies cardiaques et l'asthme (McGeoch, 2004). En outre, l'espèce est utilisée par des groupes non spécifiés en Afrique du Sud pour traiter le stress et la tension chez les adultes (Van Wyk & Gericke, 2000). Stafford *et al.* (2008) ont souligné que les Sud-Africains utilisaient *M. whitei* pour stimuler l'appétit, comme aphrodisiaque, et pour le traitement des crises chez les enfants. *M. whitei* contient des vitamines A, D, K et E ainsi que du magnésium, du zinc, du fer, du calcium et des protéines. En conséquence, *M. whitei* peut être une source alternative facilement et financièrement abordable pour la prévention des carences en micronutriments, en particulier chez les populations pauvres (Aremu *et al.*, 2011). Youkeu (2008) a estimé la valeur nutritionnelle de *M. whitei* à 280,8 kcal / 100 g.

Les racines de *Mondia whitei* sont très prisées comme aphrodisiaque dans toute son aire de répartition, et les feuilles sont couramment utilisées comme légume. Son utilisation comme stimulant sexuel pour les hommes a été confirmée en partie, mais il est nécessaire d'approfondir les recherches pour mettre en lumière les composés responsables de cette activité, ainsi que pour étudier d'autres effets pharmacologiques. La valeur nutritive des feuilles ainsi que les perspectives d'utilisation des racines comme épice doivent être également étudiées plus en détail (Mlangeni *et al.*, 2006).

Etant donné sa surexploitation, il est recommandé d'étudier les moyens de récolter *Mondia whitei* de façon durable dans la nature et d'encourager sa culture au départ à petite ou moyenne échelle (Agea *et al.*, 2008).. Il est également nécessaire d'étudier sa biologie et son écologie dans le cadre de sa production et de parvenir à des quotas de récolte durables et applicables aussi bien aux peuplements sauvages que cultivés. Dans une perspective de valeur ajoutée, il faut se pencher sur la production de produits emballés de façon hygiénique et attrayante (Agea *et al.*, 2008).

### **Propriétés pharmacologiques et effet des paramètres d'extraction sur la qualité des extraits des racines de *Mondia whitei***

Les extraits des racines de *Mondia whitei* ont montré des résultats positifs (léthalité) sur les larves de crevettes de saumure *Artemia salina* indiquant que les extraits sont biologiquement actifs. La valeur de CL<sub>50</sub> obtenue pour chaque extrait est supérieure à 0,1mg/ml après comparaison à l'échelle de Mousseux (1995). Ce qui signifie qu'aucune des extraits n'est toxique pour l'organisme humain.

La présence des différents groupes phytochimiques identifiés mettent en lumière les vertus médicinales des racines de *Mondia whitei*. En effet, les alcaloïdes présents dans les racines sont très recherchés pour leur large spectre d'activités biologiques dont les propriétés antibiotiques, antiparasitaires, anesthésiques, antitumorales, anticancéreuses et analgésiques antalgiques et spasmolytiques (Okwu, 2007 ; Badiaga, 2011).

Les alcaloïdes possèdent des actions sur le système nerveux central (Bruneton, 1999). Comme propriétés biologiques, les tanins ont une action thérapeutique liée à l'astringence, des actions antibactérienne, antivirale, antifongique et antiseptique. Ils sont utilisés pour leurs activités anti-oxydante (Yessoufou *et al.*, 2013) et hémostatique (Agunu *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

Les anthocyanes et leuco anthocyanes ont une action œdémateuse, diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance (Bruneton, 1999). Les stéroïdes sont des métabolites secondaires connus pour leurs propriétés analgésiques et cardiotoniques. Ils régularisent le métabolisme des protéines et des glucides, augmentent la synthèse des muscles et des os et sont aussi associés au contrôle hormonal chez les hommes et les femmes (Hossain *et al.*, 2013).

Le contrôle hormonal exercé par les stéroïdes se ferait dans le sens de la fonction reproductive d (Bruneton, 2009).

Les mucilages sont des fibres solubles et possèdent aussi plusieurs propriétés médicinales. Ils sont anti-cholestérols, anti-constipation, antidiabétiques et anticancéreux (Lin *et al.*, 2005). Les coumarines ont des activités protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, anti parasitaires, analgésiques et anti œdémateuses (Ito *et al.*, 2005; Smyth *et al.*, 2009). Ces différents composés des racines seraient à la base des bioactivités mis en évidence (Watcho *et al.*, 2001 ; Watcho *et al.*, 2004 ; Watcho *et al.*, 2005 ; Watcho *et al.*, 2006 ; Watcho *et al.*, 2007a ; Watcho *et al.*, 2007b ; Etoundi *et al.*, 2010 ; Abdou Bouba *et al.*, 2010 ; Quasie *et al.*, 2010; Kubo & Kinst-Hori, 1999; Matu & Van Staden, 2003).

Conformément à notre étude Quasie *et al.* (2010) ont identifiés la présence des sucres réducteurs et de triterpènes et l'absence des flavonoïdes et des saponines mais n'ont pas détecté la présence des alcaloïdes. Cependant, Abdou Bouba *et al.* (2010) ont signalé la présence de composés phénoliques (6,40 g GAE / 100 g MS), de flavonoïdes (2,99 g / 100 g MS) et de tanins (0,073 g / 100 g MS) chez cette espèce. Ces différences observées pourraient être liées aux localités de collectes, aux effets de variations saisonnières et à la méthode d'analyse (Aremu *et al.*, 2011). Nos expériences ont permis d'extraire de quantité importante de phénols totaux similaire à la valeur de 4,32mg/g obtenue par Etoundi *et al.* (2010). Même si nos expériences n'ont pas pu mettre en évidence l'influence de nos paramètres technologiques sur l'activité antioxydante de nos extraits, il a été rapporté une activité antioxydante de l'extrait par son activité de piégeage des radicaux hydroxyles élevée (Abdou Bouba *et al.*, 2010). La corrélation positive hautement significative des phénols totaux avec les anthocyanes corrobore bien le fait que les anthocyanes sont tous des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 1990).



## La détection de la vanilline

La détection de la vanilline dans les racines de *Mondia whitei* corrobore les travaux de Koorbanally et al. (2000) qui ont isolé pour la première fois l'isovanilline que l'on pensait auparavant être synthétique. Cela justifierait son usage pour rehausser la saveur de la viande ou comme thé (Crouch et al., 1998 ; Van Wyk & Gericke, 2000). Au regard de nos expériences, la racine de *Mondia whitei* est une importante source de vanilline et est de ce faite pourvoyeuse de devise. En effet, la vanilline (numéro Fema GRAS 3107) est utilisée dans la création d'arôme vanille, chocolat et banane. C'est un produit intermédiaire pour la production de plusieurs dérivés à usage pharmaceutique. De plus, l'arôme de vanille est le plus utilisé dans l'industrie alimentaire dont 75% de la quantité mondiale est d'origine synthétique (Bouthin et al., 2006). Cependant, les associations de consommateurs demandent plus de « naturel » aux industries alimentaires par peur de la chimie de synthèse. Selon l'opinion publique, la vanille naturelle serait ainsi « meilleure » que la synthétique.

## Conclusion

La présente étude a montré que la racine de *Mondia whitei*, au regard de sa composition phytochimique et de sa non toxicité a beaucoup de vertus médicinales. Parmi les deux paramètres mis en jeu pour produire des extraits bioactifs et bioaromatisants, seule la composition des solvants d'extraction a eu un effet significatif sur l'absorbance de la vanilline, la concentration en anthocyanes des extraits et les composés phénoliques ; la température n'a eu aucun effet sur ces derniers. Les composés phénoliques des racines de *Mondia whitei* sont très peu extraits en milieu concentré en chlorure de méthylène. En revanche, aucun des paramètres d'extraction n'a affecté l'activité antioxydante des extraits. Cependant, il faut signaler que cette activité a été mesurée par la méthode 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. D'autres méthodes doivent être utilisées pour confirmer les présents résultats. Enfin, la détermination de la teneur en vanilline des racines de *Mondia whitei*, peut servir de marqueur de contrôle de qualité des racines de *Mondia whitei*.

## Remerciements

Nos remerciements vont à l'endroit du **Programme UNDESERT** coordonné par le **Prof. Dr. Ir. Brice SINSIN** pour l'appui financier à la réalisation de cette étude et aussi à l'évaluateur anonyme pour ses corrections pour l'amélioration de notre papier.

## References:

1. Abdel-Aal, E. S. M. & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem* 76: 350-354.
2. Abdou Bouba, A., Njintang, Y. N., Scher, J. & Mbofung, C. M. F. (2010). Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1: 213–224.
3. Adjatin, A., Dansi, A., Badoussi, E., Loko, Y. L., Dansi, M., Azokpota, P., Gbaguidi, F., Ahissou, H., Akoègninou, A., Akpagana, K. & Sanni, A. (2013). Phytochemical screening and toxicity studies of *Crassocephalum rubens* (Juss. ex Jacq.) S. Moore and *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore consumed as vegetable in Benin. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci:* 2(8): 1-13.
4. Agea, J.G., Katongole, B., Waiswa, D. & Nabanoga, G.N. (2008). Market survey of *Mondia whytei* (Mulondo) roots in Kampala city, Uganda. *African Journal of Traditional, Complementary & Alternative Medicines* 5(4): 399–408.
5. Agunu, A., Yusuf, S., Andrew, G. O., Zezi, A. U. & Abdulrahman, E.M. (2005). Evaluation of five medicinal plants used in diarrhea treatment in Nigeria. *Ethnopharmacological journal* 101(1-3): 27-30.
6. Akoègninou, A., Van der Burg, W. J., Van der Measen, L. J. G., Adjaèkidjè, V., Sinsin, B. & Yédomonhan, H. (2006). Flore Analytique du Bénin, Backhuys Publishers, 1034 p.
7. Anjum, M. F., Tasadduq, I. & Al-Sultan, K. (1997). Response surface methodology: A neural network approach. *Eur. J. Oper. Res.*, 101 : 65–73.
8. Aremu, A., OCheesman, L., Finnie, J. F. & Van Staden, J. (2011). *Mondia whitei* (Apocynaceae): A review of its biological activities, conservation strategies and economic potential. *South African Journal of Botany* 77: 960–971.
9. Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Université de Bamako, p136 +Annexes.
10. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 28 : 25–30.
11. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales, 4e édition. TEC & DOC, Paris, 1269 p.
12. Crouch, N. R., Nichols, G. & Hutchings, A. (1998). Umondi: the versatile herb of Africa. *Custos* May 24–25.

13. Etoundi, C. B., Kuate, D., Ngondi, J. L., & Oben, J. (2010). Anti-amylase, anti-lipase and antioxidant effects of aqueous extracts of some Cameroonian spices. *Journal of Natural Products* 3: 165–171.
14. Focho, D. A., Nkeng, E. A. P., Lucha, C. F., Ndam, W. T. & Afegenui, A. (2009). Ethnobotanical survey of plants used to treat diseases of the reproductive system and preliminary phytochemical screening of some species of Malvaceae in Ndop Central Sub-division, Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Research* 3: 301–314.
15. Hermans, M., Akoègninou, A. & Van der Maesen, L. J. G. (2004). Medicinal plants used to treat malaria in southern Benin. *Economic Botany* 58: S239–S252.
16. Hoareau, L. & DaSilva, E.J. (1999). Medicinal plants: are-emerging health aid. *Electronic Journal of Biotechnology* 2: 56–70.
17. Hossain, H., Jahan, I. A., Howlader, S. I., Dey, S. K., Hira, A. & Ahmed, A. (2013). Phytochemical Screening and Anti-nociceptive Properties of the Ethanolic Leaf Extract of *Trema cannabina* Lour. *Advan. Pharma. Bull* 3(1):103-108.
18. Houghton, P.J. & Raman, A. (1998). Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. 1ère édition, CHAPMAN and HALL.p. 244.
19. Idu, M., Erhabor, J. O. & Efijuemue, H. M. (2010). Documentation on medicinal plants sold in markets in Abeokuta, Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 9: 110–118.
20. Ito, C., Itoigawa, M., Onoda, S., Hosokawa, A., Ruabgrungsi, N., Okuda, T., Tokuda, H., Nishino, H. & Furukawa H. (2005). Chemical constituents of *Murraya siamensis*: three coumarins and their anti-tumor promoting effect. *Phytochemistry* 66: 567 -572.
21. Kayodé, A. P. P., Bara, C. A., Dalode-Vieira, G., Linnemann, A. R. & Nout, M. J. R. (2012). Extraction of antioxidant pigments from dye sorghum leaf sheaths. *LWT – Food Sci Technol* 46:49–55.
22. Koorbanally, N. A., Mulholland, D. A. & Crouch, N. R. (2000). Isolation of isovanillin from aromatic roots of the medicinal African liane, *Mondia whitei*. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 7: 37–43.
23. Kubo, I. & Kinst-Hori, I. (1999). 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde: a potent tyrosinase inhibitor from African medicinal plants. *Planta Medica* 65: 19–22.
24. Lin, S-Y., Liu, H-Y., Lu, Y-L. & Hou, W.C. (2005). Antioxidant activities of mucilage from different Taiwanese yam cultivars. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 46:183-188.
25. Macheix, J. J., Fleuriet, A. & Billot, J. (1990). Fruit phenolics. Boca Raton: CRC Press.

26. Matu, E.N. & Van Staden, J. (2003). Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* 87: 35–41.
27. McGeoch, L. (2004). Plant ecology in a human context: *Mondia whitei* in Kakamega Forest, Kenya. Environmental Science, Brown University. Providence, Rhode Island, USA, pp. 1–80.
28. Mlangeni, E.T., Maliwichi-Nyirenda, C.P., Mpalika, D. & Nansongole, P.B. (2006). Distribution, use and potential commercial value of *Mondia whitei* in southern Malawi. In: Proceedings of the 2005 annual research conference, Lilongwe, 16–17 June 2005, National Research Council of Malawi, Malawi. pp. 192–222.
29. Mousseux, M. (1995). Test de toxicité sur les larves d'*Artemia salina* et d'entretien d'un élevage de balanes, Rapport de stage de deuxième année. DEUST Aquaculture; Centre Universitaire de Nouvelle-Calédonie, France, p75.
30. Myers, R. H. & Montgomery, D. C (1995). Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments. New York: John Wiley & Sons, Inc.
31. Neergaard, J. S., Rasmussen, H. B., Stafford, G. I., Van Staden, J. & Jäger, A. K. (2010). Serotonin transporter affinity of (–)-loliolide, a monoterpene lactone from *Mondia whitei*. *South African Journal of Botany* 76: 593–596.
32. Odugbemi, T.O., Akinsulire, O. R., Aibinu, I. E. & Fabeku, P. O. (2007). Medicinal plants useful for malaria therapy in Okeigbo, Ondo state, Southwest Nigeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 4: 191–198.
33. Okwu, D. E. (2007). NMAP. *Science and Biotechnology*, 1(1): 90-96.
34. Olaku, O. & White J. (2011). Herbal therapy use by cancer patients: a literature review on case reports. *Eur J Cancer*. 47:508–14.
35. Patnam, R., Kadali, S. S., Koumaglo, K. H. & Roy, R. (2005). A chlorinated coumarin lignan from the African medicinal plant, *Mondia whitei*. *Phytochemistry* 66: 683–686.
36. Quasie, O., Martey, O. N. K., Nyarko, A. K., Gbewenoyo, W. S. K. & Okine, L. K. N. (2010). Modulation of penile erection in rabbits by *Mondia whitei*: possible mechanism of action. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* 7: 241–252.
37. Ross, J.H. (1978). *Mondia whitei*. tab. 1792 In: Killick, D.J.B. (Ed.), Flowering Plants of Africa, Vol 45. South African National Biodiversity Institute, Pretoria, South Africa.
38. Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158.

39. Smyth, T., Ramachandran, V. N. & Smyth, W. F. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International Journal of antimicrobial agents* 33: 421 - 426.
40. Ssegawa, P. & Kasenene, J. M. (2007). Medicinal plant diversity and uses in the Sangobay area, southern Uganda. *Journal of Ethnopharmacology* 113: 521–540.
41. Stafford, G. I., Pedersen, M. E., Van Staden, J. & Jäger, A. K. (2008). Review on plants with CNS-effects used in traditional South African medicine against mental diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 119: 513–537.
42. The World Health Organization (2014). Traditional medicine strategy 2001–2005. WHO Publications: Geneva. Accessed; [[http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2002.1.pdf?ua=1](http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf?ua=1)]
43. Van Wyk, B.-E. & Gericke, N. (2000). *People's Plants: A Guide to Useful Plants of Southern Africa*. Briza Publications, Pretoria, South Africa.
44. Watcho, P., Djoukeng, C. N., Zelefact, F., Nguenefack, T. B., Ngouela, S., Kamtchouing, P., Tsamo, E. & Kamanyi, A. (2007). Relaxant effect of *Mondia whitei* extracts on isolated guineapig corpus cavernosum. *Pharmacology online* 2: 44–52.
45. Watcho, P., Fotsing, D., Zelefact, F., Nguenefack, T. B., Kamtchouing, P., Tsamo, E. & Kamanyi, A. (2006). Effects of *Mondia whitei* extracts on the contractile responses of isolated rat vas deferens to potassium chloride and adrenaline. *Indian Journal of Pharmacology* 38: 33–37.
46. Watcho, P., Kamtchouing, P., Sokeng, S., Moundipa, P. F., Tanchou, J., Essame, J. L. & Koueta, N. (2001). Reversible antispermatogenic and antifertility activities of *Mondia whitei* L. in male albino rat. *Phytotherapy Research* 15: 26–29.
47. Watcho, P., Kamtchouing, P., Sokeng, S. D., Moundipa, P. F., Tanchou, J., Essame, J. L. & Koueta, N. (2004). Androgenic effect of *Mondia whitei* roots in male rats. *Asian Journal of Andrology* 6: 269–272.
48. Watcho, P., Zelefact, F., Nguenefack, T. B., Ngouela, S., Telefo, P. B., Kamtchouing, P., Tsamo, E. & Kamanyi, A. (2007). Effects of the aqueous and hexane extracts of *Mondia whitei* on the sexual behaviour and some fertility parameters of sexually inexperienced male rats. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* 4: 37–46.
49. Watcho, P., Donfack, M. M., Zelefact, F., Nguenefack, T. B., Wansi, S. L., Ngouela, F., Kamtchouing, P., Tsamo, E. & Kamanyi, A. (2005).

Effects of the hexane extract of *Mondia whitei* on the reproductive organs of male rat. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines* 2: 302–311.

50. Yessoufou, A., Gbenou, J., Grissa, O., Hichami, A., Simonin, A-M., Tabka, Z., Moudachirou, M., Moutairou, K. & Khan, N. A. (2013). Anti-hyper glycemc effects of three medicinal plants in diabetic pregnancy: modulation of T cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine*, 13:77, p 13.
51. Youkeu, N. J. (2008). Natural substances and sport performance. In: Mbopi- Kéou, F.-X. (Ed.), *Health and Sports in Africa: A Challenge for Development*. John Libbey Eurotext, Montrouge, France, pp. 73–83.