

**UNIVERSITE DE YAOUNDE I**  
*UNIVERSITY OF YAOUNDE I*

**FACULTE DES SCIENCES**  
*FACULTY OF SCIENCE*



**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES**  
*DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY*

**LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE**  
*LABORATORY OF ANIMAL PHYSIOLOGY*

**Evaluation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux  
des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* (Hochst.)Baill.  
(Euphorbiaceae) chez la souris**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D. en Biologie des Organismes Animaux  
**Option : Physiologie Animale**

Par :

**ZE MINKOULOU Delphine Mirelle**

Matricule : 02Y020  
Master en Physiologie Animale  
Sous la co-direction de

**DIMO Théophile**  
Professeur  
Université de Yaoundé I

**NGO Bum Elisabeth**  
Professeur  
Université de Ngaoundéré



Année académique 2021-2022

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
UNIVERSITY OF YAOUNDE I



FACULTE DES SCIENCES  
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET DE PHYSIOLOGIE ANIMALES  
DEPARTMENT OF ANIMAL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

## ATTESTATION DE CORRECTION

Nous soussignés membres de jury de soutenance de **Thèse de Doctorat/Ph.D** en Biologie des Organismes Animaux (Option **Physiologie Animale**) de Madame **ZE MINKOULOU Delphine Mirille**, matricule **02Y020**, soutenance autorisée par la correspondance N°211784/UYI/VREPDTIC/DAAC/DEPE/SPD/CB-nsr de Monsieur le Recteur de l'Université de Yaoundé 1 en date du 12 Août 2021, attestons que les corrections exigées à la candidate lors de cette évaluation faite le **11 Novembre 2021**, ont réellement été effectuées et que le présent document peut être déposé sous la forme actuelle.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Yaoundé, le ..... **15 DEC 2021** .....

Président du Jury

  
Van Paul Vermyun

Examineurs



Pr Chef de Département PO



  
**Pr Sévilor KEKEUNOU**  
Faculté des Sciences  
Université de Yaoundé I

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022**  
 (Par Département et par Grade)  
**DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021**

**ADMINISTRATION**

**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*  
**VICE-DOYEN / DPSAA** : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*  
**VICE-DOYEN / DSSE** : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*  
**VICE-DOYEN / DRC** : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*  
**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*  
**Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR** :  
 AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (37)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste

21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
33	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
34	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Assistant	En poste
35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (51)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
42	AMPON NSANGOU Indou	Assistant	En poste
43	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
44	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
45	FEUGANG YOUNSSI François	Assistant	En poste
46	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
47	GONWOUO NONO Legrand	Assistant	En poste
48	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
49	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
50	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste
51	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

### **3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)**

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste

6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (32)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	CT MINRESI
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
11	ACAYANKA Elie	Maître de	En poste

		Conférences	
12	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
13	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
14	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
15	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
16	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste
20	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
22	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
23	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
24	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
25	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
26	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
27	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINPROFF
28	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
29	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
30	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
31	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
32	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

#### 5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UIYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/</i> Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste
7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste

12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste
28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

#### **6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)**

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef</i>

			<i>IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

### 7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
11	BOGSO ANTOINE MARIE	Chargé de Cours	En poste
12	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT

13	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
17	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
18	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En poste
29	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistant	En poste
30	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
31	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
32	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33	OGADOA AMASSAYOGA	Assistant	En poste
34	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste
35	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (21)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste
4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
14	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste

15	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
16	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
17	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
18	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
20	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Assistante	En poste
21	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

### 9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse	Maître de	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	Chef de centre/IRGM/MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de	En poste

		Conférences	
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste
43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

#### 10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste

17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance &amp; du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

**Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I**

<b>NOMBRE D'ENSEIGNANTS</b>					
<b>DÉPARTEMENT</b>	<b>Professeurs</b>	<b>Maîtres de Conférences</b>	<b>Chargés de Cours</b>	<b>Assistants</b>	<b>Total</b>
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	05 (02)	<b>40 (18)</b>
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	10 (03)	<b>51 (15)</b>
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	07 (01)	<b>31 (9)</b>
CI	10 (01)	09 (02)	10 (02)	03 (0)	<b>32 (5)</b>
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	08 (02)	<b>40 (9)</b>
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	<b>25 (2)</b>
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	09 (02)	<b>34 (7)</b>
MIB	3 (0)	5 (03)	06 (01)	06 (02)	<b>20 (6)</b>
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	08 (03)	<b>46 (8)</b>
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	<b>42 (7)</b>
					<b>361</b>
<b>Total</b>	<b>75 (5)</b>	<b>104 (30)</b>	<b>116 (31)</b>	<b>66 (16)</b>	<b>(86)</b>

Soit un total de **361 (86)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (30)**
- Chargés de Cours **116 (31)**
- Assistants **66 (16)**

( ) = Nombre de Femmes **86**

## **DEDICACE**

**En mémoire de ma regrettée mère chérie,  
Madame ZE NNOMO Solange Yvonne Colette. Que ce travail soit pour toi un motif de  
satisfaction quel que soit l'endroit où tu te trouves.**

## REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord l'Eternel Dieu Tout Puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la patience ; et de m'avoir mis sur le chemin du savoir, afin de mener à bien tous les travaux entrepris jusqu'à la rédaction de cette thèse malgré les difficultés rencontrées. Un merci en lettres d'or s'adresse ensuite à tous ceux qui de près ou de loin ont œuvré pour la réussite de ce travail :

- ❖ aux Professeurs **DIMO Théophile** et **NGO BUM Elisabeth** qui ont accepté, malgré leurs multiples occupations, d'encadrer et de diriger ce travail, tout en m'apportant leur expertise, leurs multiples conseils ainsi que leur assistance. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je vous adresse ma profonde gratitude pour tout cela : un très grand Merci chers Directeurs;
- ❖ au Professeur **BILONG BILONG Charles Félix**, Chef de département de Biologie et Physiologie Animales, un remerciement particulier pour son aide et son soutien inconditionnel à mon égard;
- ❖ au **Docteur NCHINDA Godwin**, Directeur Général Adjoint du Centre International de Référence Chantal BIYA pour son soutien technique dans la réalisation des dosages hormonaux dans ce travail;
- ❖ à tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Animales pour les cours dispensés et particulièrement les enseignants de l'option physiologie Animale, les Professeurs **KAMTCHOING Pierre**, **NJAMEN Dieudonné**, **KAMGANG René**, **TAN Paul**, **DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré**, **MEGNEKOU Rosette**, **NGUEGUIM Florence**;
- ❖ à tous mes aînés de laboratoire, en particulier au Docteur **NJIAZA Joseph**, pour ses multiples conseils;
- ❖ au Docteur **OMAM OMAM Jean Pierre** avec qui nous avons longuement travaillé, un remerciement très particulier pour son aide pluridimensionnelle, sa disponibilité et ses précieux conseils;
- ❖ au Docteur **Ayissi Mbomo Espoir** pour son aide dans l'amélioration de ce travail et pour tous ses conseils;
- ❖ au Docteur **LISSOM Abel** pour son aide incommensurable dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité et ses multiples conseils;
- ❖ au Docteur **TCHOUPOU TCHINDA Huguette**, pour sa disponibilité et son assistance lors de la réalisation des sacrifices et de certaines analyses biochimiques dans ce travail;

- ❖ aux Docteurs **KAMENI Mireille** et **KUISSU Mesmine** pour leurs critiques, leur assistance perpétuelle et leurs conseils avisés;
- ❖ à Monsieur **Fifen Rodrigue**, Doctorant en physiologie animale pour sa disponibilité lors de la réalisation de certaines analyses biochimiques dans ce travail;
- ❖ à tous les membres de ma **famille** pour leur soutien inconditionnel, leurs prières et tous leurs encouragements;
- ❖ à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont les noms ne figurent pas.

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS.....</b>	<b>I</b>
<b>DEDICACE.....</b>	<b>XIII</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>XIV</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>XIX</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>XXIV</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>XXV</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>XXVI</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XXVIII</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	<b>4</b>
<b>I-1- Généralités sur le système nerveux.....</b>	<b>4</b>
<b>I-2- Cellules du système nerveux.....</b>	<b>7</b>
<b>I-2-1- Cellules nerveuses ou neurones .....</b>	<b>7</b>
<b>I-2-2- Cellules gliales .....</b>	<b>8</b>
<b>I-3- Synapses .....</b>	<b>10</b>
<b>I-3-1- Synapse électrique .....</b>	<b>10</b>
<b>I-3-2- Synapse chimique.....</b>	<b>11</b>
<b>I-4- Neurotransmetteurs et récepteurs du système nerveux .....</b>	<b>11</b>
<b>I-5- Anxiété.....</b>	<b>13</b>
<b>I-5-1- Rappels et définitions sur l'anxiété.....</b>	<b>13</b>
<b>I-5-2- Différents types de troubles d'anxiété .....</b>	<b>16</b>
<b>I-5-3- Physiopathologie de l'anxiété .....</b>	<b>20</b>
<b>I-5-4- Systèmes de neurotransmission régulateurs de l'anxiété.....</b>	<b>21</b>
<b>I-5-5- Anxiété et nicotine .....</b>	<b>27</b>
<b>I-5-6- Implication du stress dans l'anxiété.....</b>	<b>29</b>
<b>I-6- Traitements conventionnels de l'anxiété et ses limites : cas des benzodiazépines .....</b>	<b>33</b>
<b>I-7- La plante : <i>Bridelia micrantha</i> .....</b>	<b>34</b>
<b>I-7-1- Position systématique de <i>Bridelia micrantha</i> .....</b>	<b>34</b>
<b>I-7-2- Synonymes de <i>Bridelia micrantha</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>I-7-3-Description botanique .....</b>	<b>35</b>
<b>I-7-4- Répartition géographique.....</b>	<b>36</b>
<b>I-7-5- Utilisations ethnomédicinales de <i>Bridelia micrantha</i>.....</b>	<b>36</b>
<b>I-7-6- Propriétés pharmacologiques de <i>Bridelia micrantha</i>.....</b>	<b>37</b>

I-7-7- Constituants phytochimiques de <i>Bridelia micrantha</i> .....	37
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	39
II-1- Matériel.....	39
II-1-1- Matériel végétal.....	39
II-1-2- Matériel animal.....	39
II-2- Méthodes.....	39
II-2-1- Préparation de l'extrait aqueux des écorces de <i>Bridelia micrantha</i> .....	39
II-2-2- Préparation des solutions et des homogénats.....	40
II-2-3- Etude phytochimique qualitative.....	45
II-2-4- Evaluation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur les modèles d'anxiété transitoire.....	47
II-2-5- Evaluation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de <i>Bridelia micrantha</i> sur des modèles d'animaux d'anxiété chronique.....	53
II-3- Etude de la toxicité de l'extrait aqueux des écorces de <i>Bridelia micrantha</i> .....	57
II-3-1- Toxicité aiguë.....	57
II-3-2- Toxicité subchronique.....	58
II-3-3- Evaluation des paramètres hématologiques.....	59
II-3-4- Evaluation des paramètres biochimiques.....	60
II-4- Analyses biochimiques des paramètres neurochimiques sur les modèles d'anxiété chronique.....	60
II-4-1- Evaluation de la concentration de la sérotonine dans le plasma.....	60
II-4-2- Evaluation de la concentration de la corticostérone dans le plasma.....	62
II-5- Evaluation de quelques marqueurs du stress oxydant tissulaire.....	64
II-5-1- Dosage des nitrites.....	64
II-5-2- Dosage de la catalase.....	65
II-5-3- Dosage de la malondialdéhyde.....	67
II-5-4- Dosage du glutathion réduit.....	68
II-5-5- Dosage de la superoxyde dismutase.....	68
II-5-6- Dosage des protéines totales tissulaires.....	69
II-6- Analyse statistique des résultats.....	70
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION.....	71
III-1- Résultats.....	71
III-1-1- Composition phytochimique qualitative de l'extrait aqueux des écorces du tronc de <i>Bridelia micrantha</i> .....	71

III-1-2- Propriétés ansiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de <i>Bridelia micrantha</i> dans l'anxiété transitoire.....	71
III-1-3- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'anxiété chronique.....	104
III-1-4- Toxicité de l'extrait aqueux des écorces du tronc de <i>Bridelia micrantha</i> .....	148
<b>III-2- DISCUSSION .....</b>	<b>160</b>
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>171</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>173</b>
<b>PUBLICATION ISSUES DE LA THESE .....</b>	<b>a</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Vue latérale des principales régions de l'encéphale .....	6
<b>Figure 2</b> : Schéma situant le cervelet, le tronc cérébral, le système limbique et les différents lobes du système nerveux central.....	6
<b>Figure 3</b> : Organisation du système nerveux .....	7
<b>Figure 4</b> : Schéma d'une cellule nerveuse.....	8
<b>Figure 5</b> : Récepteur GABA <sub>A</sub> .....	13
<b>Figure 6</b> : Schéma de l'axe corticotrope.....	33
<b>Figure 7</b> : Photos de <i>Bridelia micrantha</i> .....	36
<b>Figure 8</b> : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des écorces de <i>Bridelia micrantha</i> . .	40
<b>Figure 9</b> : Dispositif du labyrinthe en croix surélevé .....	49
<b>Figure 10</b> : Dispositif de l'arène ouverte .....	50
<b>Figure 11</b> : Dispositif de la planche à trous.....	52
<b>Figure 12</b> : Dispositif pour induire un stress par immobilisation chronique des souris.....	55
<b>Figure 13</b> : Dispositif de la séparation maternelle des petits dans des boxes.....	56
<b>Figure 14</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la sérotonine. ....	62
<b>Figure 15</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la corticostérone. ....	64
<b>Figure 16</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des nitrites. ....	65
<b>Figure 17</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la catalase. ....	66
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.....	70
<b>Figure 19</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la température rectale.....	72
<b>Figure 20</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'hyperthermie induite par le stress.....	73
<b>Figure 21</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de lignes traversées dans l'arène ouverte .....	74
<b>Figure 22</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de toilettages dans l'arène ouverte.....	75
<b>Figure 23</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements dans l'arène ouverte .....	76
<b>Figure 24</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la masse de selles produites dans l'arène ouverte .....	77
<b>Figure 25</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé au centre de l'arène ouverte.....	78

<b>Figure 26</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.....	79
<b>Figure 27</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia mirantha</i> sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	80
<b>Figure 28</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	81
<b>Figure 29</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	82
<b>Figure 30</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	83
<b>Figure 31</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête dans la planche à trous .....	84
<b>Figure 32</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'inclinaisons de la tête dans la planche à trous.....	85
<b>Figure 33</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la durée d'inclinaison de la tête dans la planche à trous.....	86
<b>Figure 34</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements dans la planche à trous .....	87
<b>Figure 35</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la durée du redressement dans la planche à trous .....	88
<b>Figure 36</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence de la bicuculline sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	90
<b>Figure 37</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence de la bicuculline sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.....	92
<b>Figure 38</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence de la bicuculline sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé..	94
<b>Figure 39</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence de la bicuculline sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	96
<b>Figure 40</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence du flumazénil sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.....	98
<b>Figure 41</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence du flumazénil sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.....	100
<b>Figure 42</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence du flumazénil sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé ....	102

<b>Figure 43</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> en présence du flumazénil sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé .....	104
<b>Figure 44</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'évolution pondérale des souris soumises au stress par immobilisation chronique.....	105
<b>Figure 45</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.....	106
<b>Figure 46</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé dans les bras du labyrinthe chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.....	108
<b>Figure 47</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans le labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	109
<b>Figure 48</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	110
<b>Figure 49</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	111
<b>Figure 50</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de lignes traversées dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.....	112
<b>Figure 51</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de toilettages dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique...	113
<b>Figure 52</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	114
<b>Figure 53</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé au centre de l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique...	115
<b>Figure 54</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la masse de selles produites dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	116
<b>Figure 55</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le taux de sérotonine plasmatique chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	117
<b>Figure 56</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le taux de corticostérone plasmatique chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique .....	118

<b>Figure 57</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'évolution pondérale des souris soumises à la séparation maternelle.....	119
<b>Figure 58</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle .....	120
<b>Figure 59</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	121
<b>Figure 60</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	122
<b>Figure 61</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	124
<b>Figure 62</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle .....	125
<b>Figure 63</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	126
<b>Figure 64</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'inclinaisons de la tête dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	127
<b>Figure 65</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la durée de l'inclinaison de la tête dans la planche trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.....	128
<b>Figure 66</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle .....	129
<b>Figure 67</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la durée du redressement dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle .....	130
<b>Figure 68</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le taux de sérotonine plasmatique chez les souris après le stress de la séparation maternelle.....	131

<b>Figure 69</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le taux de corticostérone plasmatique chez les souris soumises à la séparation maternelle .....	132
<b>Figure 70</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'évolution pondérale des souris traitées à la nicotine pendant 14 jours .....	133
<b>Figure 71</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de nicotine pendant 14 jours .....	134
<b>Figure 72</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	135
<b>Figure 73</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans le labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	136
<b>Figure 74</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	138
<b>Figure 75</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après un stress subchronique de 14 jours induit par la nicotine.....	139
<b>Figure 76</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de lignes traversées après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	140
<b>Figure 77</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de toilettings après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours. ....	141
<b>Figure 78</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le nombre de redressements après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	142
<b>Figure 79</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le temps passé au centre de l'arène ouverte après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	143
<b>Figure 80</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur la masse de selles produites après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.....	144
<b>Figure 81</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'évolution pondérale des souris en essai aigu.....	149
<b>Figure 82</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur l'évolution pondérale des souris en toxicité subchronique.....	152

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Données pour la réalisation de la courbe standard de la sérotonine.....	61
<b>Tableau II</b> : Données pour la réalisation de la courbe standard de la corticostérone .....	63
<b>Tableau III</b> : Mode opératoire pour le dosage et l'étalonnage des nitrites .....	65
<b>Tableau IV</b> : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase .....	66
<b>Tableau V</b> : Protocole de dosage des protéines totales .....	69
<b>Tableau VI</b> : Caractérisation phytochimique qualitative des écorces de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> .....	71
<b>Tableau VII</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur quelques paramètres du stress oxydant dans le cerveau des animaux traités à la nicotine pendant 14 jours .	147
<b>Tableau VIII</b> : Réactions comportementales des souris après administration d'une dose unique de l'extrait aqueux des écorces de <i>B. micrantha</i> .....	148
<b>Tableau IX</b> : Paramètres comportementaux des souris traitées à l'extrait aqueux de <i>B. micrantha</i> pendant 4 semaines .....	151
<b>Tableau X</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur le poids relatif de quelques organes après le traitement subchronique .....	153
<b>Tableau XI</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur quelques paramètres hématologiques .....	156
<b>Tableau XII</b> : Effets de l'extrait aqueux de <i>Bridelia micrantha</i> sur quelques paramètres biochimiques .....	159

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>5HT</b>	: 5-Hydroxytryptamine
<b>ACTH</b>	: “Adreno Corticotropic Hormone”
<b>ATV</b>	: Aire tégumentaire ventrale
<b>CCK</b>	: Cholécystokinine
<b>CRH</b>	: “Corticotropin Releasing Hormone”
<b>DH-<math>\beta</math>E</b>	: Dihydro-béta-érytroïdine
<b>DL<sub>50</sub></b>	: Dose létale 50
<b>EDTA</b>	: Ethylène diamine tétra-acétique
<b>ELISA</b>	: “Enzyme-linked-Immuno Sorbent Assay”
<b>EROs</b>	: Espèces réactives oxygénées
<b>GABA</b>	: Acide gamma amino-butyrrique
<b>HIS</b>	: Hyperthermie induite par le stress
<b>IMAO</b>	: Inhibiteur de la monoamine oxydase
<b>MLA</b>	: N-Méthyllycaconitine
<b>NA</b>	: Noradrénaline
<b>nAchRS</b>	: Récepteurs nicotiniques de l’acétylcholine
<b>NMDA</b>	: N-méthyl-D-aspartate
<b>NPY</b>	: Neuropeptide Y
<b>NRD</b>	: Noyaux du raphé dorsal
<b>OCED</b>	: Organisation de Coopération et de Développement Economique
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>POMC</b>	: Pro-opio mélanocortine
<b>PVN</b>	: Noyau paraventriculaire
<b>SNC</b>	: Système nerveux central
<b>TAG</b>	: Trouble d’anxiété généralisée
<b>TAS</b>	: Trouble d’anxiété sociale
<b>TOC</b>	: Trouble obsessionnel compulsif
<b>TSPT</b>	: Trouble de stress post traumatique

## RESUME

Les troubles anxieux constituent la forme la plus fréquente de troubles psychiatriques touchant près de 21 % de la population au cours de la vie. Ces troubles sont à l'origine d'une morbidité et d'un coût de santé élevé et constituent un véritable problème de santé publique car elles réduisent la productivité au travail et l'espérance de vie des populations. Les traitements conventionnels ne conviennent pas toujours et/ou présentent de nombreux effets indésirables, d'où le recours à la médecine traditionnelle. *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae), est une plante traditionnellement utilisée au Cameroun pour le traitement de nombreuses maladies neurologiques parmi lesquelles l'anxiété et l'épilepsie. La présente étude avait pour but d'évaluer les propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur des modèles d'anxiété transitoire et chronique chez la souris. Le comportement anxieux transitoire des souris a été évalué par l'hyperthermie induite par le stress (HIS), les tests du labyrinthe en croix surélevé (EPM), de l'arène ouverte et de la planche à trous. Dans les tests de l'anxiété chronique induite par immobilisation chronique (SIC), séparation maternelle (SM), ou par ingestion chronique de nicotine, les paramètres comportementaux des animaux ont été évalués par le test de l'EPM, de l'arène ouverte ou de la planche à trous. Au terme de la période expérimentale dans les tests d'anxiété chronique (SIC et SM), l'activité de la sérotonine et de la corticostérone a été déterminée dans le plasma par la méthode ELISA. Le statut oxydant de l'homogénat du cerveau a été évalué après ingestion chronique de nicotine (*p.o*) par les analyses colorimétriques. Dans chaque test, les souris étaient réparties en général en lots de 6 animaux chacun comprenant un témoin normal, un témoin négatif, un témoin positif et trois lots tests. Les limites de l'utilisation de l'extrait de plante ont été évaluées en étude de toxicité aiguë et subchronique. Dans le test de l'hyperthermie induite par le stress, l'extrait de plante (76, 152 et 305 mg/kg) tout comme le phénobarbital (20 mg/kg) a diminué significativement ( $p < 0,001$ ) la température rectale moyenne des souris par rapport aux souris témoins. Dans l'EPM, l'extrait de plante (76, 152 et 305 mg/kg) tout comme le diazépam (3 mg/kg) a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) le nombre d'entrées, le pourcentage du nombre d'entrées, le temps passé et le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe était de 53,61 % et 73,89 % chez les souris traitées à l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg par rapport aux souris témoins où il était de 12 %. La bicuculline et le flumazénil ont inhibé significativement les effets anxiolytiques induits par l'extrait de plante aux doses de 152 et 305 mg/kg. Dans le test de l'arène ouverte, les résultats ont montré une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du

nombre de lignes traversées, du nombre de toilettages et du temps passé au centre de l'arène ouverte chez les souris traitées à l'extrait de plante à toutes les doses et au diazépam (0,3 mg/kg). Le nombre de lignes traversées est passé de  $17,33 \pm 0,55$  chez les souris témoins à  $30,50 \pm 0,56$  ;  $42,50 \pm 3,18$  et  $52,17 \pm 2,90$  chez celles traitées à l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Dans la planche à trous, l'extrait de plante a diminué de manière significative ( $p < 0,001$ ) le temps de latence de la première inclinaison de la tête, le nombre de redressements et augmenté significativement le nombre d'inclinaisons de la tête. L'évaluation des paramètres comportementaux des souris après induction de l'anxiété chronique montre également que cet extrait posséderait des propriétés anxiolytiques. Il a été observé par rapport aux souris témoins négatifs, une diminution ( $p < 0,001$ ) de l'activité de la corticostérone et une augmentation ( $p < 0,001$ ) de la sérotonine dans le plasma. La concentration plasmatique de corticostérone a diminué de 21,68 % et de 43,62 % aux doses respectives de 76 mg/kg et de 305 mg/kg de l'extrait de plante par rapport au témoin négatif. Le stress induit par une ingestion chronique de nicotine a entraîné une diminution de l'activité cérébrale de la SOD et de la catalase, du taux de glutathion réduit et une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA). Ces différents paramètres ont été améliorés par l'extrait de plante, suggérant que cet extrait aurait des propriétés antioxydantes. La dose létale 50 de l'extrait de plante a été estimée supérieure à 5000 mg/kg, suggérant une toxicité relativement faible. En toxicité subchronique, l'extrait a induit une diminution significative ( $p < 0,01$ ) de l'activité de l'ALAT et de l'ASAT, du taux de cholestérol total, de triglycérides et de LDL-cholestérol ; Le taux de HDL-cholestérol a augmenté significativement. Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* exercerait ses effets anxiolytiques en interférant au niveau des systèmes de neurotransmission (GABA, sérotonine, corticostérone) et par l'intermédiaire de ses propriétés antioxydantes. Ces résultats justifient l'utilisation empirique de cette plante pour la prise en charge des troubles du système nerveux comme l'anxiété.

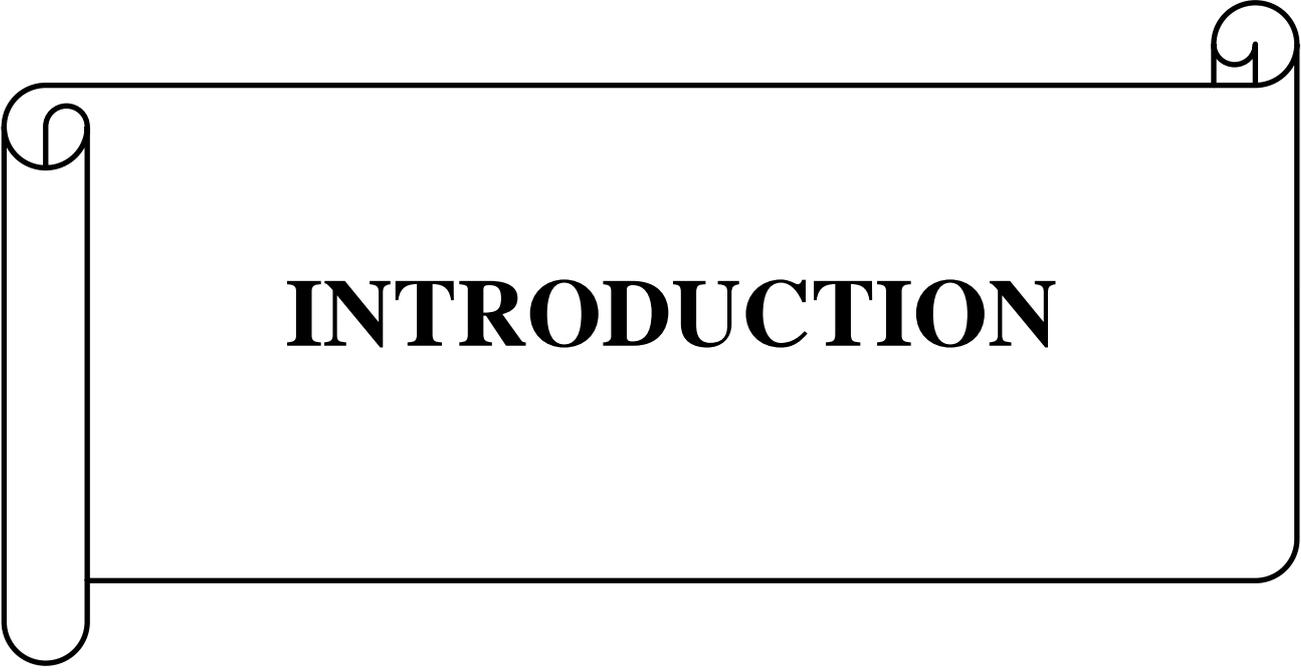
**Mots clés :** *Bridelia micrantha*, souris, stress, anxiolytique, antioxydant, toxicité.

## ABSTRACT

Anxiety disorders are the most common psychiatric disorders affecting nearly 21 % population over lifetime. These disorders lead to high morbidity and health costs and constitute a real public health problem because they reduce work and life expectancy. Conventional treatments are not always appropriate and/or have many side effects. Hence, traditional medicine is heavily used. *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae) is a plant traditionally used in Cameroon to treat many neurological diseases, including anxiety and epilepsy. The aim of the present study was to assess the anxiolytic properties of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* stem bark on transient and chronic anxiety mice models. Transient anxiety behavior in mice was assessed by stress-induced hyperthermia (SIH), elevated plus maze (EPM), open field, and hole board tests. In tests of chronic anxiety induced by chronic immobilization stress (CIS), maternal separation (MS), or chronic ingestion of nicotine, behavioral parameters of animals were assessed by the EPM, open field or hole board test. At the end of the experimental period in chronic anxiety tests (CIS and MS), serotonin and corticosterone activity was determined in plasma by ELISA. The oxidative status of brain sample was assessed after chronic nicotine ingestion (*p.o.*, 1.5 mg/kg) by colorimetric analyzes. In each test, mice were generally randomized into 6 animals per group. Normal, negative and positive controls, and three test groups. The limits of the use of the plant extract were evaluated in an acute and sub-chronic toxicity study. In the stress-induced hyperthermia test, both plant extract (76, 152 and 305 mg/kg) and phenobarbital (20 mg/kg) significantly ( $p < 0.001$ ) decreased rectal temperature of mice compared to control mice. In EPM, plant extract (76, 152 and 305 mg/kg) as well as diazepam (3 mg/kg) significantly ( $p < 0.001$ ) increased the number of entries, percentage of number of entries, time spent and percentage of time spent in open arms of the elevated plus maze compared to control mice. Percentage number of entries in the open arms of the elevated plus maze was 53,61 % and 73,89 % in mice receiving plant extract at 152 and 305 mg/kg respectively, compared to control mice. Bicuculline and flumazenil significantly inhibited the anxiolytic effects induced by plant extract at 152 and 305 mg/ kg. In the open field test, the results showed a significant ( $p < 0.001$ ) increase of the number of crossing, the number of grooming and time spent in the center of open field in mice treated with plant extract at all doses and diazepam (0.3 mg/kg). The number of crossing increased from  $17.33 \pm 0.55$  in control mice to  $30.50 \pm 0.56$ ;  $42.50 \pm 3.18$  and  $52.17 \pm 2.90$  in those treated with plant extract at 76, 152 and 305 mg/kg respectively. In the hole board test, plant extract significantly ( $p < 0.001$ ) decreased the latency time of the first headdipping, the number of rearing, and significantly increased

the number of headdippings. The assessment of behavioral parameters of mice after induction of chronic anxiety also showed that the plant extract would have anxiolytic properties. Compared to the negative control, a decrease ( $p < 0.001$ ) in corticosterone activity and an increase ( $p < 0.001$ ) in serotonin in plasma were observed. Plasma corticosterone significantly decreased of 21.68 % and of 43.62 % at 152 and 305 mg/kg respectively of plant extract compared to the negative control. Stress induced by chronic nicotine ingestion (*p.o*) resulted in decrease brain SOD and catalase activity, reduced glutathione levels and increase malondialdehyde (MDA) levels. These parameters were improved by the plant extract at all doses, suggesting that this extract would have antioxidant properties. The LD<sub>50</sub> of the plant extract was estimated to be greater than 5000 mg/kg, suggesting a relatively low toxicity. In the sub-chronic toxicity study, the extract induced a significant decrease ( $p < 0.01$ ) in ALAT and ASAT activity, total cholesterol, triglycerides and LDL-cholesterol levels; HDL-cholesterol levels were significantly increased. The results of this study showed that the aqueous extract of *Bridelia micrantha* exerts its anxiolytic effects by interfering with neurotransmission systems (GABA, serotonin, and corticosterone) and through its antioxidant properties. These results justify the empirical use of this plant for the management of nervous system disorders such as anxiety.

**Key words:** *Bridelia micrantha*, mouse, stress, anxiolytic, antioxidant, toxicity.



# **INTRODUCTION**

Les maladies psychiatriques regroupent un ensemble vaste et varié de problèmes de santé qui se caractérisent généralement par une combinaison de pensées, d'émotions, de comportements et de rapports anormaux avec autrui (OMS, 2014). De nos jours, la perception de l'état sanitaire des populations, quelle que soit leur appartenance sociale, laisse entrevoir que « la santé n'est pas seulement l'absence de maladies ou d'infirmités, mais aussi un état complet de bien-être physique, mental et social » (OMS, 2016). La santé mentale est « l'aptitude du psychisme à fonctionner de façon harmonieuse, agréable, efficace et à faire face avec souplesse aux situations difficiles tout en étant capable de retrouver son équilibre ». Une personne en « bonne santé mentale » est une personne capable de gérer les situations difficiles de la vie, traversées par tout un chacun : échec, deuil, séparation, maladies et autres. Le mental ou le psychique représente donc une dimension très importante de notre être, malgré le fait qu'il soit sujet à certains troubles plus ou moins connus (OMS, 2014). C'est le cas des troubles mentaux qui sont en recrudescence dans le monde entier de telle sorte qu'entre 1990 et 2013, le nombre de personnes souffrant de dépression et/ou d'anxiété a augmenté de près de 50 %, passant de 416 millions à 615 millions de victimes (OMS, 2016). Près de 10 % de la population mondiale est affectée et les troubles mentaux représentent 30 % de la charge de morbidité mondiale non létale (OMS, 2016). Selon les estimations de l'OMS, dans les situations d'urgence, jusqu'à une personne sur cinq souffre de dépression ou d'anxiété (OMS, 2016). Les personnes victimes sont souvent angoissées, tendues et ont souvent le sentiment de ne pas pouvoir faire face à leurs obligations. L'anxiété est un état émotionnel négatif, d'agitation interne fréquent, caractérisé par des sentiments d'inquiétude et d'appréhension, accompagné de manifestations somatiques, cognitives et comportementales spécifiques (Philippe, 2015). L'anxiété peut être distinguée de la peur en ce sens qu'il s'agit d'un état non spécifique de conscience et d'appréhension exacerbée ou accrue, alors que la peur vise une menace identifiée spécifique. La peur implique la présence d'un danger réel et la connaissance de celui-ci ; tandis que l'anxiété, même si elle peut parfois se rattacher à un danger, se manifeste principalement dans la perspective, dans l'attente de ce danger qui est inconnu et qui peut même parfois ne pas être défini (Boulenger et Lépine, 2014). En tout état de cause, l'anxiété fait partie du répertoire comportemental normal et constitue un mécanisme de défense efficace pour sensibiliser le public et lui permettre de réagir rapidement face à de nouvelles situations. Néanmoins, lorsqu'elle est excessivement sévère ou fréquente, et qu'elle apparaît dans des contextes inappropriés, elle peut interférer avec le fonctionnement normal et peut donc être considérée comme pathologique. Les symptômes d'anxiété peuvent apparaître en réponse à des indices environnementaux

spécifiques, tels que des phobies, ou êtres non spécifiques et omniprésents, comme des troubles anxieux généralisés (Philippe, 2015). La forme pathologique de l'anxiété la plus fréquente est l'attaque de panique (ou crise d'angoisse aiguë) qui est présente dans de nombreux troubles psychiatriques (troubles paniques, anxiété généralisée, troubles phobiques, troubles obsessionnels compulsifs, troubles somatoformes et dissociatifs, schizophrénie et les troubles délirants...) ainsi que lors d'intoxications aiguës ou chroniques (alcool, cannabis, cocaïne, nicotine...) (Grant *et al.*, 2009, Glen et Gabbard, 2014, Mairaira *et al.*, 2020) ou de pathologies organiques (infarctus du myocarde, embolie pulmonaire, asthme, AVC, hypoglycémie...). Les troubles anxieux comptent parmi les troubles mentaux les plus courants ; leur prévalence au cours de la vie est de 16 à 29 % (Kessler *et al.*, 2005; Kessler *et al.*, 2009). Les troubles anxieux sont courants dans la pratique clinique et sont associés à une comorbidité élevée (Sareen *et al.*, 2006). Au Cameroun, plus précisément dans trois hôpitaux de la ville de Yaoundé, une étude sur l'anxiété préopératoire vécue par les sujets adultes admis pour une chirurgie élective réalisée par Bengono Bengono *et al.*, 2019 a révélé que les manifestations psychiques (51,6 %) de l'anxiété étaient plus fréquentes que les plaintes somatiques (49,4 %) et que 59 % des futurs opérés étaient anxieux (Bengono Bengono *et al.*, 2019). Parmi les troubles anxieux, la phobie spécifique et le trouble d'anxiété sociale sont les plus courants, leurs taux de prévalence au cours de la vie sont de 18,4 et 13,0 %, respectivement (Kessler *et al.*, 2012). Le trouble panique, le trouble d'anxiété généralisée (TAG), l'agoraphobie et le trouble d'anxiété de séparation ont chacun une prévalence au cours de la vie atteignant 2 à 7 % (Kessler *et al.*, 2012 ; Vallence et Fernandez, 2016). Bien que tous les troubles anxieux aient comme caractéristiques principales la peur excessive, l'anxiété et l'évitement, ils diffèrent quant à l'objet ou à la situation à l'origine de l'inquiétude et ainsi qu'à la durée (American psychiatric association, 2013). Les benzodiazépines et les barbituriques, sont utilisés pour traiter l'anxiété (O'Connor *et al.*, 2003; O'Brien, 2005). Ils présentent un risque de dépendance lors d'une utilisation à long terme, ont des effets sédatifs indésirables et des incidences sur les fonctions cognitives comme l'altération de la mémoire (Lader, 2011). Les antidépresseurs, en particulier les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), les inhibiteurs de la recapture sélectifs de la noradrénaline (IRSNa) ou les inhibiteurs mixtes de la sérotonine et de la noradrénaline (Wong et Licinio, 2004) sont également utilisés en première intention pour le traitement des troubles anxieux (Andrews *et al.*, 2018). Ces antidépresseurs ont également des effets secondaires variés en fonction de la sensibilité des patients entre autres : la somnolence, la prise ou perte de poids, la sécheresse de la bouche, la baisse de la pression artérielle, les nausées, les diarrhées, les troubles de la sexualité et le risque cardiométabolique (Azevodo *et*

al., 2016). C'est ainsi que la prise en compte des alternatives avec moins d'effets indésirables s'avère nécessaire. Au cours des dernières années, l'on s'intéresse de plus en plus à l'utilisation de médicaments à base de plantes (Bagetta *et al.*, 2011). L'OMS estime à près de 80 % la population qui utilise la médecine traditionnelle à base de plantes pour leurs besoins de santé primaire (OMS, 2013). *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae) qui fait l'objet de cette étude est une plante largement utilisée en Afrique tropicale pour ses nombreuses vertus thérapeutiques, notamment dans le traitement des brûlures, des plaies, de la conjonctivite, de la constipation, des ulcères gastriques, de la toux, des maux de tête, du rhumatisme, de la dysenterie amibienne, du paludisme, des infections sexuellement transmissibles, des diarrhées et bien d'autres (Maroyi, 2017). Les écorces de cette plante sont utilisées dans la région du centre au Cameroun pour le traitement de nombreuses maladies neurologiques parmi lesquelles l'anxiété, l'épilepsie, l'insomnie et les maux de tête (Ngo Bum *et al.*, 2012). Les travaux antérieurs dans notre équipe de recherche ont montré les propriétés anticonvulsivantes et sédatives de la décoction des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* (Ngo Bum *et al.*, 2012). Chaque syndrome épileptique se manifeste par une grande variété de symptômes et est accompagné de troubles de l'humeur, de la cognition, du sommeil (Moto *et al.*, 2018; Champagne, 2018). Les comorbidités psychiatriques les plus souvent rapportées dans la population atteinte d'épilepsie sont la dépression et l'anxiété (Moto *et al.*, 2018; Champagne, 2018). Plusieurs travaux pharmacologiques du comportement chez les rongeurs, montrent que des mécanismes communs existent dans l'épilepsie, dans certaines formes d'anxiétés et dans certains processus mnésiques (Chapouthier *et al.*, 2002; Moto *et al.*, 2018). En effet, chez les vertébrés, les structures du cerveau (système limbique) responsables de l'anxiété sont aussi impliquées dans la mémoire et l'épilepsie. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pourrait être utilisé comme alternatif de traitement de l'anxiété.

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer les propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* chez la souris.

Il s'agissait spécifiquement de :

- déterminer les propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur les modèles expérimentaux d'anxiété transitoire induits par différents paradigmes stressants,
- déterminer les effets anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur quelques modèles d'anxiété chronique,
- d'évaluer la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha*.



**CHAPITRE I : REVUE DE  
LA LITTERATURE**

## I-1- Généralités sur le système nerveux

Le système nerveux est l'ensemble des structures permettant la réception, l'intégration, la transformation et la transmission des informations provenant à la fois de l'organisme et de son environnement. C'est le centre de régulation et de communication de l'organisme. En outre, nos pensées et nos émotions attestent son activité (Poirier, 2009 ; Rang *et al.*, 2012). Ses cellules communiquent au moyen de signaux électriques rapides et spécifiques qui entraînent des réponses quasi-immédiates. Il remplit trois fonctions étroitement liées:

- récepteurs sensoriels: reçoit l'information sur les changements qui se produisent tant à l'intérieur qu'à l'extérieur de l'organisme ; ces changements sont appelés stimuli et l'information recueillie est appelée information sensorielle ;
- il traite et interprète l'information sensorielle et détermine l'action à entreprendre à tout moment ; ce qui constitue le processus de l'intégration ;
- il fournit une réponse motrice qui active les muscles ou les glandes (Poirier, 2009 ; Purves *et al.*, 2012 ; Rang *et al.*, 2012 ).

Du point de vue anatomique, le système nerveux est divisé en deux composantes principales à savoir :

Le système nerveux central (SNC), comme l'indique les figures 1 et 2, comprend l'encéphale correspondant aux trois organes qui sont situés dans la cavité de la boîte crânienne à savoir le cerveau, le cervelet et le tronc cérébral ; et la moelle épinière, située dans le canal rachidien qui résulte de la superposition des vertèbres de la colonne vertébrale (Purves *et al.*, 2012 ; Rang *et al.*, 2012). Son rôle est de recevoir, d'enregistrer, d'interpréter les signaux qui parviennent de la périphérie, et d'organiser la réponse à envoyer. Le système nerveux central ou nevraxe est formé du cerveau (divisé en cerveau postérieur ou rhombencéphale, cerveau médian ou mésencéphale et le cerveau antérieur ou prosencéphale), du cervelet et du tronc cérébral (Purves *et al.*, 2012). Ces organes du système nerveux central sont des centres d'intégration qui analysent et interprètent les informations sensorielles afin de donner des commandes motrices basées sur l'expérience de l'individu, sur les réflexes ainsi que sur les conditions qui prévalent dans l'environnement externe. L'ensemble du système nerveux central est protégé par une enveloppe osseuse, constituée de la boîte crânienne pour l'encéphale et de la colonne vertébrale pour la moelle épinière. D'autres enveloppes de tissu protecteur sont situées entre l'os et le nevraxe : ce sont les méninges. Le liquide céphalo-rachidien est un liquide biologique dans lequel baigne le névraxe. Son volume est d'environ 150 mL chez

l'homme adulte. Il se renouvelle rapidement et a des fonctions de protection mécanique, anti-infectieuse, nutritive. (Poirier, 2009 ; Purves *et al.* , 2012 ).

Le système nerveux périphérique (SNP) en parfaite continuité avec le SNC, est composé des organes du système nerveux situés à l'extérieur de la cavité crânienne et du canal rachidien ; donc à l'extérieur du système nerveux central. Ces organes correspondent aux différents nerfs rattachés à l'encéphale ou à la moelle épinière (Rang *et al.*, 2012). Les nerfs qui se rattachent au tronc cérébral de l'encéphale sont appelés nerfs crâniens alors que ceux qui se rattachent à la moelle épinière sont des nerfs rachidiens ou spinaux car ils émergent du canal rachidien (Purves *et al.*, 2012). Son rôle est de conduire jusqu'au SNC les informations issues des récepteurs périphériques de la sensibilité et de la douleur, et de transmettre les ordres moteurs émis par les centres nerveux.

Le système nerveux périphérique est formé principalement des nerfs spinaux qui transmettent les influx entre les régions du corps et la moelle épinière et inversement ; et des nerfs crâniens qui acheminent les influx entre les parties du corps et l'encéphale et inversement (Rang *et al.*, 2012). Le SNP comprend deux voies : la voie sensitive ou afférente composée de fibres nerveuses qui transportent les influx vers le SNC et la voie motrice ou efférente qui permet le transport des influx du SNC vers les muscles et les glandes. Ces influx nerveux activent les muscles et les glandes et déclenchent une réponse motrice (Purves *et al.*, 2012 ; Rang *et al.*, 2012). Cette dernière voie comprend aussi deux systèmes ou deux subdivisions : le système nerveux somatique appelé souvent le système nerveux volontaire car il permet d'exercer une maîtrise consciente (les neurones sont impliqués dans les mouvements volontaires et les sensations conscientes) qui achemine des influx vers les muscles squelettiques, et le système nerveux autonome (SNA) ou neurovégétatif appelé aussi système nerveux involontaire puisqu'il régit le milieu interne qui règle l'activité des muscles lisses, du muscle cardiaque et des glandes (constitué de neurones qui gèrent les fonctions automatiques de régulation) (Rang *et al.*, 2012). Enfin, le SNA comprend deux subdivisions fonctionnelles à savoir les systèmes nerveux sympathiques et parasympathiques qui exercent des effets antagonistes sur l'activité d'un même viscère (Zayed *et al.* , 2003 ; Rang *et al.*, 2012). La physiologie du système neurovégétatif consiste à assurer de manière adaptée à l'environnement les fonctions vitales : respiration, pression artérielle, thermorégulation, digestion, excrétion et résistance au stress. La partie sympathique mobilise l'organisme dans les situations extrêmes (la peur, l'exercice ou la colère), tandis que la partie parasympathique favorise la détente et l'économie d'énergie (Figure 3).

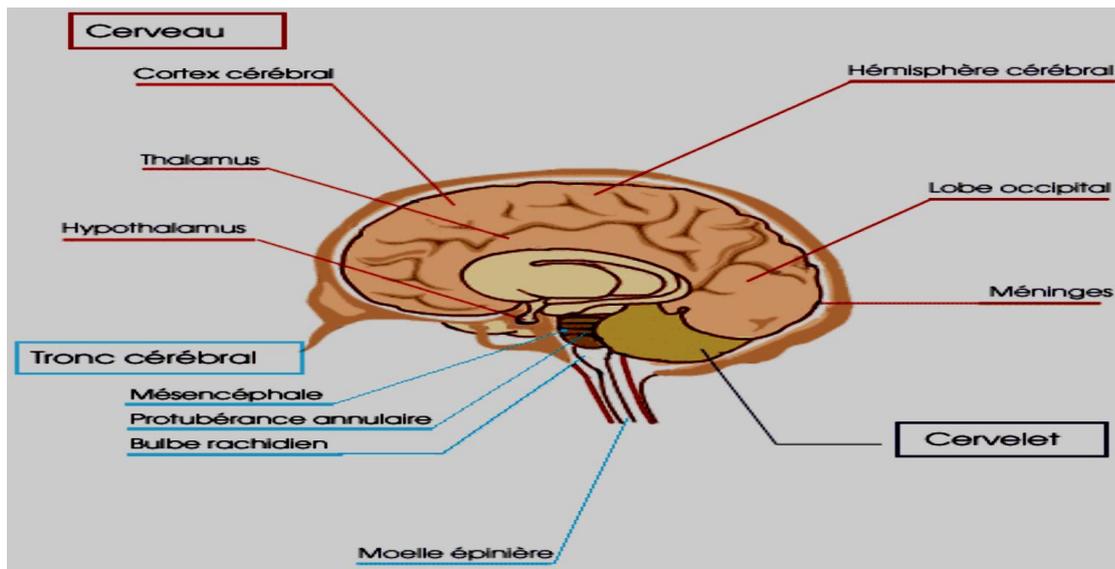


Figure 1 : Vue latérale des principales régions de l'encéphale (Poirier, 2009).

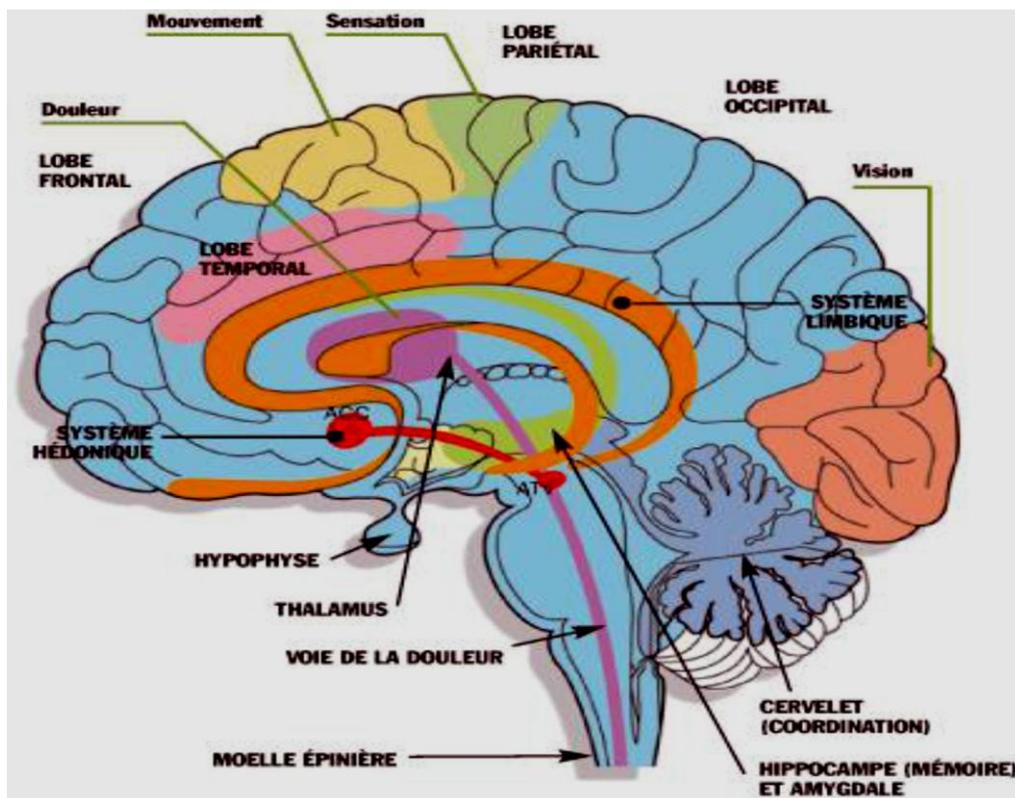
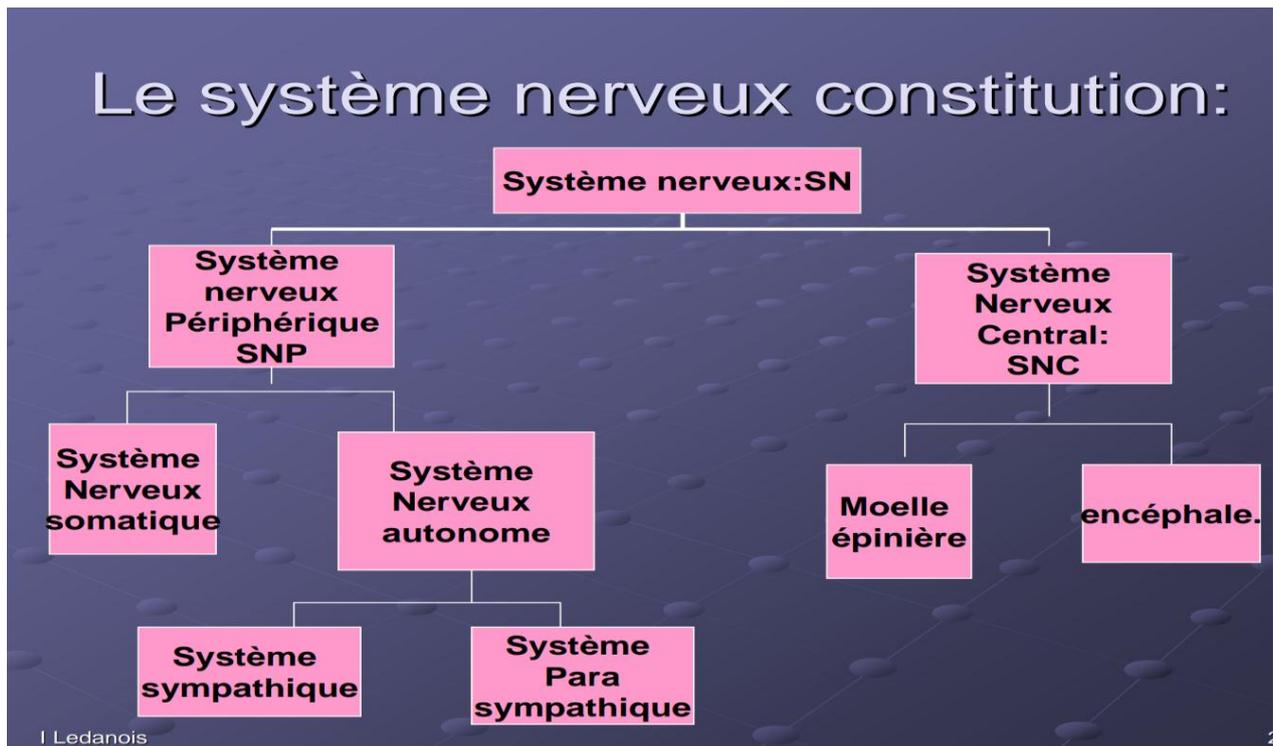


Figure 2 : Schéma situant le cervelet, le tronc cérébral, le système limbique et les différents lobes du système nerveux central (Purves *et al.*, 2012).



**Figure 3 :** Organisation du système nerveux (Purves *et al.*, 2012).

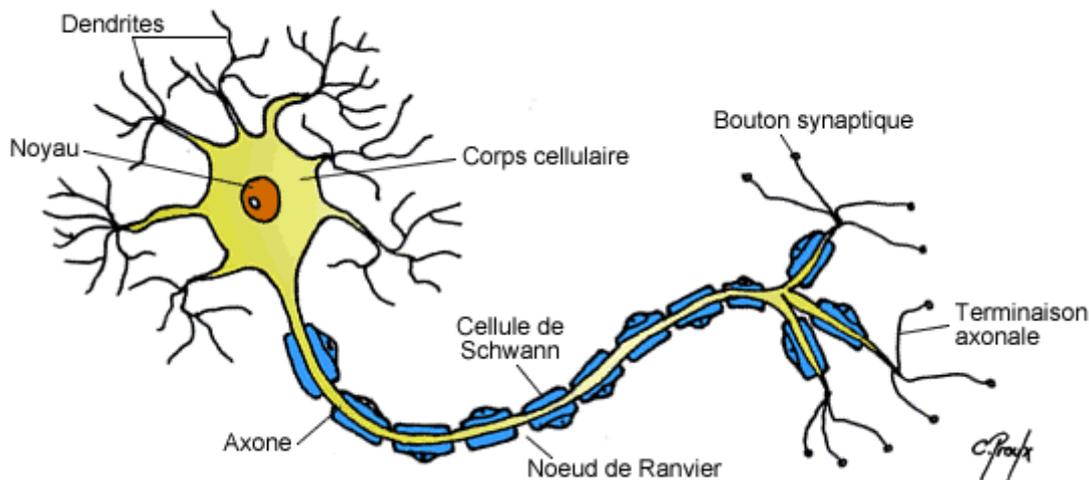
## I-2- Cellules du système nerveux

Par l'examen microscopique du SN, il est possible de distinguer les cellules qui constituent le SNC et leur organisation. Les éléments constitutifs sont les neurones, les cellules gliales aussi appelées glie (astrocytes, cellules épendymaires, oligodendrocytes et cellules microgliales), les vaisseaux sanguins et la matrice extracellulaire (MEC) (Poirier, 2009 ; Rang *et al.*, 2012). En effet deux principaux types de cellules constituent le système nerveux, les cellules gliales, ou névroglies (90% des cellules) et les neurones ou cellules nerveuses (10%) (Purves *et al.*, 2012).

### I-2-1- Cellules nerveuses ou neurones

Les neurones (Figure 4) sont les unités structurales et fonctionnelles du système nerveux. Ils ont pour tâche d'acheminer les messages de nature électrique ou chimique à travers tout l'organisme en communiquant entre eux via un réseau complexe. Ils reçoivent, traitent et transmettent des informations codées sous la forme de signaux ou influx nerveux (Poirier, 2009; Purves *et al.*, 2012 ). Ils possèdent une longévité extrême qui s'accompagne pourtant d'un défaut majeur. Une fois détruits, les neurones ne sont pas régénérés ; ceci, dû au fait que leur spécialisation poussée s'est faite au détriment de leur capacité mitotique. Délimité par sa membrane, le neurone est constitué par un corps cellulaire d'où partent des prolongements de

deux types : les dendrites et l'axone ; lesquels diffèrent par de nombreux caractères. Les dendrites, habituellement multiples, et toujours très courtes, conduisent l'influx nerveux vers le corps cellulaire. L'axone, toujours unique, parfois très long, conduit l'influx nerveux à partir du corps cellulaire jusqu'à ses cibles. Certains axones sont entourés par une gaine de myéline qui les isole électriquement et augmente considérablement la vitesse de propagation de l'influx nerveux (Rang *et al.*, 2012). Le noyau des neurones est, comme celui de toutes les cellules de l'organisme, le dépositaire de la totalité du patrimoine génétique de l'individu (inscrit dans l'ADN des chromosomes). Leur cytoplasme contient tous les composants habituels de la cellule. Le cytosquelette permet la réalisation des transports d'organites et de molécules à l'intérieur du neurone, dans les deux sens (du corps cellulaire vers les terminaisons axonales et inversement). La fabrication des protéines a lieu dans le corps cellulaire du neurone et ne peut se produire dans l'axone. Les produits nouvellement synthétisés doivent donc cheminer le long de l'axone pour permettre le maintien de l'intégrité de la terminaison nerveuse, parfois très éloignée du corps cellulaire (Poirier, 2009 ; Rang *et al.*, 2012).



**Figure 4** : Schéma d'une cellule nerveuse (Poirier, 2009).

### **I-2-2- Cellules gliales**

Les cellules gliales (Purves *et al.*, 2019) constituent le tissu de soutien du système nerveux. Elles assurent le lien avec les vaisseaux sanguins et apportent les nutriments essentiels au fonctionnement métabolique du système nerveux. Contrairement aux cellules neuronales, les cellules gliales peuvent se multiplier, voire proliférer et devenir cancéreuses. Elles sont plus petites, mais beaucoup plus nombreuses que les neurones. Elles ont gardé leur pouvoir de

multiplication et sont donc à la base des tumeurs du système nerveux. Elles forment une trame de soutien qui isole et nourrit les prolongements des neurones et peut phagocyter des déchets ou particules étrangères. Elles forment aussi les gaines de myéline (Poirier, 2009 ; Purves *et al.*, 2012 ).

On distingue notamment dans le système nerveux central :

\* Les astrocytes, sont les cellules les plus nombreuses de l'encéphale. Par leurs prolongements cytoplasmiques entrecroisés et jointifs, ils assurent la cohérence et la solidité de l'édifice cérébral et ; par leurs prolongements qui entourent complètement les capillaires sanguins, ils contribuent à la nutrition des neurones (qui n'ont pas de contact direct avec les capillaires) (Poirier, 2009 ; Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2012 ). Certains astrocytes sont en contact avec les méninges et le liquide céphalo-rachidien et jouent un rôle de filtre pour ce même liquide. Ils sont également reconnus pour avoir un impact important dans la cicatrisation du tissu nerveux suite à une lésion via un phénomène connu sous le nom de gliose réactionnelle (Poirier, 2009 ; Purves *et al.*, 2019). Ils renferment également un stock de sucre, sous la forme de glycogène, qui constitue la principale réserve énergétique du cerveau, car le sucre étant l'aliment préféré des neurones. Les astrocytes participent avec les neurones et les autres cellules gliales, au fonctionnement du SNC. Ils communiquent directement entre eux et échangent des informations avec les neurones grâce à de nombreuses jonctions communicantes. Ils permettent la sélectivité de la transmission nerveuse en empêchant la diffusion des neurotransmetteurs (Poirier, 2009 ; Purves *et al.*, 2012).

\* Les cellules épendymaires ou épendymocytes ou cellules de l'épendyme : elles assurent le revêtement des cavités ventriculaires du SNC (les ventricules sont les quatre cavités situées à l'intérieur du cerveau et sont en continuité avec le canal de l'épendyme situé au centre de la moelle épinière) et jouent aussi un rôle dans les échanges entre le SNC, contribuent à la formation du liquide céphalo-rachidien (LCR) contenu dans ces cavités (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2012).

\* Les cellules microgliales, ou microglie, font partie d'un ensemble de cellules spécialisées dans le nettoyage des tissus par l'ingurgitation des déchets, leur destruction et leur élimination. Elles dérivent des monocytes (variété de globules blancs) du sang ayant pénétré dans le SNC. Les cellules de la microglie sont les cellules de défense immunitaire du SNC. Ce sont des cellules phagocytaires apportées par le sang dans le tissu nerveux où elles restent en attente tant qu'elles ne sont pas activées par une affection ou une lésion. Lors des lésions du tissu nerveux, elles deviennent mobiles, migrent vers la zone atteinte et en éliminent les envahisseurs ou des

débris cellulaires. Les cellules de la migroglie activées libèrent des substances chimiques qui attaquent leurs cibles pour les détruire (Purves *et al.*, 2012).

\* Les oligodendrocytes : Ce sont des cellules plus petites et moins nombreuses que les astrocytes. Leur rôle principal est l'élaboration de la myéline qui entoure les axones, ce sont des cellules myélinisantes du système nerveux central (elles forment les gaines de myéline). Dans les nerfs périphériques, les cellules de la gaine de Schwann sont analogues aux oligodendrocytes, elles fabriquent la myéline du SNP, forment un tube de régénération et sécrètent un facteur de croissance nerveuse qui guide et stimule respectivement la repousse des axones endommagés à la condition que le corps cellulaire et les dendrites soient restés intacts c'est-à-dire tant que le neurone est vivant (Rang *et al.*, 2012). La régénération des fibres permet le retour de la sensibilité et de la motricité au bout d'un temps plus ou moins long, mais ne se produit pas dans tous les cas de lésion nerveuse. L'oligodendrocyte produit une substance lipidique isolante (myéline) qui permet l'isolation de canaux ioniques (Purves *et al.*, 2019) à des endroits bien spécifiques de l'axone afin d'engendrer une conduction saltatoire, plus rapide, de l'influx nerveux (Poirier, 2009 ; Purves *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Cet influx nerveux est transmis le long du neurone et d'un neurone à l'autre par l'intermédiaire d'une synapse.

### **I-3- Synapses**

La conduction de l'influx nerveux dans le système nerveux, qui est un train de potentiel d'action se fait non seulement le long d'un neurone mais aussi d'un neurone à un autre par l'intermédiaire de certains points de contact appelés les synapses ; ou d'un neurone à un effecteur comme un muscle ou une glande grâce à des jonctions (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Les phénomènes qui se développent à ce niveau constituent la transmission synaptique (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Les mécanismes cellulaires de la transmission synaptique sont très proches de ceux qui sont à l'origine du potentiel de repos et du potentiel d'action, à savoir le transit d'ions par les canaux ioniques de la membrane du neurone (Purves *et al.*, 2019). On distingue, selon des critères morphologiques et fonctionnels, plusieurs types de synapses parmi lesquelles :

#### **I-3-1- Synapse électrique**

La synapse électrique, également appelée Gap junction qui veut dire jonction communicante est formée d'un élément présynaptique et d'un élément postsynaptique, mais sans espace synaptique ou avec très peu d'espace, (de l'ordre de 2 nanomètres). Les membranes de deux neurones (pré et postsynaptique) communicants sont beaucoup plus proches l'une de

l'autre, et sont reliées par un contact intercellulaire appelé jonction communicante (Rang *et al.*, 2012). Les synapses électriques fonctionnent en laissant les courants ioniques passer directement d'un neurone à un autre d'une façon passive par les pores des jonctions communicantes en modifiant le potentiel de membrane afin de déclencher une dépolarisation (Purves *et al.*, 2019). L'influx nerveux se transmet sans intervention d'un neurotransmetteur. Ce type de synapse joue un rôle important dans le système nerveux immature et est relativement rare au stade adulte. (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2012).

### **I-3-2- Synapse chimique**

La synapse chimique, plus complexe que la synapse électrique est formée d'un élément présynaptique et d'un élément postsynaptique, séparée par un espace : la fente synaptique (de l'ordre de 20 à 30 nanomètres), faisant impérativement intervenir un médiateur chimique ou neurotransmetteur lors de la propagation de l'influx nerveux. Lorsque le potentiel d'action arrive au bouton axonal, il induit la fusion de vésicules à neurotransmetteurs au niveau de la membrane présynaptique, qui se retrouvent alors dans la fente synaptique (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). La fixation du neurotransmetteur à son récepteur postsynaptique provoque l'ouverture des canaux ioniques ou canaux perméables aux ions et assure le relai du signal. L'influx de cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) provoque une dépolarisation membranaire alors que l'ion chlore hyperpolarise la membrane. La transmission de l'influx nerveux à travers la synapse chimique est unidirectionnelle (Purves *et al.*, 2019).

### **I-4- Neurotransmetteurs et récepteurs du système nerveux**

Un neurotransmetteur (NT) est une substance chimique, appelé aussi médiateur chimique, qui a pour rôle (Kaur et Singh, 2017) essentiel d'assurer la communication entre les neurones, un neurone et un effecteur, comme un muscle ou une glande, tout en agissant au niveau de la synapse chimique. (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Les neurotransmetteurs peuvent être classés en deux grandes catégories: les neurotransmetteurs à petite taille moléculaire (à faible poids moléculaire), et les neurotransmetteurs à grande taille moléculaire (à grand poids moléculaire) ou les neuropeptides (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Les neurotransmetteurs à petite taille moléculaire sont constitués des acides aminés tels que l'acide gamma aminobutyrique (GABA), l'acide aspartique, l'acide glutamique, la glycine ; L'acétylcholine ; Les monoamines (adrénaline, noradrénaline, dopamine, sérotonine). Les neurotransmetteurs à grande taille moléculaire ou groupe des neuropeptides, qui comporte les peptides hypothalamiques (corticolibérine, thyrolibérine, somatocrine), les hormones

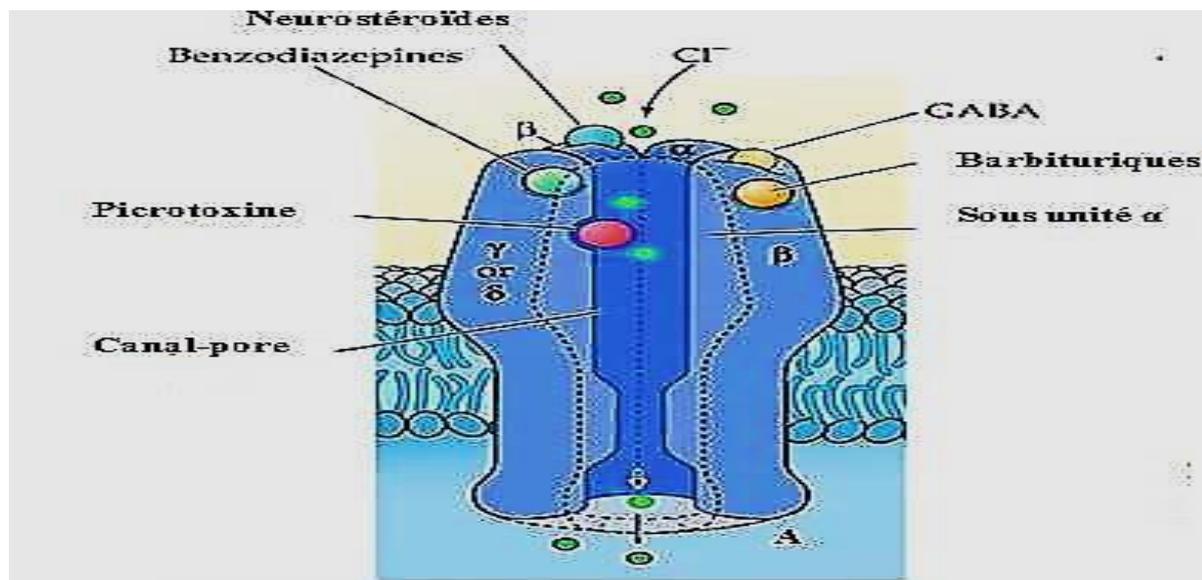
adénohypophysaires (ACTH, TSH, GH, FSH, LH, prolactine), les peptides neurohypophysaires (Arginine-vasopressine, oxytocine) (Purves *et al.*, 2019). De par leur poids moléculaire, ce sont plus les petites molécules neurotransmetteurs qui effectuent la transmission synaptique lorsqu'une réponse rapide est essentielle. Les transmetteurs acides aminés sont les principaux neurotransmetteurs retrouvés dans le système nerveux central. Ils comprennent:

- Le glutamate et l'aspartate, sont les principaux neurotransmetteurs excitateurs du système nerveux central des vertébrés. L'acide glutamique est transformé en glutamate par une perte de proton. Le glutamate est synthétisé dans les mitochondries des terminaisons axonales à partir de la glutamine sous l'action de la glutaminase qui est une enzyme mitochondriale. Après synthèse, le glutamate est stocké dans les vésicules synaptiques et libéré par exocytose (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Le glutamate exerce ses effets (Kaur et Singh, 2017) au niveau du neurone postsynaptique en se fixant sur des récepteurs ionotropiques (AMPA (acide  $\alpha$ -amino 3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazol propionique), kaïnate, et NMDA (N-méthyl-D-aspartate)) et/ou sur des récepteurs métabotropiques (mGluRs (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8), qui sont des récepteurs couplés aux protéines G). L'aspartate est synthétisé à partir de l'asparagine. Il est inactivé tout comme le glutamate par un mécanisme de recapture dans les cellules gliales et dans les neurones. L'aspartate se fixe sur les mêmes récepteurs canaux que le glutamate : les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et non NMDA. L'interaction entre les acides aminés excitateurs et leurs récepteurs spécifiques se traduit par la dépolarisation du neurone postsynaptique suite à une entrée de  $\text{Na}^+$  et une sortie de  $\text{K}^+$  de la cellule (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019).

- L'acide Gama-aminobutyrique (GABA) et la glycine, sont les principaux neurotransmetteurs inhibiteurs du système nerveux central des vertébrés. Le GABA est synthétisé à partir de l'acide glutamique (acide aminé excitateur) sous l'influence de l'enzyme GAD (acide glutamique décarboxylase) présente dans le cytosol des terminaisons axonales GABAergiques par des neurones du SNC. Le GABA exerce ses effets inhibiteurs (Kaur et Singh, 2017) par l'intermédiaire d'au moins trois types de récepteurs : le récepteur  $\text{GABA}_A$  (Figure 5), le récepteur  $\text{GABA}_B$  et le récepteur  $\text{GABA}_C$  (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019 ; Sallard *et al.*, 2021). Les récepteurs  $\text{GABA}_A$  et  $\text{GABA}_C$  sont des récepteurs ionotropes qui augmentent la perméabilité membranaire aux ions chlorures et bicarbonates, alors que le récepteur  $\text{GABA}_B$  est un récepteur métabotrope qui module l'ouverture des canaux calciques et potassiques grâce à des seconds messagers impliquant une protéine G (Sallard *et al.*, 2021). La glycine est synthétisée par les terminaisons axonales à partir de la sérine grâce à une enzyme appelée sérine hydroxy-méthyl transférase. Elle a une concentration élevée dans la moelle

épineur et le cerveau postérieur (Purves *et al.*, 2012). Comme le GABA, elle est libérée par les terminaisons présynaptiques dans la fente synaptique. Elle agit sur les récepteurs-canaux spécifiques de structure pentamérique, perméables aux ions chlorures (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). La liaison du GABA et celle de la glycine à leurs récepteurs respectifs, entraînent l'ouverture du canal-chlorure sélectif c'est-à-dire une augmentation de la conductance  $Cl^-$  (entrée de  $Cl^-$ ) provoquant une hyperpolarisation qui contrecarre la dépolarisation induite par les médiateurs excitateurs (Rang *et al.*, 2012).

Le GABA sert entre autre à contrôler la peur ou l'anxiété qui se manifeste par une surexcitation neuronale.



**Figure 5:** Récepteur GABA<sub>A</sub> (Möhler, 2011).

## I-5- Anxiété

### I-5-1- Rappels et définitions sur l'anxiété

L'anxiété est définie comme un état émotionnel complexe, une combinaison des sentiments de peur, d'appréhension et d'inquiétude, souvent accompagnée par une instabilité ou une tension, associée à une anticipation appréhensive d'un futur danger probable (Blanchard *et al.*, 2011). L'anxiété, présentée à différents niveaux chez tous les individus, est une réaction adaptative qui sert à prévenir le danger (Blanchard *et al.*, 2011). Certains auteurs la définissent à l'aide de trois caractéristiques principales à savoir : la perception qu'un danger est imminent, une attitude d'attente face à ce danger et une désorganisation qui serait liée au sentiment d'impuissance devant ce danger. Ils la définissent comme un état émotionnel à valence négative (Graziani, 2008). L'anxiété est une émotion courante qui peut être vécue par tous dans certains

contextes qui suscitent du stress. Il est normal de ressentir l'anxiété à un moment ou à un autre ; en général, ce sentiment ou cet état se dissipe assez rapidement. Les personnes ayant un trouble anxieux manifestent des symptômes cognitifs, physiques et comportementaux d'angoisse qui sont intenses, fréquents, persistants et graves, et pour qui l'angoisse provoque une détresse qui nuit à leurs capacités sur différents plans (vie sociale, affective, professionnelle, etc...). Elle est donc nécessaire jusqu'à un certain niveau, mais peut devenir pathologique lorsqu'elle se présente de manière excessive et handicapante (Blanchard *et al.*, 2011). Si dans le domaine de la recherche médicale humaine (clinique), il semble plus aisé de donner des échelles objectives à l'évaluation de l'anxiété chez l'homme, dans le domaine de la recherche expérimentale chez l'animal, il en est autrement et la difficulté réside sur l'absence d'interaction avec l'animal et sur la seule observation de l'expérimentateur du comportement du sujet animal pour dégager de manière arbitraire des indices pouvant lui permettre de mesurer le niveau d'anxiété. Chez les rongeurs, l'anxiété est définie comme un niveau élevé d'appréhension d'un environnement nouveau et inconnu, et de la réaction accrue de la peur (Weiss *et al.*, 2000 ; Finn *et al.*, 2003). Lorsque l'anxiété devient anormalement intense, répétitive, prolongée et inéluctable, elle peut présenter une forme pathologique (Niknamian, 2019), entraînant de ce fait des comportements réprimés, des réponses négatives conditionnées, de mauvaises stratégies d'adaptation, et l'accroissement du niveau sympathique du système nerveux autonome (Weiss *et al.*, 2000 ; Niknamian, 2019). Selon Leman *et al.*, (2004), chez l'animal, l'anxiété comporte différents volets : un volet physiologique se traduisant par une activation d'origine nerveuse sympathique (accélération du rythme cardiaque, augmentation de la pression artérielle, etc...) et hormonale ; un volet expressif (vocalisations d'alarmes spécifiques, expressions faciales, postures défensives, modifications du pelage ou du plumage) ; un volet comportemental avec notamment des comportements appartenant au répertoire défensif comme la fuite ou le «freezing» et des inhibitions exploratoires ; un volet subjectif, le « ressenti de l'émotion » qui s'intègre dans le volet cognitif et très souvent spécifique à l'homme.

L'anxiété est considérée comme le mal du XXIème siècle et dont les effets néfastes vont de plus en plus progresser dans le modèle actuel de notre société. Elle affecte un huitième de la population totale du monde entier et est devenue un important domaine de recherche en neurobiologie et en psychopharmacologie au cours de ces dernières années (Graziani, 2008). Elle est génératrice de stress : l'hypervigilance et l'anticipation du danger mettent le sujet en constante alerte à la recherche de la présence d'hypothétiques stressseurs. Le stress est très étroitement lié à l'anxiété, et un sujet anxieux repère plus facilement les stressseurs. Dans de nombreux articles, les mots stress et anxiété se superposent. Les situations anxiogènes

deviennent presque une sous-catégorie des situations stressantes (Graziani, 2008). Les réponses comportementales et physiologiques accompagnant l'anxiété préparent un individu à réagir de manière appropriée, par exemple, en révélant un comportement défensif ou offensif. Ainsi, l'anxiété permet à l'individu de sortir du danger et de l'éviter dans l'avenir, c'est-à-dire, de s'adapter aux défis de l'environnement. Il existe différents types d'anxiété : l'anxiété « état », l'anxiété « trait » et l'anxiété pathologique.

- **L'anxiété « état »**

Elle possède d'autres noms tels que l'anxiété contextuelle, l'anxiété situationnelle ou l'anxiété variable, l'anxiété environnementale (Belzung et Griebel, 2001; Graziani, 2008). Cette anxiété se rapporte à une émotion passagère liée à une situation limitée dans le temps et un environnement particulier. Elle est caractérisée par un éveil physiologique et par la perception de sentiments d'appréhension, de crainte et de tension (Graziani, 2008). L'intensité et la durée de l'anxiété « état » varient en fonction de l'interprétation (type et persistance) et de l'événement (situation ou stimuli). Ce modèle peut être répétitif si les situations se reproduisent dans le temps. Par définition, l'anxiété « état » est une anxiété variable qui dépend de la nature du stimulus anxiogène (Belzung et Griebel, 2001). Certains auteurs définissent l'anxiété « état » comme une anxiété que le sujet éprouve à un moment donné et qui augmente en présence d'un stimulus anxiogène.

- **L'anxiété « trait »**

Elle se rapporte à des caractéristiques relativement stables et spécifiques qui prédisposent les personnes à percevoir leur environnement et à y réagir de façon particulière et constante. Ce sont des dispositions latentes qui peuvent être activées par des circonstances et des situations appropriées (Graziani, 2008). L'anxiété « trait » définit le trait de la personnalité, c'est-à-dire, le tempérament anxieux habituel et endogène du sujet (Graziani, 2008). Certains auteurs définissent l'anxiété « trait » par le fait que c'est une anxiété qui ne varie pas d'un moment à un autre et qu'elle est considérée comme étant une caractéristique stable d'un individu et endogène dans le sens où elle relève des facteurs internes indépendamment des facteurs externes. Ils montrent que pendant une confrontation stressante comportant une menace, l'anxiété « trait » agit comme une sorte d'amplificateur de l'anxiété « état » (Von *et al.*, 2012).

- **L'anxiété pathologique**

C'est une émotion persistante, incontrôlable, excessive, inappropriée, et aversive, déclenchant des réponses physiologiques et comportementales dépourvues de valeur adaptative.

Le comportement lié à l'anxiété pathologique est une réaction exagérée à l'anticipation ou à la perception des menaces, qui est disproportionnée à la situation réelle (Frauke *et al.*, 2008).

Chez l'homme, l'anxiété pathologique est caractérisée par des inquiétudes et des soucis excessifs et qui se produit pendant au moins six mois. Deux conceptions opposées ont été proposées pour expliquer la relation entre l'état normal et l'état pathologique chez un sujet. La première propose que l'anxiété pathologique pourrait être considérée comme un excès quantitatif de l'anxiété normale. Tandis que la seconde propose que le passage de l'anxiété normale à l'anxiété pathologique résulte d'une variation qualitative, plutôt qu'une variation quantitative.

De plus, l'anxiété peut être inadaptée de plusieurs façons, d'où la diversité de troubles anxieux répertoriés (American Psychiatric Association, 2013). Malgré leurs manifestations caractéristiques différentes, ces troubles sont souvent rassemblés sous l'agrégat général de « troubles anxieux » en raison de leur caractéristique commune, soit une peur ou une inquiétude intense associée à une détresse émotionnelle ou à des comportements d'évitement, à leur étiologie semblable, à une très forte comorbidité, ainsi qu'au chevauchement de leurs symptomatologies (Kendall *et al.*, 2006).

### **I-5-2- Différents types de troubles d'anxiété**

La classification des troubles anxieux répertorie 12 catégories, soit le trouble panique sans agoraphobie, le trouble panique avec agoraphobie, l'agoraphobie sans antécédent de trouble panique, la phobie spécifique, la phobie sociale, le trouble obsessionnel-compulsif, l'état de stress post-traumatique, l'état de stress aigu, le trouble d'anxiété généralisée, le trouble anxieux dû à une affection médicale générale, le trouble anxieux induit par une substance, ainsi que le trouble anxieux non-spécifié (American Psychiatric Association, 2013).

#### **I-5-2-1- Trouble panique avec ou sans agoraphobie**

Le trouble panique est un trouble anxieux courant caractérisé par des périodes discrètes ou inattendues, récurrentes, non provoquées, de peur intense ou de crainte atteignant son maximum en quelques secondes ou minutes ; suivies d'une période au cours de laquelle la personne craint constamment d'avoir une autre crise de panique (HO *et al.*, 2015). Elle touche 2 à 3 % de la population générale (Kessler *et al.*, 2012 ; American psychiatric Association, 2013 ; Vallence et Fernandez, 2016). Le trouble panique associe un tableau assez hétérogène de manifestations somatiques, physiologiques et cognitives qui peut varier selon les patients. Parmi les treize symptômes, dix sont somatiques (palpitations, tachycardie ; sueurs ;

tremblements ; sensations d'étouffement ou d'essoufflement ; difficultés de déglutition ; douleurs ou inconfort thoracique ; nausées ou troubles digestifs ; sensations de vertige, d'instabilité, de tête vide ou de malaise ; paresthésies (sensations d'engourdissement, de fourmillements) ; sensations de froid ou de chaud) ; et trois peuvent être qualifiés de cognitifs (déréalisation (sentiment d'irréalité) ou de dépersonnalisation (sentiment de détachement de soi-même)) ; peur de perdre le contrôle ou de devenir fou ; peur de mourir (HO *et al.*, 2015). Les crises de panique peuvent s'accompagner ou non d'agoraphobie, c'est-à-dire une anxiété liée au fait de se retrouver dans des endroits ou des situations où il pourrait être difficile de s'échapper ou dans lesquels on pourrait ne pas trouver de secours en cas d'attaque de panique.

### **I-5-2-2- Trouble d'anxiété généralisée**

Le trouble d'anxiété généralisée (TAG) est un trouble psychiatrique répandu qui touche environ 2,9 % des adultes et 0,9 % des adolescents (Kessler *et al.*, 2012 ; Vallence et Fernandez, 2016). Comme les autres troubles anxieux, le TAG comporte un risque important d'incapacité et de mauvaise qualité de vie. Le critère principal du trouble d'anxiété généralisée (TAG) est cognitif par la présence de préoccupations excessives et incontrôlables concernant plusieurs événements ou activités. La personne atteinte manifeste des inquiétudes excessives la plupart des jours, pendant une période d'au moins six mois. Ces inquiétudes nuisent à son fonctionnement et lui occasionnent une détresse importante. Les angoisses sont accompagnées de symptômes physiques importants (fatigue, agitation, irritabilité, tension musculaire, perturbations du sommeil, se sentir cloué ou énervé) (American psychiatric Association, 2013). Les inquiétudes se distinguent en deux catégories : les inquiétudes centrées sur des problèmes réels et actuels et pour lesquelles il est possible d'utiliser une technique de résolution de problèmes; et les inquiétudes de type éventuel où, par définition, il n'y a pas encore de problèmes (elles sont anticipées, imaginées) et donc, pour lesquelles la résolution de problèmes est non applicable (Backhaus *et al.*, 2012 ; Batelaan *et al.*, 2014).

### **I-5-2-3- Phobie spécifique**

Les phobies spécifiques impliquent la manifestation d'une peur permanente à caractère illogique, d'une anxiété ou d'un évitement déclenché par la présence d'un objet ou d'une situation spécifique (prendre l'avion, voir du sang, présence de certains animaux). Les personnes atteintes d'une phobie spécifique éprouvent une peur irrépressible et irrationnelle d'une chose en particulier. Il peut s'agir d'un objet, d'une situation, d'un animal, d'une activité

ou de toute autre chose significative pour cette personne. Quelle que soit cette chose, la personne éprouve des niveaux inexplicables de peur et prend souvent des mesures extrêmes pour l'éviter (Andrews *et al.*, 2018). Les symptômes se développent habituellement au début de l'enfance, principalement avant l'âge de 10 ans (Vallence et Fernandez, 2016) et fluctuent habituellement en cas d'apparition. Les symptômes qui résistent à l'âge adulte ont tendance à être persistants et ont peu de chances de disparaître. La phobie spécifique, quoique faible en termes de prévalence, reste un trouble communément éprouvé en fin de vie (Andrews *et al.*, 2018).

#### **I-5-2-4- Trouble d'anxiété sociale (phobie sociale)**

Comme les autres troubles anxieux, le trouble d'anxiété sociale (TAS) est un trouble psychiatrique chronique, avec une prévalence de 7% (Kessler *et al.*, 2012 ; Vallence et Fernandez, 2016). La personne atteinte d'anxiété sociale ressent un malaise important, persistant et intense dans des situations sociales où elle est susceptible d'être observée ou jugée par les autres. La peur est souvent accompagnée de symptômes physiques d'anxiété comme le rougissement ou les tremblements. La personne craint d'agir (montrer des symptômes anxieux) de façon embarrassante ou humiliante. Cette peur occasionne une grande détresse (Whiteford *et al.*, 2013 ; Bener *et al.*, 2015). L'évitement, l'anticipation anxieuse ou la souffrance dans les situations redoutées perturbent de façon importante les habitudes de l'individu, ses activités professionnelles ou scolaires, ses activités sociales ou ses relations avec autrui. Le TAS coexiste souvent avec d'autres troubles psychiatriques, tels que la dépression et les troubles liés à la consommation de substances neuroactives (Breslau *et al.*, 2008 ; Whiteford *et al.*, 2013 ; Bener *et al.*, 2015). L'apparition de la phobie sociale survient à l'adolescence, avec un âge médian de 13 ans, lorsque les relations interpersonnelles sont importantes et jouent un rôle dans les relations avec les adultes.

#### **I-5-2-5- Trouble de stress post-traumatique**

L'état de stress post-traumatique est défini comme un trouble qui constitue une réponse différée ou prolongée à une situation ou à un événement stressant (de courte ou de longue durée), exceptionnellement menaçant ou catastrophique et qui provoque des symptômes évidents de détresse chez la plupart des individus. Il a une prévalence de 1 à 3 % dans la population mondiale. La prévalence du stress post-traumatique aux Etats-Unis est élevée à environ 8 % (Breslau *et al.*, 2008) ; elle est un peu plus élevée chez les femmes, les personnes

déjà mariées, le personnel du service militaire, les vétérans de combat (Bernardy *et al.*, 2015 ; Steenkamp *et al.*, 2015) et les personnes qui subissent divers traumatismes (violence envers les enfants, violence conjugale, etc.) (Breslau *et al.*, 2014). Le syndrome de stress post-traumatique se caractérise par des réactions à un événement traumatisant et accablant qui survient un mois après l'exposition au traumatisme, avec les symptômes suivants : les symptômes intrusifs (images intrusives et angoissantes, flashbacks , cauchemars et troubles du sommeil) ; les comportements d'évitement (éviter la situation ou les rappels de l'événement, engourdissement, amnésies psychologiques) ; les cognitions négatives et l'humeur associée au traumatisme (l'hypervigilance, perturbations de concentration, les états émotionnels négatifs tels que la peur, la culpabilité, la tristesse, la honte), perte de conscience de l'environnement actuel ; les altérations intenses de l'excitation et de la réactivité (comportements irritables et explosions de colère avec peu de provocation (par exemple, des comportements agressifs)) (Bernardy *et al.*, 2015).

#### **I-5-2-6- Agoraphobie**

Le trouble panique peut exister avec ou sans agoraphobie ; et celle-ci peut exister sans trouble panique. La prévalence de l'agoraphobie chez les adultes est de 1,7 % (Kessler *et al.*, 2012). L'agoraphobie est définie comme un état de personne qui craint et ou est anxieuse de se retrouver dans des lieux ou des situations d'où il pourrait être difficile ou gênant de s'échapper (par exemple, dans un lieu public), de se retrouver seul hors de son domicile, de faire la queue ou de se déplacer de la maison, d'être dans un autobus ou un train. L'apparition de l'agoraphobie est généralement précoce chez les adultes. La peur situationnelle englobe des pensées d'incapacité à s'échapper. Environ un tiers des adultes touchés sont confinés à la maison et incapables de travailler. Les comorbidités courantes comprennent d'autres troubles anxieux : des troubles dépressifs, des troubles de stress post-traumatique (TSPT) et des troubles liés à la consommation d'alcool (American psychiatric Association, 2013).

#### **I-5-2-7- Autres troubles anxieux : trouble d'anxiété induit par une substance ou par un médicament**

Le trouble d'anxiété induit par une substance ou un médicament, présente des symptômes de panique et d'anxiété qui se sont manifestés pendant ou immédiatement après l'intoxication et ou le retrait d'une substance ou d'un médicament. (American psychiatric Association, 2013).

### **I-5-2-8- Troubles obsessionnels-compulsifs et apparentés**

Ce groupe de troubles comprend les troubles obsessionnels compulsifs (TOC), les troubles dysmorphiques corporels, les troubles de la thésaurisation, la trichotillomanie, les excoriations, les troubles obsessionnels-compulsifs induits par les substances ou médicaments (Grant *et al.*, 2009 ; Glen et Gabbard, 2014). L'âge d'apparition est typiquement la fin de l'adolescence ou le début de l'âge adulte, mais peut également se manifester à la fin de l'enfance. La présence de pensées intrusives et persistantes, récurrentes (obsessions) et de comportements répétitifs ou d'actes mentaux qui en résultent (compulsions) sont une caractéristique de cette collection de troubles. Le TOC se manifeste par des idées fixes obsédantes qui sont ressenties comme insensées et inopportunes et par des compulsions qui sont des comportements répétitifs (lavage, comptage, vérification, accumulation) qui traduisent les obsessions ou la lutte du patient pour s'en débarrasser. Le malade comprend que ses pensées et ses actions sont irrationnelles et inutiles mais ne peut les empêcher et en souffre. Le trouble dysmorphique du corps est caractérisé par une apparence physique mineure ou absente. Les gestes répétitifs de vérification du miroir, de toilettage excessif et de recherche de réconfort sont courants. Le trouble de la thésaurisation est décrit comme une difficulté importante à se débarrasser des biens, quelle que soit leur valeur, ce qui entraîne un besoin intense de sauvegarder les articles. Les symptômes comprennent l'accumulation d'objets qui encombrant les espaces de vie au point où leur utilisation est compromise (American psychiatric Association, 2013 ; Glen et Gabbard, 2014). La Trichotillomanie (cheveux tirant), est un trouble qui conduit à la perte de cheveux, malgré des tentatives répétées pour arrêter le comportement (Rodrigues-Barata *et al.*, 2012). Le trouble d'excoriation (cueillette de peau) implique une cueillette récurrente de la peau malgré des tentatives répétées pour arrêter ce comportement. Ces troubles sont habituellement précédés de sentiments d'anxiété ou d'ennui (Rodrigues-Barata *et al.*, 2012 ; Glen et Gabbard, 2014). Le TOC induit par les substances ou médicaments implique des symptômes liés à l'intoxication ou au retrait d'une substance ou d'un médicament.

### **I-5-3- Physiopathologie de l'anxiété**

L'anxiété est un état motivationnel qui favorise l'adaptation, mais quand elle est excessive, elle devient source de détresse pour l'organisme dont elle détériore les performances. Elle peut se développer sans raison apparente, mais aussi en relation avec les maladies systémiques (épilepsie, asthme, migraine, troubles cardiaques, etc...), les

toxicomanies, les mauvaises habitudes comportementales (surmenage, activité physique insuffisante, fatigue excessive) (Sareen *et al.*, 2006). Un rapport de cause à effet existerait entre le dysfonctionnement de certaines structures cérébrales et l'anxiogénèse (Justin *et al.*, 2011). Ces structures sont : le cortex cérébral, le système limbique, la formation réticulée, le locus cœruleus, les noyaux du raphé, les voies du système monoaminergiques et l'hypothalamus. Au niveau de ces structures, les neurotransmetteurs impliqués dans les processus anxiogènes ou anxiolytiques sont la sérotonine (5HT), la noradrénaline (NA), la cholécystokinine tétrapeptide (CCK4), l'acide gamma-amino-butyrique (GABA), le neuropeptide Y(NPY), l'hormone de libération de la corticotropine (CRH), la galanine, l'ocytocine, la vasopressine, les peptides opioïdes (Lydiard, 2003; Gordon et Hen, 2004; Durant *et al.*, 2010 ; Wu *et al.*, 2011; Thorsell, 2010; Neumann et Landgraf, 2012; Van't et Carlezon, 2013).

#### **I-5-4- Systèmes de neurotransmission régulateurs de l'anxiété**

##### **I-5-4-1- Système GABAergique**

L'un des éléments essentiels pour le contrôle de l'anxiété est l'acide gamma-aminobutyrique (GABA). C'est le principal neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux central des mammifères. Il est largement impliqué dans la modulation de la neurotransmission, notamment *via* la réglementation de l'excitabilité neuronale (Bourin, 2004; Philippe, 2015). Il exerce ses effets par interaction avec des récepteurs GABA. Fonctionnellement, l'inhibition synaptique rapide dans le système nerveux central des mammifères est médiée en grande partie par l'activation du récepteur GABA<sub>A</sub> (Kaur et Singh, 2017). Le récepteur GABA<sub>A</sub> (Figure 5) actif est composé de cinq sous unités de protéines qui forment un canal chlorure qui reste fermé jusqu'à ce qu'il lie son ligand. Il comprend des sites récepteurs au GABA et une variété d'autres sites récepteurs topographiquement distincts capables de reconnaître des substances pharmacologiquement actives comme les benzodiazépines, les barbituriques, les neurostéroïdes, les convulsivants, l'alcool (Purves *et al.*, 2012). Ces substances agissent de manière allostérique avec les sites récepteurs au GABA et modulent la réponse du récepteur GABA-A. En effet, quand le GABA se fixe sur son site de liaison, le milieu intracellulaire devient plus négatif (hyperpolarisation de la cellule), en faisant entrer davantage le chlore à l'intérieur de la cellule, et l'activité neuronale est inhibée. Au niveau du site des benzodiazépines, on observe les agonistes classiques de type diazépam qui renforcent le couplage entre le récepteur GABAergique GABA<sub>A</sub> et l'ionophore du chlore (Lydiard, 2003 ; Philippe, 2015). Les antagonistes des benzodiazépines présentent une grande

affinité pour le récepteur mais ils n'ont pas d'action sur le couplage. Ce sont des antagonistes compétitifs à l'exemple du flumazénil. Il se trouve également que les ligands agonistes, mais à effet inverse vont donc diminuer le couplage. Il entre alors moins de chlore dans la cellule et par conséquent l'excitabilité neuronale augmente. Ces ligands peuvent de ce fait être anxiogènes (Philippe, 2015). Tout ligand modulateur qui augmenterait l'efficacité du GABA, à l'exemple des barbituriques (augmentent la durée d'ouverture du canal chlorure) et des agonistes comme les benzodiazépines exogènes (augmentent la fréquence d'ouverture du canal chlorure), aura un effet anxiolytique (Ayissi *et al.*, 2015; Omam *et al.*, 2017). Les agents modulateurs changent l'efficacité du GABA en induisant une modification de l'architecture protéique du complexe GABA<sub>A</sub> (changement de conformation allostérique), ce qui modifie la perméabilité vis à vis du chlore (Purves *et al.*, 2012). Le niveau d'activation intrinsèque des récepteurs GABA<sub>A</sub> serait le régulateur principal de l'anxiété «trait ». Pharmacologiquement les récepteurs du GABA<sub>A</sub>, récepteurs avec  $\alpha 2$  sont impliqués dans l'anxiolyse, les récepteurs avec  $\alpha 1$  sont impliqués dans la sédation et les récepteurs avec ou sans  $\alpha 1$  sont impliqués dans l'amnésie antérograde (Bourin, 2004 ; Morris *et al.*, 2006). L'augmentation du signal GABAergique, utilisant par exemple des agonistes GABA<sub>A</sub>, est anxiolytique aussi bien qu'anticonvulsivant, sédative, amnésique et produit une ataxie (Moto *et al.*, 2018). La réduction de la transmission par le récepteur GABA<sub>A</sub> provoque des symptômes associés aux troubles anxieux, le sentiment excessif d'une émotion anxieuse, le comportement d'échappement et l'évitement des situations associées. En fait l'atténuation de la fonction GABA, par exemple avec un antagoniste ou agoniste inverse du récepteur GABA<sub>A</sub>, provoque l'éveil, l'anxiété, l'agitation, le sentiment de mort imminente, l'insomnie et des crises d'épilepsie (Purves *et al.*, 2012 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Des anomalies du récepteur GABA<sub>A</sub> et une altération du métabolisme GABAergique pourraient jouer un rôle dans les troubles anxieux.

#### **I-5-4-2- Système sérotoninergique**

Les neurotransmetteurs monoamines (sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT), noradrénaline, adrénaline et dopamine) jouent un rôle important dans l'anxiété (Narvaes et Martins, 2014). Le système sérotoninergique implique la 5-HT qui est considérée comme le neurotransmetteur le plus important impliqué dans l'anxiété. Il a été démontré qu'un anxiolytique agissant *via* le système sérotoninergique cérébral diminue le taux de la 5-HT dans le cerveau (Hoyer *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2007; Caramaschi *et al.*, 2007; Meneses et Perez-Garcia, 2007 ; Li *et al.*, 2016). L'anxiété comme trouble psychique serait liée à une suractivité

du système sérotoninergique central (Knobelman *et al.*, 2000). Plusieurs recherches suggèrent que la 5-HT peut jouer un rôle crucial dans la modulation des comportements liés à l'anxiété (Li *et al.*, 2016) et favoriser l'anxiété (Hoyer *et al.*, 2002). Les différents types de récepteurs de 5-HT ont été répartis conventionnellement en sept groupes différents notés 5-HT1 à 5-HT7 en fonction des analogies de structure des gènes. Tous ces récepteurs sont couplés à la protéine G, ce sont des récepteurs métabotropes sauf 5-HT3 qui est lié à un canal ionique (Hoyer *et al.*, 2002). On distingue 5 sous-types de récepteurs 5-HT1 et dont la fonction physiologique est inconnue pour certains (Hoyer *et al.*, 2002). Les récepteurs 5-HT1A constituent un mécanisme régulateur important du système sérotoninergique et sont impliqués dans le processus de régulation de l'anxiété et de la dépression (Ayissi *et al.*, 2012). Les agonistes des récepteurs 5-HT1A ont des propriétés anxiolytiques (Lanzenberger *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2016). Des études électrophysiologiques ont montré que l'activation des sous-types de récepteurs 5-HT1 en l'occurrence 5-HT1A produit l'hyperpolarisation (sortie des ions K<sup>+</sup>). La sérotonine agit dans ce cas comme messenger chimique inhibiteur. En effet, les récepteurs 5-HT1A sont couplés à l'adénylate cyclase par une protéine Gi qui provoque la baisse de la synthèse d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) et entraîne à l'ouverture des canaux potassiques ; ce qui provoque une hyperpolarisation donc un effet anxiolytique (Lanzenberger *et al.*, 2007 ; Ayissi *et al.*, 2012). Cependant l'activation des récepteurs 5-HT2 (5-HT2A/2B/2C) produit la dépolarisation. En effet, les récepteurs 5HT2 sont couplés à une protéine Go, elle-même couplée à une phospholipase C qui métabolise des inositols phosphates et maintient fermés les canaux K<sup>+</sup>, ce qui aurait plutôt un effet anxiogène; la sérotonine agit dans ce cas comme messenger chimique excitateur. Les récepteurs 5-HT2 ont une affinité moins grande pour la sérotonine, ce qui fait que la sérotonine se fixe sur ces récepteurs quand les autres récepteurs (5-HT1) sont saturés (Meneses et Perez-Garcia, 2007; Muller *et al.*, 2007; Fakhfour *et al.*, 2019). Les récepteurs de type 5-HT<sub>3</sub> qui sont ionotropes, commandent la perméabilité des ions Na<sup>+</sup> en déclenchant une dépolarisation qui est favorable à l'augmentation de l'activité des neurones. La grande disponibilité de la sérotonine pour les récepteurs 5-HT2 et 5-HT3 accroît l'anxiété (Fakhfour *et al.*, 2019) et est probablement responsable au moins en partie des effets anxiogènes-like des antidépresseurs, tandis que le blocage des récepteurs 5-HT3 produit des effets anxiolytiques (Fakhfour *et al.*, 2019). Deux cas de figure : l'antidépresseur peut agir en activant les 5HT1 ; cela entraîne une anxiolyse avant les effets antidépresseurs. Cette anxiolyse lève l'inhibition comportementale générale et réduit le niveau de l'anxiété et de l'anticipation à la peur, ceci pourrait expliquer l'absence de la peur ou de l'anticipation d'un danger de mort qui se traduit par l'acte secondaire consécutif à la prise des antidépresseurs ou début de leur

prise ; si l'antidépresseur agit sur les récepteurs 5HT2 et 5HT3, il y aura plutôt une action anxiogène qui traduit la première phase du traitement. La stimulation des récepteurs de type 5-HT<sub>4</sub> qui sont des récepteurs métabotropes couplés à l'adénylate cyclase par une protéine G<sub>s</sub> qui stimule la synthèse d'AMPc. Ce qui conduit en particulier à la phosphorylation des canaux potassiques maintenant ces derniers fermés (ce qui aurait un effet anxiogène) (Purves *et al.*, 2019). Les principales classes thérapeutiques utilisant la voie 5-HT sont les suivantes:

- les IRSS (Inhibiteurs de la Recapture Sélectif de la Sérotonine). L'effet anxiolytique des IRSS s'explique par l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1</sub>, la réduction de la teneur neuronale en 5-HT et la désensibilisation des récepteurs postsynaptiques cortico-limbiques exposés à une trop forte concentration de 5-HT. On peut citer ici par exemple la fluvoxamine, commercialisée sous le nom Floxyfral<sup>®</sup>, l'escitalopram (cipralex), la fluoxétine (prozac) et bien d'autres (Wong et Licinio, 2004). Ce sont des traitements de première ligne pour l'ensemble des troubles anxieux, hormis les phobies spécifiques qui sont strictement traitées via la thérapie cognitivo-comportementale (Bandelow *et al.*, 2008 ; Baldwin *et al.*, 2012). En général, les IRSS produisent moins d'effets secondaires que les autres anxiolytiques et peuvent être prescrits aux enfants et adolescents (Bandelow *et al.*, 2008 ; Baldwin *et al.*, 2012);
- les agonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> : d'autres agents sérotoninergiques, telle la buspirone (buspar), un agoniste partiel sérotoninergique qui se lie aux récepteurs postsynaptiques 5HT<sub>1A</sub>, sont parfois utilisés pour le traitement de l'anxiété généralisée, mais leur emploi demeure plutôt sporadique (Goodman, 2004).
- l'antagoniste du récepteur 5HT-2A/2C : la dermacyclane. L'étude de Naukkarinen, *et al.*, (2005) a démontré une efficacité significative de cette molécule dans le traitement de l'anxiété généralisée dans une étude en double aveugle versus placebo (Naukkarinen *et al.*, 2005 ; Nojoui *et al.*, 2016).

Le GABA et la sérotonine ne sont pas les seuls neurotransmetteurs à moduler les cognitions et les comportements qui signalent un état anxieux. La dopamine, un neurotransmetteur plus souvent relié aux désordres de la motricité (dyskinésie, maladie de Parkinson, hyperactivité, etc.) et de la pensée (schizophrénie), a été également associée aux troubles anxieux, en particulier la phobie sociale. Les individus souffrant de phobie sociale sont caractérisés par une densité moindre de récepteurs dopaminergiques de type D2 dans le striatum (Schneier *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'injection d'agonistes dopaminergiques qui se

lient préférentiellement aux récepteurs de type D3 induit des comportements d'évitement et de fuite chez les souris (Wang *et al.*, 2007). La noradrénaline est un neurotransmetteur responsable de la vasoconstriction et de l'augmentation de la fréquence cardiaque ; son activation est aussi impliquée dans les comportements liés à l'anxiété et/ou l'inhibition. Son inactivation peut être reliée au soulagement de l'anxiété des animaux (Tanaka *et al.*, 2000).

#### **I-5-4-3- Modulation des récepteurs de cholécystokine et d'autres neuropeptides**

**La cholécystokinine (CCK)** est le neuropeptide le plus abondant du SNC; Il est présent aux concentrations les plus élevées dans les structures impliquées dans l'anxiété, à savoir le cortex cérébral, le système limbique et l'hypothalamus (Rang *et al.*, 2012 ; Purves *et al.*, 2019). Ce neurotransmetteur lorsqu'il est sécrété trop abondamment déclencherait un mécanisme anxiogène qui serait la conséquence d'une perturbation de la neurotransmission GABAergique (réduction) renforcée par une augmentation simultanée de l'activation des voies 5-HT et noradrénergiques dans le système cortico limbique (Purves *et al.*, 2012 ; Rang *et al.*, 2012). La CCK fait partie d'une famille de peptides présente dans le système digestif. Les récepteurs à la CCK sont de 2 types : CCKA et CCKB. Les récepteurs CCKB sont prédominants dans le système nerveux central, particulièrement dans l'amygdale et l'hippocampe (régions du cerveau reliées aux émotions). Le peptide CCK4, faisant partie de la famille des CCK, induit des attaques de panique chez les sujets souffrant de trouble panique ainsi que chez certains volontaires sains (Rang *et al.*, 2012). La CCK5 et la CCK8 ont les mêmes effets anxiogènes. Il apparait en fait que les peptides CCK ayant une affinité importante pour les récepteurs CCKB et moindre pour les récepteurs CCKA ont des propriétés anxiogènes alors que ceux ayant une affinité égale pour les 2 types de récepteurs ont des effets plus variables. A contrario, les antagonistes des récepteurs CCKB auraient des effets anxiolytiques : cette molécule est nommée L365, 260. Elle réduit de manière significative le nombre et l'intensité des symptômes observés chez des patients souffrant de trouble panique. De nombreux travaux ont montré qu'un prétraitement par un antagoniste de CCKB permet de réduire considérablement l'anxiété provoquée par un agoniste de la CCK (Purves *et al.*, 2012).

**La corticolibérine**, est soit un neurotransmetteur, soit une neurohormone produite par l'hypothalamus et agissant au niveau de l'hypophyse sur l'expression du gène codant la pro-opiomélanocortine ou POMC, ainsi que sur sa maturation en hormone corticotrope (ACTH) puis sa sécrétion. C'est un neuropeptide qui joue un rôle important dans les réponses liées au stress. La corticolibérine injectée dans le cerveau de rats produit de nombreux signes et

symptômes observés chez des patients présentant des signes anxieux (Tafet et Nemeroff, 2020). Les antagonistes du récepteur de la corticotropin-releasing-factor (CRF1) se sont avérés actifs sur les modèles d'anxiété chez les rongeurs, mais les études cliniques chez l'homme se sont avérées décevantes (Kehne et Cain, 2010).

**La substance P** est un neuropeptide, donc un polypeptide ayant des fonctions de neurotransmetteur et de neuromodulateur. Elle appartient à la classe des tachykinines. Certaines études animales tendent à mettre en évidence des propriétés anxiolytiques des antagonistes de la substance P (Lin, 2012).

**La galanine** : administrée directement dans le noyau central de l'amygdale, elle bloque les effets anxiogènes de la yohimbine. Par ailleurs, les souris ayant un déficit en récepteurs de la galanine présentent un comportement anxieux. Cette réponse comportementale dépend de la balance entre la noradrénaline, le neuropeptide Y et la galanine (Zhao *et al.*, 2013).

**Peptide natriurétique** : un prétraitement de 150 microgrammes de peptide natriurétique évite les crises de panique induites par la CCK-4 chez les patients souffrant de trouble panique (Ströhle *et al.*, 2001) que chez les volontaires sains.

#### **I-5-4-4- Inhibiteurs de la monoamine oxydase (MAO) et tricycliques**

Les Inhibiteurs de la monoamine oxydase (MAO) et les tricycliques sont des agents pharmacologiques de synthèse qui agissent en renforçant la neurotransmission monoaminergique (noradrénaline, dopamine, 5-HT, histamine...). Bien que leurs actions thérapeutiques soient surtout connues dans le cadre des dépressions, ces agents sont également efficaces pour traiter les troubles anxieux (Purves *et al.*, 2012 ; Rang *et al.*, 2012). Les monoamines oxydases (MAO-A et MAO-B) sont des enzymes cytoplasmiques et mitochondriales chargées de dégrader des neurotransmetteurs après leur recapture par le neurone (Purves *et al.*, 2019). La MAO-A dégrade principalement la sérotonine, la noradrénaline et l'adrénaline, tandis que la MAO-B dégrade principalement la dopamine. Les IMAO provoquent de par leur effet sur les MAO, une augmentation de la quantité de noradrénaline et 5-HT dans la synapse, ce qui expliquerait leur effet anxiolytique (Rang *et al.*, 2012). Quant aux tricycliques, ils doivent leur nom à leur structure atomique comportant trois cycles d'atomes de carbone. Ils forment une catégorie de médicaments fonctionnellement hétérogènes qui agissent en grande partie sur les mécanismes de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, avec un gradient qui varie d'une molécule à l'autre. Leurs prototypes moléculaires sont la clomipramine et l'imipramine qui agiraient en renforçant la

neurotransmission monoaminergique (surtout noradrénaline, dopamine et 5-HT). Ce sont des inhibiteurs non spécifiques de la recapture de ces neurotransmetteurs (Purves *et al.*, 2019). La clomipramine (Anafranil), agit principalement sur le transporteur de la sérotonine, pour la réduction des symptômes du trouble obsessionnel-compulsif chez les adultes et les adolescents (Goodman, 2004) ; tandis que, l'imipramine (Tofranil) modifie notamment la transmission noradrénergique, pour réduire les symptômes du trouble panique (Andrews *et al.*, 2018). Les tricycliques peuvent être également utilisés pour lutter contre l'anxiété généralisée (Strawn *et al.*, 2018 ; Andrews *et al.*, 2018). Cependant, les effets secondaires déplaisants (étourdissements, fatigue, gain de poids corporel) sont parfois trop persistants et le traitement aux tricycliques est souvent abandonné au profit d'un traitement pharmacologique alternatif.

### **I-5-5- Anxiété et nicotine**

De nombreuses études animales et humaines ont mis en évidence des effets de la nicotine sur l'anxiété. Différentes structures ont été impliquées dans ces effets, notamment le septum latéral, le noyau de raphé dorsal (NRD), l'hippocampe ou encore le système dopaminergique mésolimbique (Picciotto *et al.*, 2002). La nicotine peut avoir une action anxiolytique ou anxiogène selon la dose utilisée, le mode d'administration et le contexte environnemental (Kenny *et al.*, 2000; Cheeta *et al.*, 2001a ; Mairaira *et al.*, 2020), et il semble que ces deux effets mettent en jeu des structures cérébrales et des récepteurs différents. La nicotine agit sur des processus physiologiques en activant l'une des deux familles de récepteurs à l'acétylcholine (l'hétérodimère  $\alpha 4\beta 2$  et l'homodimère  $\alpha 7$ ) appelés récepteurs nicotiques (nAChRs) qui appartiennent à la super famille des récepteurs canaux ioniques activés par des ligands engagés dans des réponses rapides aux neurotransmetteurs (Schmidt *et al.*, 2018). L'activation de ces récepteurs canaux permet le passage de cations (en particulier  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ) à l'origine de la dépolarisation de la membrane plasmique qui se traduit par une excitation neuronale et par l'activation d'autres canaux voltage-dépendants (Schmidt *et al.*, 2018 ; Purves *et al.*, 2019), dont font partie également les récepteurs GABA ( $\text{GABA}_A$  et  $\text{GABA}_B$ ), les récepteurs glutamatergiques (AMPA, Kainate et NMDA), les récepteurs à la glycine et les récepteurs sérotoninergiques ( $5\text{HT}_3$ ). Parmi les symptômes décrits par les fumeurs en période de sevrage, il est intéressant de noter la récurrence de l'anxiété et de la dépression (Malin, 2001 ; Mumtaz *et al.*, 2012). L'anxiété et la dépression sont d'ailleurs des symptômes associés à la toxicomanie. Chez l'homme, la nicotine est reconnue pour stabiliser l'humeur et avoir des propriétés anxiolytiques (Kassel et Unrod, 2000 ; Viscarra *et al.*, 2020). Chez le rongeur, l'effet de la nicotine sur l'état d'anxiété dépend de nombreux facteurs. La nicotine peut avoir des

effets anxiogènes (Zarrindast *et al.*, 2012), anxiolytiques ou n'avoir pas d'effets sur l'état d'anxiété des rongeurs (Mairaira *et al.*, 2020 ; Viscarra *et al.*, 2020) en fonction de la dose, du délai entre l'injection et le test, de la voie d'administration (Salas *et al.*, 2003). Chez les rongeurs, la nicotine à faibles doses (0,01-0,1 mg/kg) a des effets anxiolytiques, alors qu'à fortes doses (0,5-1 mg/kg), elle présente des effets anxiogènes (Mairaira *et al.*, 2020). Dans le test d'interaction sociale, la nicotine à faibles doses (0,1 mg/kg) a un effet anxiogène 5 minutes après l'injection, mais anxiolytique 30 minutes plus tard (Zarrindast *et al.*, 2012). Dans le test du labyrinthe en croix surélevé, de faibles doses de nicotine (0,1-0,4 mg/kg) ont un effet anxiolytique (Mairaira *et al.*, 2020), anxiogène (Zarrindast *et al.*, 2012 ; Mairaira *et al.*, 2020) ou n'ont pas d'effets. Enfin, en fonction de la région cérébrale dans laquelle est injectée la nicotine, des effets opposés sur la nicotine sont observés. Ainsi, chez le rat, la microinjection d'une faible dose de nicotine (5-10 ng) dans le noyau de raphé dorsal entraîne une augmentation du temps passé en interactions sociales. Cet effet, considéré comme le reflet d'une diminution d'anxiété, est bloqué par une co-infusion de DH- $\beta$ -E (l'antagoniste des récepteurs nicotiques  $\alpha 4\beta 2$ ) (Cheeta *et al.*, 2001a ; Kutlu et Gould, 2015). Les effets anxiolytiques de la nicotine impliqueraient la stimulation des nAChRs  $\alpha 4\beta 2$  dans le noyau de raphé dorsal. En revanche, l'infusion de nicotine (1- 4 ng) dans l'hippocampe dorsal ou le septum latéral semble avoir des effets de type anxiogène dans la même procédure (File *et al.*, 2000; Cheeta *et al.*, 2001b), cet effet pourrait impliquer les nAChRs  $\alpha 7$ , au moins au niveau de l'hippocampe dorsal (Tucci *et al.*, 2003a). Dans le test du labyrinthe en croix surélevé chez le rat, un effet de type anxiolytique a été décrit avec des administrations systémiques chroniques de nicotine, à des doses n'ayant pas d'effets en aigu (Mairaira *et al.*, 2020). La littérature dans son ensemble s'accorde à penser que la nicotine exerce son action sur l'anxiété via la transmission sérotoninergique. Le noyau du raphé dorsal, région principale où sont localisés les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques ascendants est un substrat important dans l'expression des effets anxiolytiques de la nicotine. La nicotine ou le 8-OH-DPAT (agoniste de 5-HT<sub>1A</sub>) à faibles doses, administrés directement dans le noyau du raphé dorsal, induisent un effet anxiolytique dans le test d'interaction sociale (Cheeta *et al.*, 2001a). Cet effet anxiolytique est complètement bloqué par la co-administration de WAY100635, antagoniste de 5HT<sub>1A</sub> (Cheeta *et al.*, 2001a). Ces auteurs suggèrent que l'effet anxiolytique de la nicotine passe par une augmentation de la 5HT libérée dans le noyau du raphé dorsal qui stimulerait les autorécepteurs 5HT<sub>1A</sub> et donc, par voie de conséquence conduirait à une réduction de la libération de 5HT dans les régions limbiques. L'injection intra-hippocampale de nicotine ou de

8-OH-DPAT à fortes doses provoque de façon surprenante, une augmentation de la libération de 5HT et un effet anxiogène (File *et al.*, 2000; Kenny *et al.*, 2000). Des études pharmacologiques montrent que l'administration d'agonistes  $\alpha 4\beta 2$ , l'ABT-418 ou la lobeline induisent un effet anxiolytique (Mairaira *et al.*, 2020). Une administration de DH- $\beta$ E (dihydro-béta-erythroïdine) qui est l'antagoniste des récepteurs nicotiniques  $\alpha 4\beta 2$ , directement dans le noyau du raphé dorsal bloque complètement l'effet anxiolytique d'une faible dose de nicotine (Cheeta *et al.*, 2001b ; Faulkner *et al.*, 2018). Dans cette région l'augmentation de la libération de 5HT induite par la nicotine passerait par les récepteurs  $\alpha 4\beta 2$  présynaptiques. L'effet anxiolytique de la nicotine semble relatif à une libération de sérotonine dans les noyaux du raphé dorsal via les récepteurs nicotiniques  $\alpha 4\beta 2$ . Dans l'hippocampe dorsal, des études pharmacologiques ont démontré que l'effet anxiogène d'une forte dose de nicotine peut être bloqué par la MLA (Méthylylcaconitine), ce qui suggère l'implication entre autres des récepteurs nAChRs  $\alpha 7$  dans la stimulation de la libération de 5HT (Tucci *et al.*, 2003b). Des souris dépourvues du récepteur  $\alpha 7$  passent plus de temps que les souris sauvages dans le compartiment central de l'open field suggérant un niveau d'anxiété plus faible (paylor *et al.*, 1998). Les récepteurs  $\alpha 7$  sembleraient impliqués dans le comportement anxieux des souris. Par ailleurs, une récente étude menée sur les effets anxiogènes de la nicotine démontre clairement l'implication à la fois des récepteurs sérotoninergiques 5HT1A et nicotiniques  $\alpha 7$  et  $\alpha 4\beta 2$  (Tucci *et al.*, 2003a). Ces données suggèrent que l'effet anxiogène de la nicotine passerait par une libération de sérotonine dans l'hippocampe via les récepteurs nicotiniques  $\alpha 7$ . Dans la vie courante, les troubles psychiatriques émanent d'un excès de stress qui échappe la plupart des cas au contrôle de l'organisme, on n'arrive pas à rétablir l'homéostasie qui est le maintien de l'équilibre du milieu intérieur.

### **I-5-6- Implication du stress dans l'anxiété**

Le stress est très étroitement lié à l'anxiété, et un sujet anxieux repère plus facilement les stressseurs. Dans de nombreux articles, les mots stress et anxiété se superposent. Les situations anxiogènes deviennent presque une sous-catégorie des situations stressantes (Graziani, 2008). Les réponses comportementales et physiologiques accompagnant l'anxiété préparent un individu à réagir de manière appropriée. Le stress désigne dans la vie courante ou dans le domaine médical un état induit par un environnement engendrant des contraintes et des peurs (Fink, 2007). C'est un phénomène qui apparaît dans des conditions normales mais lorsqu'il devient intense, répété ou prolongé, il peut entraîner des états pathologiques.

Le stress a été défini initialement comme une réaction de l'organisme, en réponse à un stimulus menaçant, ayant pour but de retrouver son homéostasie (Fink, 2007 ; Chrousos, 2009 ; Von *et al.*, 2012). Le stress désigne un « syndrome général d'adaptation », qui se déroule en trois phases quelle que soit la nature de l'agression (Fink, 2007). Lors de la première phase : « la réaction d'alarme ou d'alerte », l'organisme mobilise ses ressources énergétiques (la sécrétion d'hormones et neuromédiateurs par exemple) pour faire face au stress ou fuir. Si le stimulus persiste, on assiste à une « phase de résistance ou d'adaptation », dans laquelle l'organisme utilise ses ressources afin de mettre en place une réaction adaptée. Si le stress est puissant ou se prolonge, l'organisme atteint la « phase d'épuisement » en réponse à la consommation de toute l'énergie mise en jeu, en d'autres termes l'énergie utilisée pour y faire face est épuisée, on assiste ainsi à l'abandon de l'effort (Von *et al.*, 2012). C'est pendant cette phase qu'apparaissent les troubles somatiques à l'origine de plusieurs pathologies psychiatriques parmi lesquelles l'anxiété, la dépression et d'autres troubles de l'humeur. En effet l'existence de ces différentes phases suggère que les effets du stress varient d'une phase à l'autre et dépendent des capacités de résistance de l'organisme, de la nature, de l'intensité et de la durée du stress (Von *et al.*, 2012).

A l'heure actuelle, le stress est défini comme la réponse de l'organisme à un stimulus déclencheur appelé « stresseur », mais il est plus souvent et par abus de langage assimilé au stimulus déclencheur de la réponse au stress (Koolhaas *et al.*, 2011 ; Lu *et al.*, 2021). Au cours de ce travail, nous utiliserons le terme « stress » pour définir le stimulus déclencheur et la réponse de l'organisme à ce stimulus. Le stress est donc une réaction à « une menace réelle ou interprétée de l'intégrité physiologique ou psychologique d'un individu et qui a pour conséquence une réponse physiologique et/ou psychologique de la part de cet individu », cette réponse permettra de réduire ou d'éliminer l'impact négatif induit par le stresseur (Lu *et al.*, 2021).

Lorsqu'un individu perçoit un stimulus stressant, des réponses physiologiques coordonnées sont activées. Ces réponses mettent en jeu le système nerveux central et le système nerveux périphérique (ortho) sympathique ainsi que l'axe corticotrope (Figure 6) ou axe hypothalamo-hypophysosurrénalien (Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis ou HPA). Lorsqu'un stimulus menaçant est perçu dans l'environnement, le système sensoriel impliqué (Weymar *et al.*, 2012) active le thalamus qui active directement l'amygdale (voie rapide) et indirectement en passant par le cortex sensoriel (voie lente). Lorsque le noyau basolatéral de l'amygdale reçoit les afférences du thalamus et du cortex, il transmet l'information au noyau central qui envoie des projections à l'hypothalamus (Weymar *et al.*, 2012) pour activer l'axe

corticotrope et le système nerveux sympathique, aux ganglions de la base pour induire un comportement adapté ainsi qu'aux différents systèmes de neuromodulations impliquant notamment les monoamines telles que la sérotonine, la dopamine et l'acétylcholine (Rodrigues *et al.*, 2009). L'axe corticotrope (Figure 6) est constitué principalement de trois structures : l'hypothalamus, l'hypophyse et la glande surrénale.

- **L'hypothalamus**

L'hypothalamus est situé au niveau de la partie ventrale du diencephale, sous le thalamus. Cette région est constituée d'un ensemble de noyaux qui font le lien entre le système nerveux central et le système endocrinien. En effet, il reçoit les afférences provenant des centres nerveux sympathiques, notamment celles du système limbique. Suite à ces stimulations, il libère plusieurs neuropeptides. L'activation de l'axe corticotrope commence par le noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus. Sous l'effet du stress, l'hypothalamus est stimulé au niveau du noyau paraventriculaire (PVN) dont les neurones disposent des propriétés neurosécrétoires. En recevant des afférences de l'amygdale ainsi que du locus coeruleus (LC), via les récepteurs alpha-1 adrénergiques (Kyrou et tsigos, 2009), l'hypothalamus intègre les différentes réponses du cerveau au stimulus stressant. Les neurones parvocellulaires du PVN sécrètent la corticolibérine (corticotropin-releasing hormone : CRH), un neuropeptide composé de 41 acides aminés. Le PVN va aussi sécréter un autre neuropeptide, l'arginine-vasopressine (AVP) composée de 9 acides aminés qui, entre autres, potentialise l'effet du CRH. L'ocytocine est également sécrétée à ce niveau avec une action inhibitrice. Ces deux substances permettent une action modulatrice de la sécrétion de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) par l'hypophyse.

- **L'hypophyse**

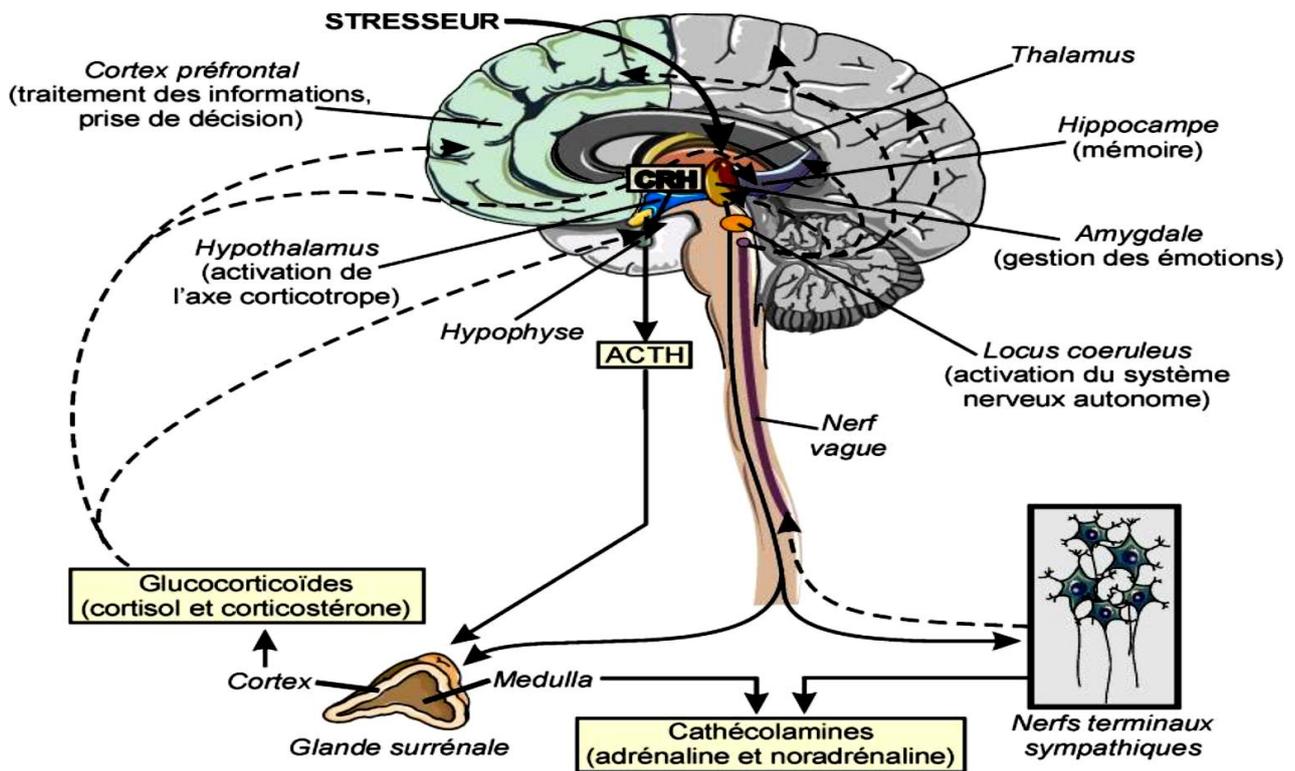
L'hypophyse est une glande endocrine reliée à l'hypothalamus par la tige pituitaire, constituée de trois lobes : le lobe antérieur ou l'anté-hypophyse ou adénohypophyse situé en avant, le lobe postérieur ou la post-hypophyse ou neurohypophyse situé en arrière et le lobe intermédiaire. Les neurohormones produites par le PVN agissent au niveau de l'adénohypophyse sur l'expression du gène codant la pro-opiomélanocortine ou POMC précurseur de l'hormone adrénocorticotrope ou ACTH, dont la maturation donne naissance à de nombreux peptides dont l'ACTH (adrenocorticotropic hormone ou hormone corticotrope). L'ACTH, libéré dans la circulation sanguine, va agir au niveau du cortex surrénalien pour libérer les glucocorticoïdes (Lupien *et al.*, 2009).

- **Les glandes surrénales**

Situées chacune aux pôles supérieurs des deux reins, les surrénales sont formées de deux glandes endocrines. La corticosurrénale qui secrète les glucocorticoïdes (cortisol chez l'homme et corticostérone chez les volailles et le rongeur) et les minéralocorticoïdes (aldostérone); et la médullosurrénale qui secrète les catécholamines (adrénaline et noradrénaline). L'ACTH, en se fixant sur son récepteur MC2-R (récepteurs aux mélanocortines), va induire la synthèse et la libération des glucocorticoïdes dans la circulation sanguine (Lupien *et al.*, 2009).

- **Les glucocorticoïdes**

Les glucocorticoïdes sont des hormones stéroïdiennes formées à partir du cholestérol dans la zone fasciculée de la corticosurrénale qui augmentent la glycémie, la quantité d'acides gras sanguins et affaiblissent le système immunitaire. Le glucocorticoïde majoritaire est le cortisol chez l'homme et la corticostérone chez le rongeur. La corticostérone ne diffère structurellement du cortisol que par un groupement hydroxyle (-OH) sur le carbone 17 du cortisol. Les glucocorticoïdes sont lipophiles et peuvent donc traverser facilement la bicouche lipidique des cellules. Cette propriété leur permet de traverser facilement la barrière hémato-encéphalique et d'agir sur différentes régions cérébrales. Les glucocorticoïdes (Salpolsky *et al.*, 2000) agissent sur les cellules cibles, en se liant à deux types de récepteurs intracellulaires: les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR ou récepteur de type I) et les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR ou récepteur de type II). Les MR sont exprimés principalement au niveau du système limbique notamment dans l'hippocampe, l'amygdale, le septum et l'hypothalamus alors que les GR sont exprimés assez largement dans le cerveau, tout en étant fortement concentrés dans l'hippocampe, le PVN et les cellules corticotropes de l'hypophyse. On retrouve aussi les GR dans le thalamus, le striatum, le noyau central de l'amygdale, le noyau arqué de l'hypothalamus et dans le cortex (Salpolsky *et al.*, 2000). Les MR ont une affinité importante pour les glucocorticoïdes naturels alors que les GR ont une affinité plus faible pour des glucocorticoïdes naturels et une plus forte affinité pour des glucocorticoïdes synthétiques comme la dexaméthasone (De Kloet *et al.*, 2005 ; Joëls et De Kloet, 2017). Du fait de cette différence d'affinité, à l'état basal (faible concentration), les glucocorticoïdes se fixent préférentiellement aux MR, alors qu'après une sécrétion importante de glucocorticoïdes (pendant le pic du cycle circadien et pendant un stress), ils se fixent sur les GR (Saper *et al.*, 2005). Ainsi, les MR sont impliqués dans l'activité basale de l'axe corticotrope alors que les GR sont impliqués dans l'activité phasique de l'axe corticotrope, comme lors d'un stress (De Kloet *et al.*, 2005).



**Figure 6** : Schéma de l'axe corticotrope (Moisan et Le Moal, 2012).

Les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif sur leur propre sécrétion (Charmandari *et al.*, 2005 ; Nadezhda et Goncharova, 2013) en inhibant la sécrétion du CRH au niveau du PVN. La libération d'ACTH au niveau de l'antéhypophyse est alors diminuée, réduisant ainsi la libération de glucocorticoïdes surrénaliens, permettant de mettre fin à la réponse de stress. L'axe corticotrope est également régulé par le système limbique qui comprend un ensemble de structures cérébrales, comme l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal, impliquées dans les émotions, le comportement et la mémoire. L'hippocampe et le cortex préfrontal participent au rétrocontrôle de l'axe corticotrope alors que l'amygdale stimule plutôt cet axe.

### I-6- Traitements conventionnels de l'anxiété et ses limites : cas des benzodiazépines

La découverte des benzodiazépines (BDZ) durant les années 1950 a été un tournant majeur dans la prise en charge des troubles anxieux (O'connor *et al.*, 2003 ; Chouinard, 2004). Elles ont remplacé les barbituriques, anciennement utilisés pour traiter l'anxiété. Les barbituriques étaient la seule arme contre l'anxiété et posaient un problème en termes de gravité de leurs effets indésirables (risque d'accoutumance important) et de leur effet inducteur enzymatique fort. La seule molécule anxiolytique avant l'arrivée des BZD était le méprobamate

(Equanil®). Cette molécule est aujourd'hui utilisée dans le sevrage du sujet alcoolo-dépendant. C'est en 1960 qu'arrive la première molécule BZD, le chlordiazépoxyde (Librium®) qui n'est plus commercialisée à ce jour. On peut aujourd'hui la retrouver dans une association avec du clonidine bromure (Librax®). En 1963, le diazépam est commercialisé (Valium®), aujourd'hui utilisé comme référence (O'Connor *et al.*, 2003). Les BZD apparaissent comme des drogues miraculeuses agissant rapidement sur l'anxiété et étant dénuées des effets indésirables provoqués par les barbituriques (Chouinard, 2004). Mais voilà que surviennent des problèmes de tolérance, de dépendance, d'incidences (O'Brien, 2005 ; Bourin, 2010 ; Bourin, 2013) sur les fonctions cognitives comme l'altération de la mémoire, de la concentration sans oublier les abus concernant la prise de ces molécules (O'Connor *et al.*, 2003). Pour ces raisons, les directives actuelles de la pratique médicale (Andrews *et al.*, 2018) recommandent l'utilisation d'antidépresseurs, en particulier les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), les inhibiteurs de la recapture sélectifs de la noradrénaline (IRSNa), ou les inhibiteurs mixtes de la sérotonine et de la noradrénaline (Wong et Licinio, 2004 ; Sartori *et al.*, 2011) en tant que traitement de première intention à long terme des troubles anxieux. Les antidépresseurs ont également des effets secondaires variés en fonction de la sensibilité des patients entre autres : la somnolence, la prise ou perte de poids, la sécheresse de la bouche, la baisse de la pression artérielle, les nausées, les diarrhées, les troubles de la sexualité et le risque cardiométabolique (Azevodo *et al.*, 2016). Face à ces effets indésirables des médicaments de synthèse, près de 80 % de la population se retourne vers la médecine traditionnelle à base de plantes (OMS, 2013).

## **I-7- La plante : *Bridelia micrantha***

### **I-7-1- Position systématique de *Bridelia micrantha***

La position systématique de *Bridelia micrantha* est la suivante (Bekele-Tessemma, 2007) :

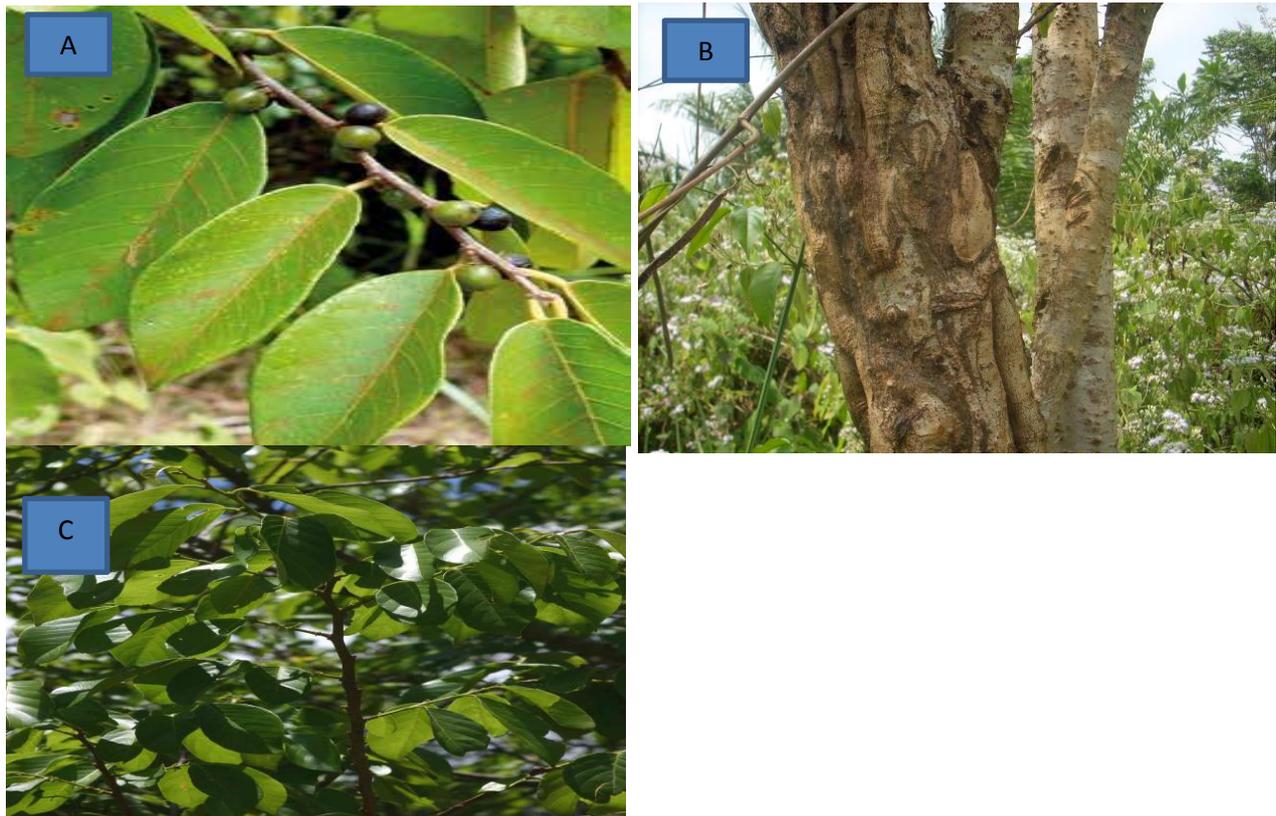
**Règne**.....Plantae  
**Embranchement**..... Tracheophyta  
**Classe**.....Magnoliopsida  
**Ordre**.....Malpighiales  
**Famille**..... Phyllanthaceae (Euphorbiaceae)  
**Genre**..... *Bridelia*  
**Espèce**.....*Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. 1862

### **I-7-2- Synonymes de *Bridelia micrantha***

*Bridelia midbraedii*, *Bridelia stenocarpa*, *Bridelia zanzibarensis*, *Candelabria micrantha*, *Bridelia gambecola*, *Bridelia abyssinica Pax*. Ces noms ont été acceptés dans la liste de contrôle et ont été utilisés comme mots clés dans les principales bases de données des plantes africaines (Orwa *et al.*, 2009).

### **I-7-3-Description botanique**

*Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. (Figure 7) est un arbre de taille petite à moyenne, pouvant atteindre 27 m de haut avec un tronc court, souvent tordu, atteignant 100 cm de diamètre et une couronne arrondie (Bosch *et al.*, 2012 ; Maroyi, 2017). Cette essence appartient à la famille des Phyllanthaceae (Euphorbiaceae). Il est communément appelé mitzeerie en anglais ou feuille dorée côtière (Bosch *et al.*, 2012) ou Ewolet en Ewondo. Le genre *Bridelia* comprend environ 60 à 70 espèces présentes dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde, notamment en Afrique et en Asie (Ngueyem *et al.*, 2009). L'écorce de *Bridelia micrantha* est gris argenté à noire, lisse ou rugueuse avec des lenticelles fissurées et écaillées de façon réticulée (Maroyi, 2017). Les jeunes branches de *Bridelia micrantha* ont souvent des épines émoussées se trouvant parfois sur les branches les plus anciennes. Les feuilles sont simples, entières, distiques, souvent alternes, glabres, de forme elliptique à oblongue. Les fleurs apparaissent en grappes à l'aisselle des feuilles, de couleur jaune, unisexuées avec des sépales triangulaires et de petits pétales (Maroyi, 2017). Les fleurs mâles ont des étamines et des filaments qui sont fondus dans une colonne à la base, mais libres et se répandant au-dessus avec un ovaire rudimentaire. Les fleurs femelles sont presque sessiles avec l'ovaire et les styles fusionnés à la base. Le fruit est une drupe globuleuse et charnue d'environ 7mm, de couleur noire à maturité avec des graines brunâtres (Maroyi, 2017).



**Figure 7** : Photos de *Bridelia micrantha*. (A) : fruits et feuilles ; (B) : Tronc ; (C) : jeune rameau. Photos prises par ZE Mireille, Septembre 2018.

#### **I-7-4- Répartition géographique**

*Bridelia micrantha* est largement réparti sur l'ensemble de l'Afrique continentale tropicale, à l'exception d'un certain nombre de pays dont la pluviométrie annuelle est très faible (Bosch *et al.*, 2012).

*Bridelia micrantha* se trouve dans une variété d'habitats allant de la savane et des forêts, aux prairies inondées de façon saisonnière, aux forêts riveraines, aux forêts marécageuses et aux marges des mangroves, depuis le niveau de la mer en Afrique occidentale à environ 2500 m d'altitude en Afrique orientale (Bosch *et al.*, 2012). *Bridelia micrantha* est une espèce pionnière qui tolère une grande diversité de sols, différents régimes de précipitations et peut résister à un gel modéré.

#### **I-7-5- Utilisations ethnomédicinales de *Bridelia micrantha***

L'écorce, le jus de feuilles, les feuilles et les racines de *Bridelia micrantha* possèdent diverses propriétés médicinales et guérissent divers maux et maladies chez l'homme en Afrique tropicale (Maroyi, 2017). L'écorce de *Bridelia micrantha* est très utilisé au Nigeria dans le traitement des plaies, comme purgatif, abortif et aphrodisiaque ; alors qu'au Congo la décoction

d'écorce se prend en cas de toux et de maux de gorge. En Afrique du Sud, l'écorce guérit les maux de tête, les douleurs articulaires, les douleurs oculaires, les douleurs d'estomac, les diarrhées, le ténia, les maladies vénériennes et la fièvre (Maroyi, 2017). On utilise les feuilles comme laxatif et on les mâche contre les maux de tête. En Tanzanie, les racines traitent les symptômes du diabète sucré non insulino-dépendant comme une soif intense, une production fréquente d'urine et une transpiration importante. En Côte d'Ivoire on applique l'extrait de feuilles et de racines comme anthelminthique, antipaludéen et contre la trypanosomiase. En République Démocratique du Congo, l'écorce interne sert à confectionner un poison de flèche (Maroyi, 2017). Au Cameroun, les écorces de *Bridelia micrantha* sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies neurologiques comme l'épilepsie, l'insomnie, l'anxiété et les maux de tête (Ngo Bum *et al.*, 2012).

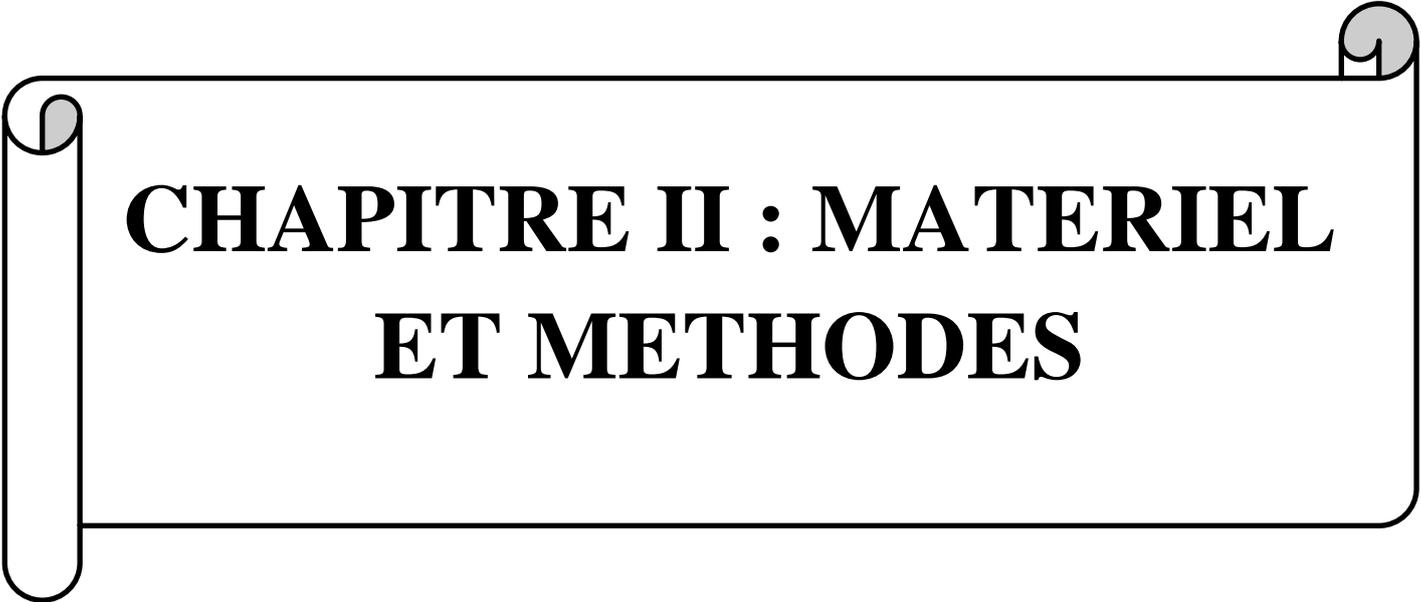
#### **I-7-6- Propriétés pharmacologiques de *Bridelia micrantha***

Des études antérieures ont démontré que l'extrait de cette plante a une activité inhibitrice significative contre les organismes pathogènes. Dans certains cas, l'activité antibactérienne est comparable à celle de l'Ampicilline et de la Gentamicine (Aladesanmi *et al.*, 2006). D'autres études ont démontré que *Bridelia micrantha* serait bénéfique dans le traitement du VIH/ SIDA, car il guérit les maladies opportunistes au VIH/SIDA et contribue au bien être du patient (Salehi *et al.*, 2018). Il a été également montré que cette plante pourrait être un inhibiteur au VIH-1 de la transcriptase reverse (Bessong *et al.*, 2004, Bessong *et al.*, 2006 ; Prinsloo *et al.*, 2018). Les activités anti-parasitaires (Waterman *et al.*, 2010 ; Waiganjo *et al.*, 2014; Nondo *et al.*, 2015), antibactériennes (Gangoué-Piéboji *et al.*, 2009 ; Green *et al.*, 2011; Okeleye *et al.*, 2011 ; Ngono *et al.*, 2019), antidiabétiques (Adika *et al.*, 2012), antidiarrhéiques (Lin *et al.*, 2002), antifongiques (Traoré *et al.*, 2015), antinociceptives (Onoja *et al.*, 2014), antioxydantes (Shelembe *et al.*, 2016), antivirales (Bessong *et al.*, 2004, Bessong *et al.*, 2006), hépatoprotectrices (Nwaehujor et Udeh, 2011), insecticides (Adesina *et al.*, 2016), inhibitrices de la  $\beta$ -lactamase (Gangoué-Piéboji *et al.*, 2007), anticonvulsivantes et sédatives (Ngo Bum *et al.*, 2012) des extraits de cette plante ont été mises en évidence.

#### **I-7-7- Constituants phytochimiques de *Bridelia micrantha***

De nombreuses classes de composés phytochimiques, notamment les alcaloïdes, les anthocyanidines, les anthraquinones, les glucosides cyanogéniques, les huiles essentielles, les esters, les flavonoïdes, les oxalates, les composés phénoliques, les saponines, les stérols et les tanins ont été retrouvés dans la plante (Mburu *et al.*, 2016 ; Maroyi, 2017). L'écorce, les fruits

et les feuilles de *Bridelia micrantha* contiennent une grande variété de nutriments classiques, tels que : des minéraux, des glucides, et des protéines (Maroyi, 2017). Plusieurs éléments chimiques tels que : le calcium, le chrome, le cobalt, le cuivre, le fer, le plomb, le magnésium, le manganèse, le nickel, le phosphore, le potassium, le sodium et le zinc ont été isolés à partir des fruits de *Bridelia micrantha* (Maroyi, 2017).



# **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

## **II-1- Matériel**

### **II-1-1- Matériel végétal**

Les écorces de *Bridelia micrantha* utilisées au cours de nos expérimentations ont été récoltées en saison pluvieuse en juillet 2010 à NKOMBASSI localité située aux environs de Yaoundé (Cameroun). Ces écorces ont été récoltées en matinée selon les recommandations du tradipraticien, lavées à l'eau du robinet et séchées à l'ombre. Le matériel végétal a été identifié en comparaison avec l'échantillon existant à l'Herbier National du Cameroun sous le numéro 9678/SRF/CAM.

### **II-1-2- Matériel animal**

Les souris blanches *Mus musculus* Swiss des deux sexes, âgées de 2 à 3 mois environ et pesant entre 20 et 25 g ont été utilisées pour la réalisation des différents tests. Les animaux ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I dans des cages en plastique tapissées de copeaux de bois, à température ambiante avec une aération suffisante, suivant un cycle de 12 heures de lumière/ 12 heures d'obscurité (éclairage naturel). Elles avaient une alimentation standard à base de provende : farine de maïs (60 %), farine de poisson (24 %), farine de blé (10 %), farine d'arachide (7 %), farine d'os (2 %), tourteau de palmiste (70 %). Au moment de la préparation, une pincée de sel avait été ajoutée. Un complexe vitaminé kelavitasol dissous dans leur eau de boisson par moment, et dont la composition était la suivante : vitamines A, D3, B1, B2, B6, C et PP. Ils avaient accès libre à l'eau de robinet.

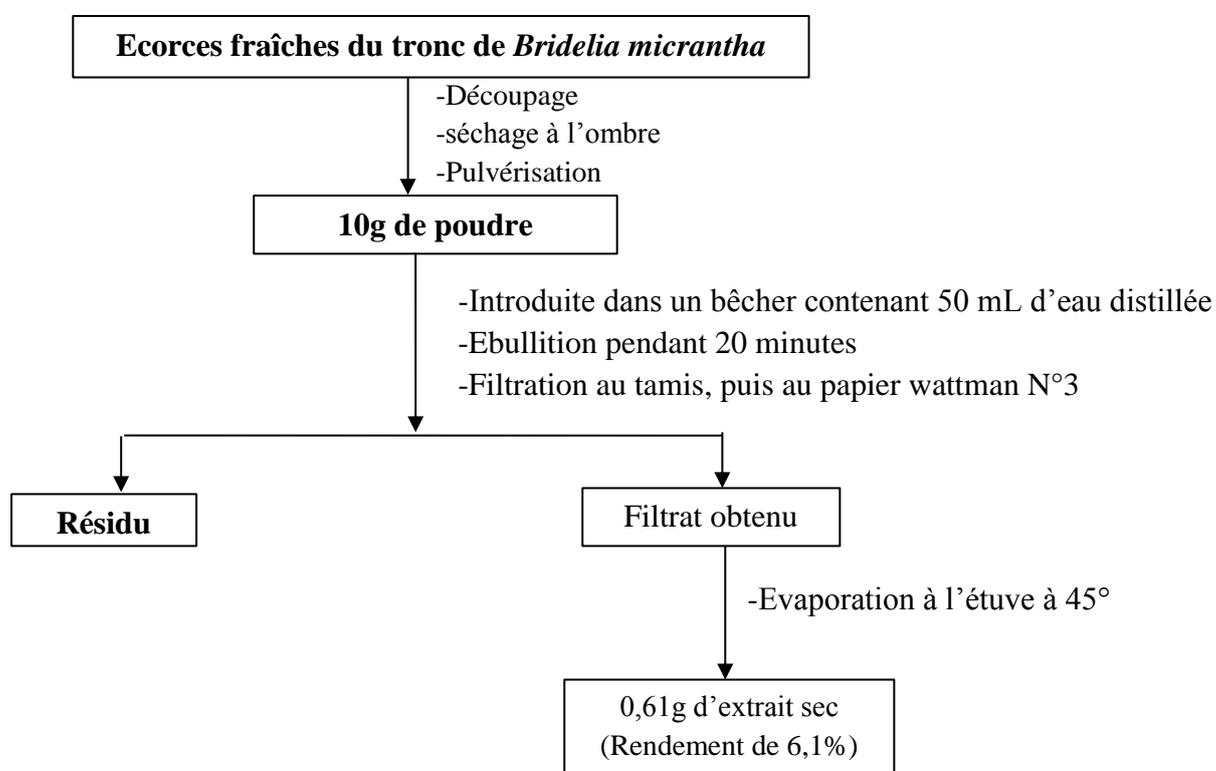
## **II-2- Méthodes**

### **II-2-1- Préparation de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha***

Les écorces du tronc de *Bridelia micrantha*, ont été découpées, séchées à l'ombre, puis écrasées. La fine poudre obtenue a été conservée dans une boîte hermétiquement fermée. La poudre des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* (10 g) a été introduite dans un bêcher contenant 50 mL d'eau distillée et portée à ébullition pendant 20 minutes (Figure 8). Après refroidissement et décantation, le décocté obtenu a été filtré à l'aide d'un tamis fin, puis au papier Wattman n°3. Le filtrat recueilli de couleur rouge a été évaporé à 45°C dans une étuve à ventilation. Cette opération a permis d'obtenir 0,61g d'extrait sec de *Bridelia micrantha*, soit un rendement de 6,1%. Les solutions étant administrées dans un volume de 10 mL/kg de poids corporel, la solution mère correspondait à la dose de 305 mg/kg. A partir de

cette solution mère, les dilutions avec de l'eau distillée ont été ensuite réalisées au 1/2, 1/4 et 1/10 pour obtenir les doses respectives de 152, 76 et de 30 mg/kg.

Le choix des doses de l'extrait utilisé dans cette étude a été faite en se basant sur la posologie recommandée par le tradipraticien. Pour ce faire, à partir d'une quantité de poudre, dans un volume d'eau, la posologie recommandée par le tradipraticien a été déterminée et considérée comme la DHE (dose humaine équivalente). Cette DHE dans notre cas, pour un homme de 70 kg était de 24,57 mg/kg. La dose animale a été déterminée en multipliant la DHE par un facteur de conversion 6,17 (Nair et Shery, 2016). Ce qui correspond à une dose de 152 mg/kg qui a été encadrée dans cette étude.



**Figure 8** : Protocole de préparation de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha*.

## II-2-2- Préparation des solutions et des homogénats

### II-2-2-1-Préparation du Phénobarbital

Toutes les solutions préparées ont été administrées aux animaux dans un volume de 10 mL/kg de masse corporelle.

Une solution de phénobarbital (Roche, France), (2 mg/mL) a été préparée par solubilisation d'un comprimé de 100 mg pour obtenir un volume final de 50 mL d'eau distillée.

### **II-2-2-2-Préparation du Diazépam**

Le diazépam (anxiolytique de référence) commercialisé en ampoules de 10 mg/2 mL sous le nom de Valium® (Roche, France) a été utilisé pour les tests d'anxiété transitoire et d'anxiété chronique. Une solution de concentration 0,03 mg/mL a été préparée. Pour cela, 1 mL de diazépam a été introduit dans une éprouvette graduée, puis le volume final a été complété à 166,67 mL avec de l'eau distillée. Une seconde solution de diazépam de concentration 0,3 mg/mL a été préparée en introduisant 1 mL de diazépam dans une éprouvette graduée et en complétant le volume final à 16,67 mL avec de l'eau distillée. Une autre solution de concentration 0,05 mg/mL a été préparée en introduisant 1 mL de diazépam dans une éprouvette graduée et en complétant le volume final à 100 mL avec de l'eau distillée. Une dernière solution de concentration 0,2 mg/mL a été préparée en introduisant 1 mL de diazépam dans une éprouvette graduée et en complétant le volume final à 25 mL avec de l'eau distillée. Les solutions de diazépam ainsi préparées, ont été utilisées en fonction de l'expérience.

### **II-2-2-3-Préparation de la Bicuculline**

Une solution de concentration 0,25 mg/mL de bicuculline a été préparée. Pour cela, 2,5 mg de poudre de bicuculline (Sigma Aldrich Co., St. Louis, USA) a été introduite dans une fiole jaugée et le volume a été complété à 10 mL avec de l'eau distillée.

### **II-2-2-4-Préparation du Flumazénil**

Une solution de concentration 0,3 mg/mL de flumazénil (RO151788) a été préparée. Pour cela, 3 mg de poudre de flumazénil (Hoffmann-La Roche Ltd. Swiss) a été introduite dans une fiole jaugée et le volume a été complété à 10 mL avec de l'eau distillée.

### **II-2-2-5-Préparation de la Nicotine**

Une solution de concentration finale de 0,15 mg/mL a été préparée. Pour ce faire, 0,04 mL de nicotine (40 %) a été introduit dans une éprouvette graduée, puis le volume final a été complété à 106,67 mL avec de l'eau distillée.

### **II-2-2-6- Tampon Tris-HCl 50 mM, KCl 150 mM ; pH 7,4**

Une masse de 1,21 g de Tris base et une masse de 2,79 g de KCl ont respectivement été pesées et dissoutes dans 250 mL d'eau distillée. Le pH a été ajusté à l'aide d'un pH-mètre à 7,4 par ajout de HCl 11,8 N et le volume a été complété à 500 mL avec de l'eau distillée.

### **II-2-2-7- Solution de NaCl 0,9 %**

La solution de NaCl 0,9 % est obtenue en dissolvant 9 g de NaCl dans 1000 mL d'eau distillée. La solution ainsi préparée a été conservée à 4°C.

### **II-2-2-8- Solution de Sérum Albumine Bovin**

La solution de Sérum Albumine Bovin (SAB), (3 mg/mL) a été préparée en dissolvant 150 mg de SAB dans 50 mL d'eau distillée.

### **II-2-2-9- Solution de biuret**

Le réactif de biuret a été préparé en 2 étapes à partir des solutions A et B.

- **Solution A:** 0,75 g de sulfate de cuivre hydraté ( $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ ) et 3 g de tartrate de sodium et de potassium ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée.
- **Solution B:** 15 g de soude ont été dissous dans 100 mL d'eau distillée.

Au moment du dosage, les deux solutions A et B ont été mélangées et le volume de la solution finale a été ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. Le mélange obtenu est stable à température ambiante.

### **II-2-2-10- Tampon carbonate (0,05 M ; pH 10,2)**

La solution de tampon carbonate a été préparée en pesant dans l'ordre dans un bécher 4,5 g de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3, 10\text{H}_2\text{O}$ ) et 4,2 g de bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ). L'ensemble a été solubilisé dans 900 mL d'eau distillée. Le pH de la solution a été ramené à 10,2 avec de la soude et le volume a été complété à 1000 mL.

### **II-2-2-11- Solution d'adrénaline (0,3 mM)**

La solution d'adrénaline de concentration 0,06 mg/mL a été préparée au moment de l'utilisation par dissolution de 0,006 g d'adrénaline dans 100 mL d'eau distillée.

### **II-2-2-12- Solution d'acide trichloroacétique 20%**

Pour préparer cette solution, 2 g d'acide trichloroacétique (TCA) ont été dissous dans une quantité suffisante d'eau distillée pour avoir 10 mL.

### **II-2-2-13- Solution d'acide thiobarbiturique 0,67%**

Pour préparer cette solution, 0,67 g d'acide thiobarbiturique (TBA) ont été dissous dans une quantité suffisante d'eau distillée pour avoir 100 mL.

### **II-2-2-14-Tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,5**

Deux solutions ont été initialement préparées. Le phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$ ) hydraté (8,91 g) a été dissous dans 500 mL d'eau distillée et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$ ) dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate disodique hydraté ont été ajoutés 70 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté, puis goutte à goutte 30 mL de la même solution, ce qui donne un volume final d'environ 600 mL de tampon phosphate 0,1 M ; pH 7,5.

### **II-2-2-15- Tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5)**

Dans 500 mL d'eau distillée, ont été dissous 8,9 g de phosphate disodique hydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$ ) et 6,5 g de phosphate monosodique hydraté ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4, \text{H}_2\text{O}$ ) ont aussi été dissous dans 500 mL d'eau distillée. A 500 mL de la solution de phosphate monosodique hydraté obtenue ont été ajoutés 200 mL de la solution de phosphate disodique, puis goutte à goutte 80 mL de la même solution jusqu'à obtention d'un volume final de 780 mL de tampon 0,1 M ; pH 6,5.

### **II-2-2-16- Solution de peroxyde d'hydrogène**

Pour préparer le peroxyde d'hydrogène 50 mM, 243  $\mu\text{L}$  de peroxyde d'hydrogène 35 % ont été prélevés et dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 50 mL.

### **II-2-2-17- Solution d'acide phosphorique à 2,5 %**

Pour préparer la solution d'acide phosphorique à 2,5 %, 2,5 mL d'acide phosphorique pur (100 %) ont été prélevés et dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 100 mL.

### **II-2-2-18- Naphtyléthylène diamide 0,1 % (NED 0,1%)**

Pour préparer le naphtyléthylène diamide 0,1 %, 0,1 g de naphtyléthylène diamide a été pesé et dissous dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 100 mL.

### **II-2-2-19- Solution standard de nitrite de sodium**

La solution standard de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) a été préparée à une concentration de 1 mM, en dissolvant 0,69 g de  $\text{NaNO}_2$  dans de l'eau distillée en quantité suffisante pour faire 10 mL.

### **II-2-2-20- Réactif d'Ellman**

Le réactif d'Ellman a été préparé par dissolution de 4,69 mg d'acide dinitro-2,2'-dithio-5,5'-dibenzoïque (DTNB) dans le tampon phosphate 0,1 M ; pH 6,5 en quantité suffisante pour faire 250 mL.

### **II-2-2-21- Solution de dichromate de potassium 5 % et acide acétique glacial**

Pour préparer le dichromate de potassium à 5 %, 2,5 g de dichromate de potassium ont été dissous dans 50 mL d'eau distillée. La solution de dichromate/acide acétique a été obtenue en mélangeant 50 mL de solution de dichromate de potassium à 5 % et 150 mL d'acide acétique glacial pour faire un volume final de 200 mL.

### **II-2-2-22- Préparation des homogénats**

Les différents organes vitaux ayant servi aux investigations biochimiques ont été traités de la manière suivante :

- **Foie, rein, rate et poumons**

Ces organes prélevés après sacrifice des animaux ont été pesés et 0,4 g de chaque organe a été transféré dans un mortier en céramique sur un bac de glace, broyé et mélangé à 2 mL de tampon Tris-HCl 50 mM. Les homogénats à 20 % ainsi obtenus ont été centrifugés à 3000 tours par minute pendant 20 minutes à 4°C. Le surnageant recueilli a été conservé au congélateur à -20°C pour la détermination de certains paramètres biochimiques.

- **Cerveau**

Une masse du lobe temporal (face inférieure et interne) du cerveau (0,4 g) de chaque souris a été prélevée et broyée dans un mortier en verre sur un bac de glace. Le broyat obtenu a été homogénéisé à 20 % (poids/volume) dans du tampon Tris-HCl 50 mM, puis centrifugé à

3000 tours par minute à 4°C pendant 20 minutes. Le surnageant obtenu a été prélevé et conservé à -20°C.

### **II-2-3- Etude phytochimique qualitative**

Un screening phytochimique qualitatif a été effectué afin de déterminer la présence de quelques classes de composés bioactifs de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. La recherche a porté sur la détermination qualitative des composés phénoliques, des flavonoïdes, des sucres, des tanins, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des anthocyanes, des anthraquinones, des stérols, des triterpènes, et des saponines (Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-1- Test des flavonoïdes**

Dans un tube à essai, 1 mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL a été dilué dans du méthanol à 0,5 mL. A cette solution, a été ajouté 2 à 3 mL d'acide chlorhydrique concentré, puis 2 à 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge brique indique la présence des flavonoïdes (Harbone, 1998 ; Njoku et Chidi, 2009 ; Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-2- Test des tanins**

Dans un tube à essai, 0,5 mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL a été dilué dans 5 mL de diméthylsulfoxyde à 1,5 %. Le mélange obtenu a été chauffé dans un bain marie à 70 °C pendant 3 minutes. Le mélange a été filtré et 3 mL du filtrat additionné à 2 mL de chlorure ferrique à 3 %. La présence des tanins plus précisément des catéchantanins se traduit par l'obtention d'une coloration vert foncée (Harbone, 1998 ; Njoku et Chidi, 2009 ; Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-3- Test des composés phénoliques**

Un millilitre de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL a été solubilisé dans 5 mL de diméthylsulfoxyde à 1,5 %. La solution obtenue a été placée dans un bain marie (37°C) pendant 15 minutes. La solution a été filtrée et 3 gouttes de cyanure ferrique potassique à 5 % ont été introduites dans le filtrat. L'obtention d'une coloration violette indique la présence des composés phénoliques (Harbone, 1998 ; Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-4- Test des saponines**

Dans un tube à essai, a été introduit 0,5 mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL, puis 5 mL d'une solution de diméthylsulfoxyde à 1,5 %. La solution a été mélangée et chauffée pendant 5 minutes au bain marie à 50 °C. La formation d'une mousse persistante au-delà de 15 minutes après une agitation vigoureuse du tube signale la présence des saponines (Harbone, 1998 ; Njoku et Chidi, 2009 ; Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-5- Test des Alcaloïdes**

Dans un tube à essai, 1 mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL a été mélangé à 1 mL d'acide chlorhydrique (5 %). L'ensemble a été chauffé pendant 15 minutes dans un bain marie à une température de 70 °C. Quelques gouttes du réactif de Dragendorff ont été ajoutées au mélange. L'obtention d'un précipité rouge brun indique la présence des alcaloïdes (Harbone, 1998 ; Njoku et Chidi, 2009 ; Mburu *et al.*, 2016).

#### **II-2-3-6- Test des glucosides**

Dans un tube à essai, a été solubilisé 0,5 g de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL dans 5 mL d'acide chlorhydrique à 5 %. La solution a été neutralisée avec 5 mL de soude à 5 %. A la solution, ont été ajoutées quelques gouttes d'une solution de liqueur de Fehling. Le test s'est avéré positif avec la formation d'un précipité rouge brique (Harbone, 1998).

#### **II-2-3-7- Test des terpénoïdes**

Un volume de 2 mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (30,5 mg/mL) a été dissous dans 2 mL de chloroforme puis évaporé complètement. Ensuite, 2 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés, puis agités pendant 2 minutes. L'apparition d'une couleur grisâtre indiquait la présence des terpénoïdes (Njoku et Chidi, 2009).

#### **II-2-3-8- Test des Anthraquinones**

A 3mL de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (30,5 mg/mL), ont été ajoutés 3 mL de benzène. Après agitation, la solution a été filtrée et 5 mL d'une solution d'ammoniaque à 10 % ont été ajoutés au filtrat. Le mélange a été bien homogénéisé. La présence d'une coloration

rose, rouge ou violette dans la phase ammoniacale indiquait la présence des anthraquinones libres. (Njoku et Chidi, 2009).

#### **II-2-3-9- Test des anthocyanes**

Les anthocyanes sont révélés par le mélange de 1 mL d'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de concentration 30,5 mg/mL, à 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 10 % et 1 mL de NH<sub>4</sub>OH à 10 %. L'apparition d'une coloration bleue en milieu basique, indique la présence des anthocyanes (Ngueyem *et al.*, 2009).

#### **II-2-3-10- Test des stérols et triterpènes : Réaction de Libermann-Buchard**

A 5 mL d'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (30,5 mg/mL), ont été ajoutés 5 mL d'anhydride d'acétate et 1 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageante révélait respectivement la présence des stérols et des triterpènes (Ngueyem *et al.*, 2009).

### **II-2-4- Evaluation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur les modèles d'anxiété transitoire**

#### **II-2-4-1- Détermination des propriétés anxiolytiques**

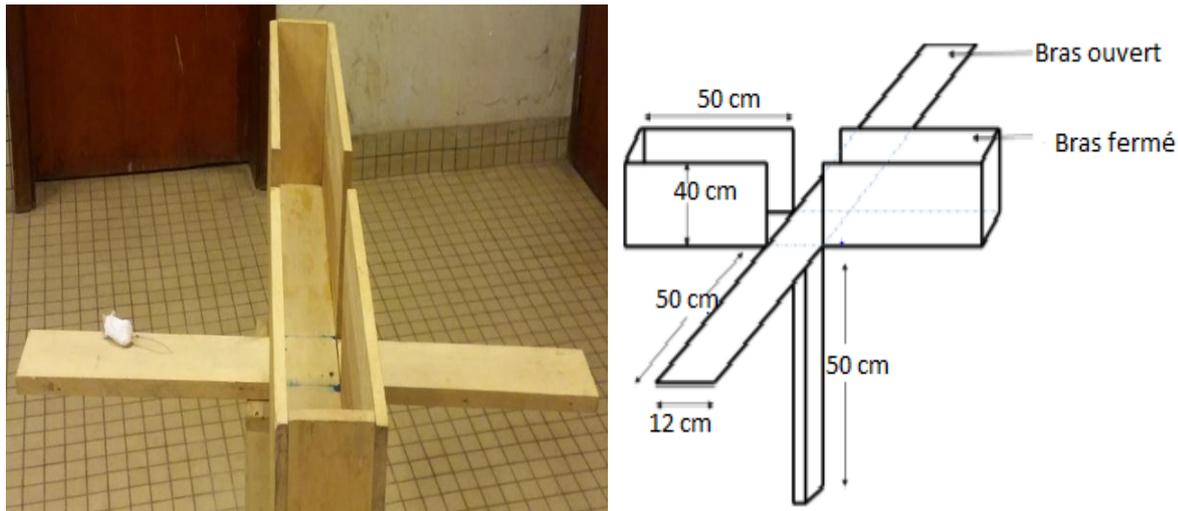
##### **II-2-4-1-1- Etude de l'effet anxiolytique de l'extrait dans le test de l'hyperthermie induite par le stress**

Le test de l'hyperthermie induite par le stress est basé sur le fait qu'il existe chez les animaux, une corrélation entre l'état émotionnel et la température corporelle (Vinkers *et al.*, 2010 ; Omam *et al.*, 2017). L'hyperthermie induite par le stress est un phénomène physiologique qui apparaît lorsqu'un animal est confronté à une situation de stress physique ou physiologique. Dans cette étude, la situation stressante était la contention de la souris par l'expérimentateur et le fait que ces animaux se retrouvaient progressivement en nombre réduit que celui du départ dans les différents groupes. Les souris ont été emmenées au laboratoire 72 heures avant la réalisation du test pour acclimatation (Ngo Bum *et al.*, 2011 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ). Elles ont été réparties de manière homogène en lots de 10 souris chacun (5 mâles et 5 femelles). Ces dernières ont été traitées à l'eau distillée pour le lot témoin, aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (30 ; 76 ; 152 ; 305 mg/kg; *p.o.*) pour les lots tests et au phénobarbital (20 mg/kg; *i.p.*) pour le lot témoin positif. Après administration des

différentes substances, les souris ont été remises à nouveau dans leurs cages de départ pour réduire les réponses néophobiques dues à l'environnement expérimental. Une heure après l'administration des différents traitements, les souris ont été retirées l'une après l'autre de leurs cages à raison d'un écart d'une minute entre 2 souris consécutives. La température rectale de chaque souris a été mesurée à l'aide d'un thermomètre de marque Hugo Sachs modèle H111 par introduction d'une sonde (2 mm de diamètre et 2 cm de longueur) dans le rectum de cette dernière, pour évaluer la température rectale moyenne des souris des différents lots. La sonde introduite dans l'anus de l'animal devait rester jusqu'à la stabilisation de la température lue sur le cadran du thermomètre. Avant chaque prise de température, la sonde était maintenue dans une solution de NaCl 0,9 %. L'hyperthermie induite par le stress (HIS) a été déterminée en faisant la différence entre la température rectale des trois dernières souris et celles des trois premières (Ngo Bum *et al.*, 2009a ; Ayissi *et al.*, 2015).

#### **II-2-4-1-2- Etude de l'effet anxiolytique de l'extrait dans le labyrinthe en croix surélevé**

Le dispositif que nous avons utilisé est celui décrit par Moto *et al.*, 2012 ; Mairaira *et al.*, 2018. Le labyrinthe utilisé était essentiellement fait de bois et constitué de quatre bras de dimensions égales (50 cm de long et 12 cm de large) qui débouchaient au niveau du centre de la plateforme, qui est un petit espace carré de 12 cm de côté (Figure 9). Les deux bras fermés opposés protégés par des parois de 40 cm de hauteur sont considérés comme relativement sécurisants; tandis que les deux bras ouverts opposés sont exposés, non sécurisants, ce qui les rend relativement anxiogènes.



**Figure 9 :** Dispositif du labyrinthe en croix surélevé : photographie et représentation schématique (photo prise par Ze Mireille en juin 2015).

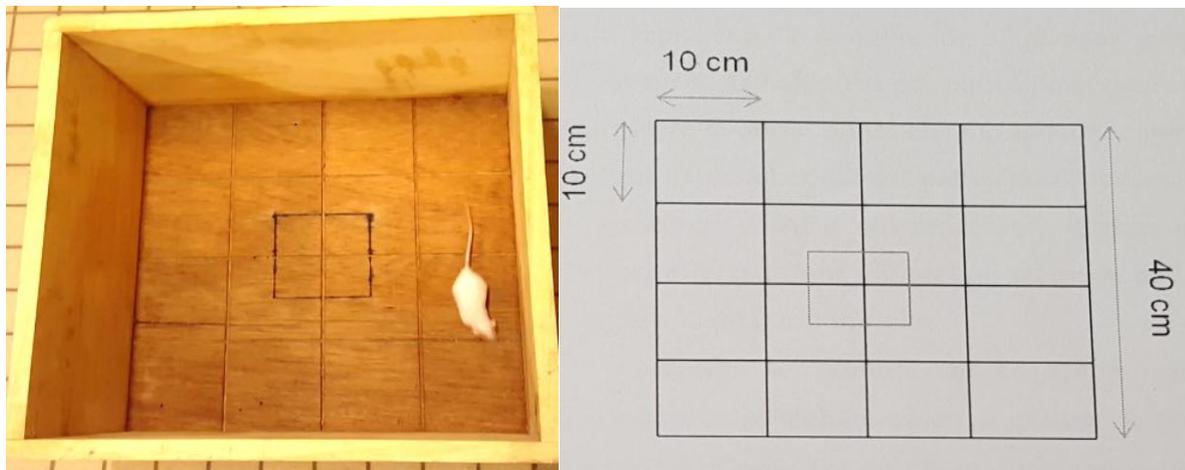
Le principe du test repose sur le conflit d'approche/évitement des bras ouverts. Comptenu de l'aversion des rongeurs pour les espaces ouverts et la hauteur, les bras ouverts du dispositif sont plus anxiogènes que les bras fermés. Ainsi, un animal qui explore plus les bras ouverts sera considéré comme étant « peu anxieux » alors qu'un animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif, sera décrit comme étant « anxieux » (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017).

Ce test est basé sur l'étude du comportement spontané de l'animal sur le paradigme anxiogène du labyrinthe en croix surélevé (Hazim *et al.*, 2014 ; Njapdounke *et al.*, 2016). Il a été réalisé dans une salle calme et éclairée par la lumière du jour. A chaque période, le dispositif expérimental a été nettoyé avec de l'alcool éthylique (70°). Deux types de variables ont été mesurées : les variables classiques (Omam *et al.*, 2017 ; Himanshu *et al.*, 2020) et les variables éthologiques tirées du répertoire comportemental défensif des rongeurs (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Parmi les variables classiques, il a été évalué le nombre d'entrées et le temps passé dans les différents bras du labyrinthe en croix surélevé. A partir de ces données, le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts (ou clos) du labyrinthe a été déterminé en faisant le rapport entre le nombre d'entrées dans les bras ouverts (ou clos) sur le nombre d'entrées dans tous les bras du labyrinthe, multiplié par cent. Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts (ou clos) du labyrinthe est calculé en faisant le rapport de temps passé dans les bras ouverts (ou clos) sur le temps d'expérimentation, multiplié par cent. Parmi les variables éthologiques, il a été mesuré le nombre de prises d'informations sur la profondeur ou nombre d'inclinaisons de la tête et le nombre de redressements. Le critère retenu pour l'entrée dans un bras est que les quatre pattes de l'animal doivent avoir pénétré dans le bras. Le

critère retenu pour la sortie dans un bras nécessite que l'animal sorte au moins deux pattes du bras (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Les souris, rangées en 5 groupes de 6 animaux chacun (3 mâles et 3 femelles) ont été traitées à l'eau distillée (10 ml/kg) pour le lot témoin, au diazépam (3 mg/kg; *i.p.*) pour le lot témoin positif et aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (76 ; 152 et 305 mg/kg; *p.o.*) pour les lots tests. Une heure après l'administration des différents traitements, les souris ont été placées l'une après l'autre au centre de la plate-forme du labyrinthe. Le comportement de chaque souris a été observé pendant une durée de 5 minutes. Toutes les sessions de test ont été enregistrées en utilisant une caméra vidéo (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels).

### II-2-4-1-3- Etude de l'effet anxiolytique de l'extrait dans l'arène ouverte

L'arène ouverte est une enceinte carrée aux bords élevés, éclairée en son centre, qui ne permet à l'animal se retrouvant à l'intérieur ni de s'échapper ni de se cacher (Figure 10). La surface d'exploration est divisée en 17 carreaux : 16 carreaux qui divisent la surface intérieure du dispositif expérimental et 1 carreau central. Les dimensions du dispositif expérimental utilisées dans nos expérimentations étaient de 40 cm de côté, entourées par des parois de 20 cm de hauteur ; sur le plancher sont inscrits 16 carreaux de 10 cm de côté (Ayissi *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016).



**Figure 10** : Dispositif de l'arène ouverte : photographie et représentation schématique (photo prise par Ze Mireille en juin 2015).

Le test de l'arène ouverte est communément utilisé pour évaluer le niveau d'activité locomotrice, le niveau d'exploration et la réactivité émotionnelle chez les rongeurs (Hazim *et al.*, 2014 ; Omam *et al.*, 2017). Les souris ont été réparties de manière homogène en cinq lots

de six animaux chacun (3 mâles et 3 femelles). Ces animaux ont été traités à l'eau distillée pour le lot témoin, aux doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (76, 152 et 305 mg/kg) pour les lots tests et au diazépam (0,3 mg/kg; *i.p.*) pour le témoin positif. Après administration des différentes substances par la voie intra-péritonéale pour le diazépam et par la voie orale pour l'extrait de plante, les souris ont été à nouveau remises dans leurs cages de départ pour réduire les réponses néophobiques dues à l'environnement expérimental (Ngo Bum *et al.*, 2011 ; Njapdounke *et al.*, 2016). Une heure après l'administration des différentes substances aux souris, elles ont été placées l'une après l'autre au centre du dispositif expérimental. Le comportement de chaque souris a été noté en continu pendant une durée de 5 minutes. La session du test a été enregistrée à l'aide d'une caméra vidéo numérique (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels) placée au-dessus du dispositif expérimental. Les paramètres comportementaux relevés étaient : le nombre de lignes traversées, le nombre de toilettages, le nombre de redressements verticaux, le temps passé au centre du dispositif expérimental et la masse de selles produites. Après 5 minutes d'observation, la souris était remise dans sa cage d'origine et le dispositif expérimental nettoyé avec de l'alcool éthylique (70°).

#### **II-2-4-1-4- Etude de l'effet anxiolytique de l'extrait dans la planche à trous**

La planche à trous est un paradigme conçu pour étudier le comportement de la souris confrontée à un nouvel environnement (stéréotype d'étirement de la tête, prise d'informations en profondeur ou "head dipping").

Le principe du test repose sur un conflit non conditionné, entre une motivation à explorer la situation nouvelle et une tendance à montrer des conduites de peur/d'anxiété face à cette nouveauté qui est la planche à trous (Takeda *et al.*, 1998 ; Moto *et al.*, 2012 ). Le dispositif expérimental utilisé dans nos tests est une planche de dimension 40 cm x 40 cm dans laquelle étaient percés 16 trous de 2,6 cm de diamètre chacun, régulièrement espacés (Figure 11). Elle était montée sur quatre supports la soulevant de 30 cm au-dessus du sol. La surface d'exploration était divisée en 16 carreaux d'égales dimensions (10 x 10 cm).

Les souris ont été réparties en cinq lots de six animaux chacun (3 mâles et 3 femelles) et ont été traitées à de l'eau distillée (10 ml/kg ; *p.o.*) pour le lot témoin, aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (76 ; 152 et 305 mg/kg; *p.o.*) pour les lots tests et au diazépam (0,5 mg/kg; *i.p.*) pour le lot témoin positif. Une heure après administration des différents traitements, les souris ont été placées l'une après l'autre au centre de la planche à trous et plusieurs paramètres comportementaux ont été observés et notés pendant une durée de

5 minutes à savoir : le temps de latence de la première inclinaison de la tête, le nombre d'inclinaisons de la tête, la durée d'inclinaison de la tête, le nombre de redressements, la durée de redressements et le nombre de lignes traversées. Le dispositif expérimental était nettoyé chaque fois avec de l'alcool éthylique avant le début de chaque test afin d'éliminer les odeurs et déchets (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Le comportement de la souris a été filmé en continu par une caméra vidéo numérique (Pnasonic HC-V385, 100 Mega pixels).



**Figure 11** : Dispositif de la planche à trous (photo prise par ZE Mireille en juin 2015).

#### **II-2-4-2- Recherche des mécanismes d'action anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha***

##### **II-2-4-2-1- Evaluation de l'implication du récepteur GABA<sub>A</sub>**

###### **II-2-4-2-1-1- Étude de l'implication du site GABA du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>**

Pour mettre en évidence l'implication du site GABA du complexe récepteur GABA<sub>A</sub> dans la réalisation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* (Bm), la bicuculline (antagoniste compétitif du site récepteur GABA du complexe récepteur GABA<sub>A</sub> (Taiwe *et al.*, 2011; Ayissi *et al.*, 2015 ) a été utilisée. La bicuculline (BIC) (2,5 mg/kg; *i.p.*) a été administrée 30 minutes avant le traitement des souris à l'extrait de plante aux doses de 152 et 305 mg/kg. Les différents lots constitués étaient les suivants : Eau distillée (ED)+ED, ED+BIC, ED+Bm152, ED+Bm305, BIC+Bm152, BIC+Bm305. Une heure après l'administration des différents traitements, les souris ont été placées les unes après les autres au

centre du labyrinthe en croix surélevé et les paramètres conventionnels et éthologiques ont été observés et enregistrés pendant une période de 5 minutes. Le comportement de la souris a été filmé en continu par une caméra vidéo numérique (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels).

#### **II-2-4-2-1-2- Étude de l'implication du site des benzodiazépines du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>**

Le flumazénil (RO151788), antagoniste compétitif du site récepteur des benzodiazépines du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>) (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017) a été utilisé. Le flumazénil à la dose de 3 mg/kg a été administré aux souris par la voie intrapéritonéale 30 minutes avant le traitement de ces dernières à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses de 152 et 305 mg/kg (*p.o.*). Les lots suivants étaient constitués : Eau distillée (ED)+ED, RO+ED, ED+Bm152, ED+Bm305, RO+Bm152, RO+Bm305. Une heure après l'administration des différents traitements, les souris ont été placées l'une après l'autre au centre du labyrinthe en croix surélevé et les paramètres classiques et éthologiques ont été observés et enregistrés pendant une période de 5 minutes. Le comportement de la souris a été filmé en continu par une caméra vidéo numérique (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels).

#### **II-2-5- Evaluation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* sur des modèles d'animaux d'anxiété chronique**

##### **II-2-5-1- Induction de l'anxiété chronique par le stress d'immobilisation chronique ou contention répétée des souris**

Le modèle d'anxiété par immobilisation chronique que nous avons utilisé est celui décrit par Bardin *et al.*, 2009 . Les animaux ont été soumis à un stress par immobilisation répétée qui consistait en une restriction complète des souris à l'intérieur des tubes coniques de 50 ml perforés de trous permettant à l'animal de respirer (Figure 12). Ce dispositif ne donne aucune possibilité de mobilité à l'animal d'où l'expression de stress par immobilisation ou restriction. Les souris ont été immobilisées pendant 3 heures par jour sans accès à l'eau et à l'alimentation pendant 14 jours consécutifs (Maïraïra *et al.*, 2018). Les différents traitements ont été administrés une fois par jour, 1 heure avant l'application du stress par immobilisation des souris durant les quatorze jours d'expérimentation. Dans cette étude, les animaux répartis en six groupes homogènes de six animaux chacun, ont reçu les traitements suivants :

**Groupe I :** témoin normal constitué de souris non stressées et recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg);

**Groupe II :** témoin négatif constitué de souris stressées par immobilisation chronique et recevant quotidiennement de l'eau distillée par voie orale (10 mL/kg);

**Groupes III :** témoin positif constitué de souris stressées par immobilisation chronique et recevant quotidiennement par voie intra-péritonéale le diazépam (2 mg/kg);

**Groupe IV-V et VI :** groupe tests constitués de souris stressées par immobilisation chronique et recevant quotidiennement par voie orale l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses de 76, 152 ou 305 mg/kg respectivement.

Le quinzième jour, les animaux ont d'abord reçu les différents traitements, ensuite ils ont été soumis à des études comportementales afin de vérifier leur niveau d'anxiété. Les souris ont été placées les unes après les autres au centre des différents paradigmes stressants à savoir le labyrinthe en croix surélevé et l'arène ouverte. Les paramètres classiques et éthologiques de mesure d'anxiété ont été notés pendant 5 minutes. Le comportement de la souris a été filmé en continu par une caméra vidéo numérique (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels). Elles ont été laissées au repos pendant trente minutes dans leur cage initiale en attendant le sacrifice.

Les animaux ont été sacrifiés par décapitation après anesthésie à l'éther éthylique. Le sang a été prélevé dans des tubes EDTA et centrifugé immédiatement à 3 000 trs / min pendant 20 min à 4 °C pour obtenir le plasma. Le plasma a été transféré dans des tubes Eppendorf et conservé à -20 °C jusqu'au moment des analyses biochimiques. La concentration plasmatique de corticostérone et de sérotonine a été évaluée par la méthode immunoenzymatique.



**Figure 12:** Dispositif pour induire un stress par immobilisation chronique des souris (photo prise par ZE Mireille, Mars 2016).

#### **II-2-5-2- Induction de l'anxiété chronique par la séparation maternelle**

Les liens entre la mère et le nouveau-né chez les mammifères sont d'une importance fondamentale dans le développement harmonieux de la progéniture. Des séparations longues tendent à installer, chez le raton devenu adulte, des troubles anxieux, « dépressifs », et une conduite de dépendance aux drogues (Sansri *et al.*, 2016 ; Amri *et al.*, 2021).

Le test du stress chronique induit par la séparation maternelle a été réalisé selon la méthode décrite par Sansri *et al.*, 2016. Les femelles gestantes ont été suivies jusqu'au jour de leur mise bas appelé jour de naissance 0 (JN0). La procédure de séparation maternelle (Figure 13) débute le premier jour suivant le jour post natal et s'étend jusqu'au jour 14 (JN1-JN14). Une fois par jour, les petits ont été retirés de leur cage et ont été placés dans des cages individuelles (Figure 13) dans une salle séparée, dans une enceinte maintenue à  $30 \pm 3^\circ\text{C}$  dans le but de les garder approximativement à une température avoisinante celle de la température externe des mères pendant 3 heures (Ravid *et al.*, 2014 ; Sansri *et al.*, 2016 ; Amri *et al.*, 2021). Au bout de deux semaines, les petits n'ont plus été séparés de leurs mères jusqu'à l'âge adulte (environ deux à trois mois). A l'âge adulte, les animaux ont été répartis en 06 lots homogènes de 6 souris chacun. Les différents traitements ont été administrés aux souris en fonction de leur poids corporel de la manière suivante :

**Groupe I:** témoin normal constitué de souris non stressées recevant uniquement de l'eau distillée (10 mL/kg);

**Groupe II:** témoin négatif constitué de souris stressées par la séparation maternelle et recevant quotidiennement par voie orale de l'eau distillée (10 mL/kg);

**Groupes III :** témoin positif constitué de souris stressées par la séparation maternelle et recevant quotidiennement par voie intra-péritonéale le diazépam (2 mg/kg) ;

**Groupe IV-V et VI :** groupes tests constitués de souris stressées par la séparation maternelle et recevant quotidiennement par voie orale l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses de 76, 152 ou 305 mg/ kg respectivement;

Une heure après administration de ces différents traitements, les animaux ont été soumis à des tests comportementaux afin de vérifier leur niveau d'anxiété. Les souris ont été placées les unes après les autres au centre des différents paradigmes stressants à savoir le labyrinthe en croix surélevé et la planche à trous. Elles ont ensuite été laissées au repos pendant au moins une heure dans leur cage initiale en attendant le sacrifice.



**Figure 13 :** Dispositif de la séparation maternelle des petits dans des boxes (Photo prise par ZE Mireille, Mars, 2016).

### **II-2-5-3- Induction de l'anxiété chronique par administration chronique de la nicotine pendant 14 jours**

Les animaux ayant été traités par l'administration répétée de certaines drogues comme la nicotine expriment un comportement d'anxiété chronique par phénomène de sevrage (Griesler *et al.*, 2011 ; Mumtaz *et al.*, 2012).

Durant le traitement chronique de 14 jours, la nicotine (Sigma Aldrich Inc., St Louis, USA) a été administrée à 1,5 mg/kg (*p.o*) en dose quotidienne unique. Les animaux ont été

répartis en 6 lots homogènes de six animaux chacun. Les différents traitements ont été administrés aux souris en fonction de leur poids corporel de la manière suivante :

**Groupe I :** témoin normal constitué de souris qui n'ont pas reçu la nicotine mais de l'eau distillée (10 mL/kg) par voie orale ;

**Groupe II :** témoin négatif constitué de souris qui ont reçu la nicotine (1,5 mg/kg), et 30 minutes après de l'eau distillée (10 mL/kg) par voie orale ;

**Groupe III :** témoin positif constitué de souris qui ont reçu la nicotine (1,5 mg/kg), et 30 minutes après le diazépam (2 mg/kg) par voie intra-péritonéale ;

**Groupes IV-Vet VI :** groupes tests constitués de souris qui ont reçu les différentes doses de l'extrait de plante (76, 152 ou 305 mg/kg) 30 minutes après administration de la nicotine (1,5 mg/kg).

Le quinzième jour, une heure après l'administration du dernier traitement, les souris ont été placées les unes après les autres au centre des différents paradigmes stressants à savoir le labyrinthe en croix surélevé et l'arène ouverte. Les variables classiques et éthologiques ont été observées et enregistrées pendant une période de 5 minutes. Le comportement de la souris a été filmé en continu par une caméra vidéo numérique (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixels). Les animaux ont été laissés au repos puis sacrifiés. Les homogénats du cerveau issus de ce sacrifice ont servi aux dosages des paramètres du stress oxydant.

### **II-3- Etude de la toxicité de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha***

La toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* a été évaluée chez la souris conformément au protocole de l'OCDE concernant les essais de substances chimiques, détaillée dans les lignes directrices numéros 423 et 407 modifiées (OCDE, 2001 ; OCDE, 2008).

#### **II-3-1- Toxicité aiguë**

La toxicité orale aiguë de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a été évaluée chez les souris suivant la ligne directrice n° 423 modifiée de l'OCDE (OCDE, 2001). Les animaux ont été observés individuellement pendant les 30 premières minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Une attention particulière était portée pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de l'extrait de plante.

### II-3-1-1- Répartition et traitement des animaux

Deux lots de 6 souris chacun (3 femelles et 3 mâles) pesant entre 20 et 25 g ont été constitués. Ces lots étaient constitués : d'un lot témoin et d'un lot essai. Les animaux du lot témoin ont reçu par gavage de l'eau distillée (10 mL/kg), tandis que ceux du lot essai ont reçu l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose unique de 5000 mg/kg. Avant l'administration des différentes substances, les souris ont été soumises à un jeûne non hydrique de 3 à 4 heures, puis pendant 1 à 2 heures après gavage (OCDE, 2001). Le comportement des animaux (agressivité, aspect des fèces et locomotion) a été observé pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Une attention particulière a été faite pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de l'extrait. Le taux de mortalité a été noté après 48 heures. La prise pondérale a été effectuée le premier, le septième et le quatorzième jour durant la période d'observation. Le gain pondéral sur 7 jours a été déterminé tous les 7 jours à partir de la formule ci-dessous :

$$GP = \frac{P_n - P_{n-1}}{P_{n-1}} \times 100$$

Au terme de la période d'obs

- P<sub>n</sub> = n<sup>ième</sup> mesure du poids corporel
- P<sub>n-1</sub> (n-1)<sup>ième</sup> mesure de poids corporel
- n est une valeur entière ; 1 ≤ n ≤ 5
- GP=gain pondéral (%)

par décapitation

après anesthésie au diazépam (20 mg/kg) et à la kétamine (50 mg/kg). Ils ont été autopsiés. Les organes tels que le foie, les reins, les poumons, la rate, le cœur, les testicules, les ovaires et le tube digestif ont été prélevés pour une analyse macroscopique.

### II-3-2- Toxicité subchronique

La toxicité subchronique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a été menée chez les souris conformément à la ligne directrice n° 407 modifiée de l'OCDE (OCDE, 2008) pour l'étude de la toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. Le principe de cet essai a consisté à administrer la substance à tester quotidiennement par voie orale, à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux, à raison d'un niveau de dose par groupe, pendant une période de 28 jours. Chaque jour au cours de cette période, les animaux sont examinés soigneusement afin de déceler tout signe de toxicité (signes cliniques).

#### II-3-2-1- Répartition et traitement des animaux

Les souris adultes saines des deux sexes ont été réparties au hasard en 6 groupes de 10 souris chacun (dont 5 femelles et 5 mâles). Les animaux des 4 premiers groupes ont reçu respectivement en dose unique quotidienne, par voie orale de l'eau distillée à la dose de 10

mL/kg (Groupe 1) et l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses de 305 mg/kg (Groupe 2), 610 mg/kg (Groupe 3) et 1220 mg/kg (Groupe 4) pendant 28 jours successifs. Les 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> groupes de 10 animaux chacun (5 souris par sexe) constituaient le groupe satellite traité à l'extrait de plante (1220 mg/kg) pendant 28 jours (Groupe 5), et le témoin satellite traité à l'eau distillée à la dose de 10 mL/kg (Groupe 6). Le poids des animaux en début de l'étude était compris entre 20 et 25 g. A l'issue des 28 jours de traitement, le groupe satellite et son témoin ont été laissés sans traitement pendant 14 jours de plus, afin d'observer une éventuelle réversibilité des effets nocifs liés à la consommation subchronique de l'extrait de plante. Durant la période expérimentale, une attention était portée sur les modifications du comportement, notamment la locomotion. Le poids corporel des animaux a été évalué avant le début de l'expérimentation, et une fois par semaine pendant 28 jours. Le gain pondéral a été déterminé.

A la fin de l'expérimentation, après un jeûne non hydrique de 12 heures, les animaux ont été sacrifiés par décapitation après anesthésie au diazépam (20 mg/kg) et à la kétamine (50 mg/kg). Le sang artéro-veineux de chaque animal a ensuite été recueilli dans des tubes avec anticoagulant (EDTA) et l'autre sans anticoagulant. Quelques organes ont été prélevés pour la détermination du poids relatif des organes suivant la formule :

$$Poids\ relatifs\ (\%) = \frac{\text{poids de l'organe}}{\text{Poids corporel de l'animal}} \times 100$$

### **II-3-3- Evaluation des paramètres hématologiques**

Le sang contenu dans les tubes contenant l'EDTA a été utilisé pour les études hématologiques (numération des globules blancs, hématocrite, numération des érythrocytes et numération des plaquettes). Cet examen hématologique a été réalisé par le laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Central de Yaoundé (Cameroun). L'hématomètre (Hospitex Diagnostic Hema Screen I8) utilisé est un automate qui fonctionne selon le principe dit de variation de l'impédance ou principe de Coulter. Les cellules en passant à travers une ouverture déplacent un volume égal de fluide conducteur. De plus, un courant électrique est appliqué au niveau de cette ouverture. Chaque passage d'une cellule à travers l'ouverture, provoque alors une augmentation de la résistance électrique. Cette augmentation est traduite en impulsions électriques dont la hauteur est directement proportionnelle au volume cellulaire. La détermination de la taille de la cellule est donc basée sur le déplacement du liquide et on obtient par conséquent la mesure du volume cellulaire.

### **II-3-4- Evaluation des paramètres biochimiques**

Le sang recueilli dans les tubes sans anticoagulant a été laissé au repos pendant 1 heure, puis centrifugé à 3000 trs/min pendant 15 minutes. Le sérum obtenu a été prélevé puis conservé à -20° C pour l'analyse de certains paramètres biochimiques des fonctions hépatique et rénale (HDL-cholestérol, cholestérol total, triglycérides, ALAT, ASAT, bilirubine, créatinine, et protéines).

### **II-4- Analyses biochimiques des paramètres neurochimiques sur les modèles d'anxiété chronique**

La détermination des taux plasmatiques de sérotonine et de corticostérone a été faite par la technique ELISA par compétition selon les recommandations du fabricant (IBL INTERNATIONAL, Germany).

#### **II-4-1- Evaluation de la concentration de la sérotonine dans le plasma**

- **Principe**

La procédure de dosage de la sérotonine suit le principe ELISA par compétition, où il y a une réaction de compétition entre la sérotonine biotinylée (issue du kit) et la sérotonine non-biotinylée (échantillon à tester) pour un nombre fixe de sites de fixation des anticorps spécifiques. La sérotonine biotinylée libre est éliminée par une étape de lavage et la sérotonine biotinylée liée à l'anticorps est dosée, en utilisant la phosphatase alcaline anti-biotine comme marqueur et du phosphate p-nitrophényl comme substrat (révélateur). La quantité de sérotonine biotinylée liée aux anticorps est inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte présent dans l'échantillon.

- **Procédure de dosage**

Le dosage de la sérotonine par la technique ELISA a été fait en deux grandes étapes qui incluaient une préparation des échantillons et le dosage proprement dit.

- **Préparation des échantillons**

La préparation des échantillons plasmatiques a été faite par la réaction d'acylation pour obtenir la N-acylsérotonine qui pourra être reconnue par leurs anticorps spécifiques. Pour ce faire, 50 µL de chaque échantillon et 100 µL de tampon pour essai ont été successivement introduits dans des tubes à essai en verre. Le mélange a été homogénéisé au vortex. Par la suite

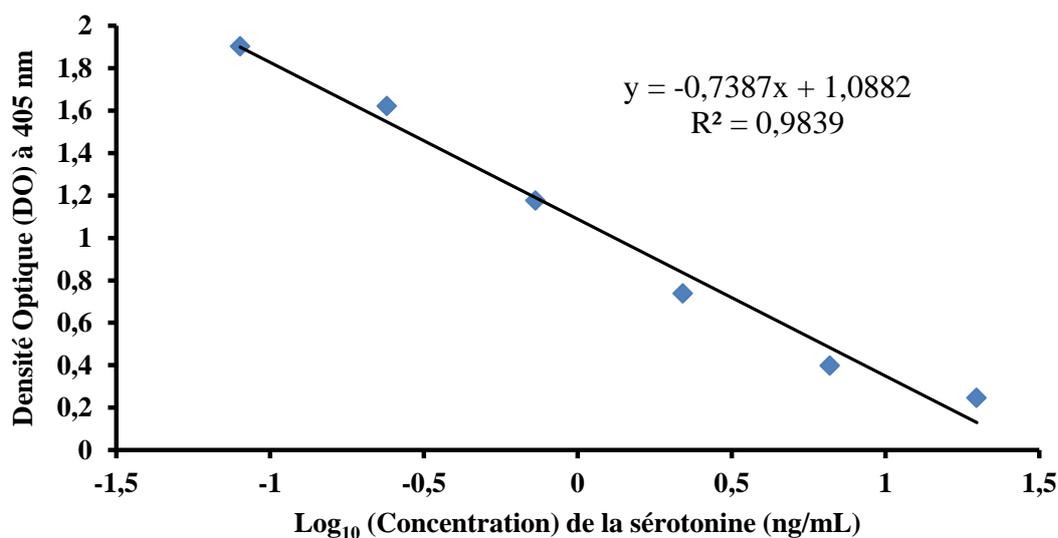
25  $\mu\text{L}$  de réactif d'acylation ont été ajoutés dans chaque tube. Après homogénéisation au vortex, le mélange a été incubé dans un bain-marie à 37°C pendant 15 minutes. Un millilitre de tampon pour essai a été ajouté dans chaque tube qui a été homogénéisé et centrifugé pendant 10 minutes à 1500 x g. Le surnageant obtenu a été utilisé pour le dosage proprement dit.

➤ **Dosage proprement dit**

Lors du dosage proprement dit, 50  $\mu\text{L}$  de chaque standard, du contrôle acylé et des échantillons acylés (surnageants issus de la préparation de plasma) ont été introduits dans les puits respectifs de la microplaque. Par la suite, 50  $\mu\text{L}$  de biotine sérotonine et d'antisérum sérotonine ont été consécutivement ajoutés dans chaque puits. Après légère homogénéisation du milieu réactionnel, la plaque a été couverte avec une feuille adhésive et incubée à 4°C pendant toute la nuit (16 heures). Le lendemain, la plaque a été lavée 3 fois avec la solution de lavage (250  $\mu\text{L}$ /puits). La plaque a été ensuite séchée sur du papier absorbant afin d'égoutter l'excès de solution se trouvant sur la plaque. Le conjugué enzymatique fraîchement préparé a été introduit (150  $\mu\text{L}$ /puits) dans chaque puits, puis la plaque a été couverte avec une feuille adhésive et incubée pendant 1heure à la température ambiante (18-25°C) sur un agitateur orbital (500 trs/min). Après cette incubation, la plaque a été lavée comme précédemment, puis 200  $\mu\text{L}$  de solution substrat de phosphate p-nitrophényl (PNPP) fraîchement préparées ont été introduits dans chaque puits et la plaque incubée à température ambiante (18-25°C) pendant 30 minutes sur l'agitateur orbital (500 trs/min). La réaction enzymatique a été stoppée par ajout de 50 $\mu\text{L}$  de solution d'arrêt PNPP dans chaque puits. La mesure de la densité optique a été faite à l'aide d'un lecteur de plaque « Multiscan FC microplate reader » (Thermo Fisher Scientific, USA) à la longueur d'onde 405 nm. L'établissement de la courbe standard (Figure 14) a permis de déterminer des concentrations plasmatiques des échantillons.

**Tableau I :** Données pour la réalisation de la courbe standard de la sérotonine

<b>Tube</b>	<b>Concentration (ng/mL)</b>	<b>Log<sub>10</sub>Conc. (ng/mL)</b>	<b>OD obtenues</b>
<b>1</b>	0		2,0236
<b>2</b>	0,08	-1,0969	1,9020
<b>3</b>	0,24	-0,6197	1,6205
<b>4</b>	0,73	-0,1366	1,1762
<b>5</b>	2,2	0,3424	0,7387
<b>6</b>	6,6	0,8195	0,3980
<b>7</b>	19,8	1,2966	0,2467



**Figure 14** : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la sérotonine.

#### **II-4-2- Evaluation de la concentration de la corticostérone dans le plasma**

Le kit de dosage immuno-enzymatique de Corticostérone ELISA d'IBL International a été utilisé.

- **Principe**

Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur le principe de compétition. La quantité inconnue d'antigènes présents dans l'échantillon et la quantité fixe d'antigènes conjugués à une enzyme entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps coâtés dans les puits. Après incubation, les puits sont lavés pour arrêter la réaction de compétition. L'intensité de la couleur développée suivant la réaction substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de la courbe étalon.

Les micro-plaques recouvertes avec un anticorps polyclonal sont dirigées contre un antigène spécifique de la molécule de la corticostérone. La corticostérone endogène contenue dans l'échantillon entre en compétition avec le conjugué (corticostérone couplé à l'enzyme HRP) pour la liaison à l'anticorps. Après incubation, le conjugué non lié est éliminé durant le lavage des puits. Suite à l'addition de la solution substrat, l'intensité de coloration obtenue est inversement proportionnelle à la concentration de la corticostérone contenue dans l'échantillon.

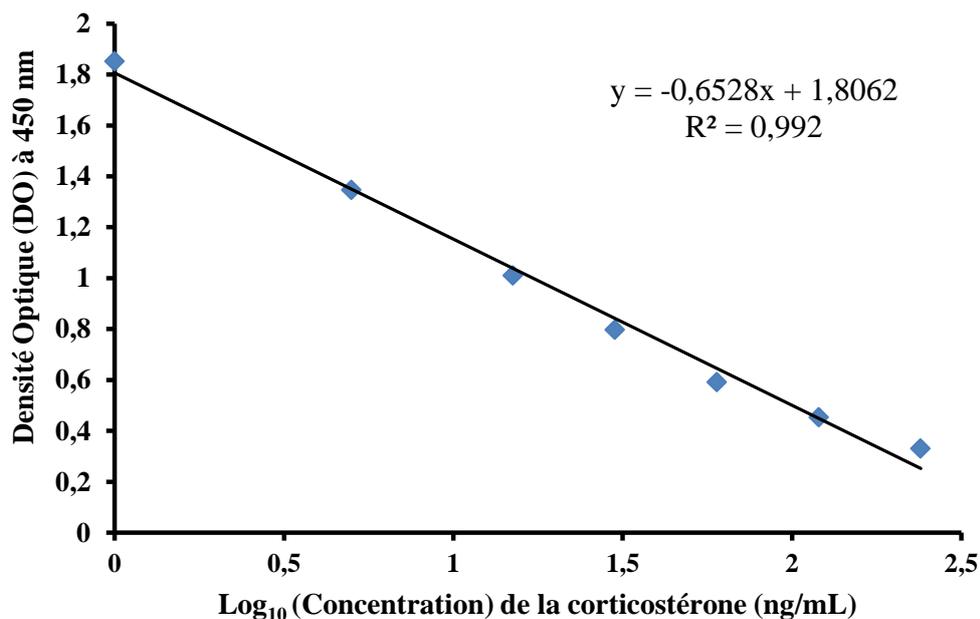
- **Procédure du dosage**

Dans la microplaque sensibilisée, 20 µL de chaque standard, du contrôle et des échantillons tests ont été introduits dans des puits appropriés. L'enzyme conjugué

(corticostérone couplé à l'enzyme HRP) a été ajoutée (200µL/puits) dans chaque puits contenant déjà les échantillons (solution de standard 0-6, de contrôle et d'échantillons tests). Les tubes 0 à 6 contenant la solution standard ont permis par la suite d'établir la courbe d'étalonnage (Tableau II). Le contenu de chaque puits a été mélangé vigoureusement pendant 10 secondes. La plaque a été incubée pendant 1 heure à température ambiante. Après incubation, la plaque a été lavée trois (3) fois avec la solution de lavage (400µL/puits). Les gouttes résiduelles ont été éliminées en frappant doucement la plaque sur du papier absorbant. Par la suite 100 µL de solution de substrat constituée de Tétraméthylbenzidine (TMB) ont été introduits dans chaque puits et la plaque à nouveau incubée à température ambiante pendant 15 minutes. La réaction enzymatique a été stoppée par ajout de 50 µL de solution d'arrêt dans chaque puits. La mesure de l'absorbance a été faite à 450 nm à l'aide du lecteur de plaque « Multiscan FC microplate reader » (ThermoFisher Scientific, USA). Une courbe d'étalonnage a été établie (Figure 15) et a permis de déterminer la concentration plasmatique de corticostérone dans chaque échantillon.

**Tableau II :** Données pour la réalisation de la courbe standard de la corticostérone

<b>Tubes</b>	<b>Concentration (ng/mL)</b>	<b>Log<sub>10</sub> Conc. (ng/mL)</b>	<b>OD obtenues</b>
<b>1</b>	0	0	1,8520
<b>2</b>	5	0,6989	1,3473
<b>3</b>	15	1,1760	1,0110
<b>4</b>	30	1,4771	0,7973
<b>5</b>	60	1,7781	0,5912
<b>6</b>	120	2,0791	0,4536
<b>7</b>	240	2,3802	0,3310



**Figure 15** : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la corticostérone.

## II-5- Evaluation de quelques marqueurs du stress oxydant tissulaire

### II-5-1- Dosage des nitrites

- **Principe**

En présence de l' amino-4-benzène sulfonamide (sulfanilamide) et le dichlorure de N-(naphtyl-1) -diamono-1,2-éthane (N-1-naphtyléthylènediamine) en milieu acide, les nitrites subissent une réaction de diazotation. Le produit obtenu est proportionnel à la quantité de nitrite présent dans l'échantillon (Slack, 1987).

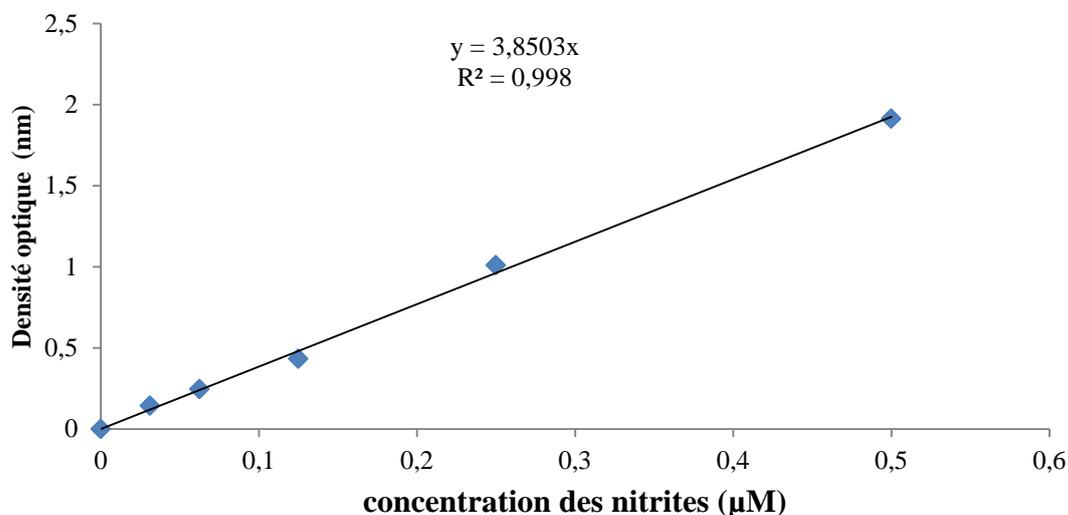
- **Mode opératoire**

Une dissolution sériée au demi de la solution de NaNO<sub>2</sub> a été faite dans 6 tubes à essais pour la réalisation de la courbe d'étalonnage. Les tubes ont été préparés suivant le protocole décrit dans le Tableau III.

**Tableau III : Mode opératoire pour le dosage et l'étalonnage des nitrites**

Tubes	0	1	2	3	4	5	$X_1, \dots, X_n$	
	Blanc	Etalons					Echantillons	
Concentration $\text{NaNO}_2$ ( $\mu\text{M}$ )	0	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	-	
Volume $\text{NaNO}_2$ ( $\mu\text{L}$ )	100	100	100	100	100	100	-	
Echantillon ( $\mu\text{L}$ )	-	-	-	-	-	-	100	
Eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	400	400	400	400	400	400	400	
Solution de sulfamilamide 1 % ( $\mu\text{L}$ )	400	400	400	400	400	400	400	
Les tubes ont été incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 5 minutes								
Solution de NED 0,1% ( $\mu\text{L}$ )	400	400	400	400	400	400	400	
Les tubes ont été incubés à l'abri de la lumière pendant 5 minutes. L'absorbance a été lue contre le blanc (tube 0) à 546 nm dans les 30 minutes suivant la dernière incubation.								
Absorbances obtenues	0	0,14	0,24	0,43	1,00	1,91	-	-

La concentration des nitrites a été déterminée à partir de l'équation de droite  $y = 3,850x$ ,  $y$  correspondant à l'absorbance de l'échantillon et  $x$  la concentration des nitrites dans l'échantillon (Figure 16).

**Figure 16** : Courbe d'étalonnage pour le dosage des nitrites.

## II-5-2- Dosage de la catalase

- **Principe**

Le peroxyde d'hydrogène est rompu en présence de la catalase. Le résidu se lie au dichromate de potassium pour former un précipité bleu vert d'acide perchlorique instable qui va être décomposé par la chaleur et former un complexe vert (Sinha, 1972).

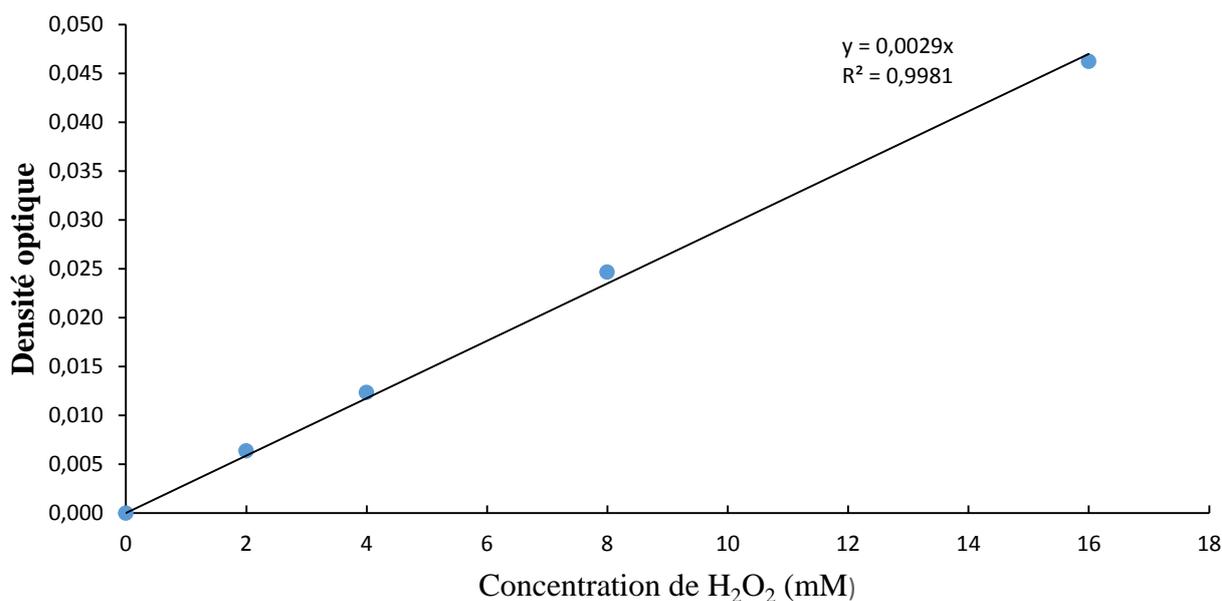
- **Mode opératoire**
- **Réalisation de la courbe d'étalonnage**

Le protocole utilisé pour la réalisation de la courbe d'étalonnage est décrit dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Protocole de réalisation de la courbe d'étalonnage de la catalase

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 mM) (μL)</b>	0	20	40	80	160
<b>Dichromate de potassium/acide acétique glacial (μL)</b>	2000	2000	2000	2000	2000
Après formation du précipité bleu, les tubes ont été chauffés à 100°C pendant 10 minutes (apparition de la couleur verte) et refroidis à température ambiante.					
<b>Eau distillée (μL)</b>	1000	980	960	920	840
<b>Concentration de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mM)</b>	0	2	4	8	16
<b>Absorbances obtenues</b>	0,00	0,006	0,01	0,02	0,05

Ces densités optiques ont permis de réaliser la courbe d'étalonnage ci-après (Figure 17).



**Figure 17** : Courbe d'étalonnage pour le dosage de la catalase.

Pour le dosage de la catalase tissulaire, il a été introduit dans chaque tube à essai 50 μL de l'homogénat et 750 μL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,5). Dans le tube témoin, l'homogénat a été remplacé par l'eau distillée (50μL). Le chronomètre a été déclenché après ajout de 200 μL de peroxyde d'hydrogène (50 mM). Après une minute, la réaction a été arrêtée par ajout de 2 mL de solution de dichromate/acide acétique. L'ensemble a été ensuite chauffé à 100°C pendant

10 minutes. Après refroidissement, la densité optique a été lue au spectrophotomètre (HACH DR 3900 à 570 nm).

L'activité spécifique de la catalase a été déterminée à partir de la formule suivante :

$$\text{Act CAT} = \frac{\Delta\text{DO}}{a \times t \times m}$$

**Act CAT** = Activité de la catalase (mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai - DO blanc ; **a** = Pente de la courbe d'étalonnage (0,0029) ; **t** = durée de la réaction (1 minute) ; **m** = Masse de l'organe (g).

### II-5-3-Dosage de la malondialdéhyde

- **Principe**

La présence de malondialdéhyde (MDA) dans un échantillon se traduit par la formation en milieu acide et chaud (100°C) d'aldéhyde malonique qui, formé au cours de la peroxydation lipidique réagit avec l'acide thiobarbiturique, pour former un complexe rose. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 530 nm contre un tube blanc. Le dosage de malondialdéhyde a été réalisé suivant le protocole décrit par Wilbur *et al.*, 1949).

- **Mode opératoire**

Dans des tubes contenant 250 μL d'homogénat (tubes échantillons) ou 250 μL de tampon Tris HCl 50 mM ; pH = 7,4 (tube blanc) ont été introduits, 125 μL d'acide trichloroacétique (TCA) 20 % et 250 μL d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %. Les tubes ont été bouchés à l'aide de billes de verre, chauffés à 90°C au bain-marie pendant 10 minutes, puis refroidis à l'eau de robinet. Ils ont été centrifugés à 3000 tours/min à température ambiante pendant 15 minutes. Le surnageant a été pipeté et l'absorbance lue au spectrophotomètre de marque HACH DR 3900 à 530 nm contre le blanc. La concentration en MDA a été déterminée par la formule ci-dessous :

$$[\text{MDA}] = \frac{\Delta\text{DO}}{\varepsilon \times L \times m}$$

**[MDA]** = Concentration de MDA (mol/g d'organes) ; **ΔDO** = DO essai - DO blanc ; **L** = Trajet optique (1 cm) ; **ε** = Coefficient d'extinction molaire (15600 mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>) ; **m** : masse de l'organe (g).

#### II-5-4- Dosage du glutathion réduit

- **Principe**

Le dosage du glutathion réduit a été réalisé suivant le protocole d'Ellman (1959). L'acide 2,2-dithio-5,5'-dinitrobenzoïque (DTNB) réagit avec les groupements thiols (-SH) du glutathion présent dans l'homogénéat pour donner un complexe de couleur jaune.

- **Mode opératoire**

Un volume de 1500 µL du réactif d'Ellman a été introduit dans des tubes contenant préalablement 100 µL d'homogénéat (tube test) ou 100 µL de tampon Tris-HCl (tube témoin). Les tubes ont été incubés pendant 1 heure à température ambiante. L'absorbance a été lue au spectrophotomètre à 412 nm contre le blanc réactif. La concentration de glutathion réduit (GSH) a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = \frac{\Delta \text{DO}}{\varepsilon \times \text{L} \times \text{m}}$$

[GSH] = Concentration de GSH (mol/g d'organes);  $\Delta \text{DO}$  = DO essai - DO blanc; **L** = longueur de la cuve (1 cm) ;  $\varepsilon$  = Coefficient d'extinction molaire (13600 mol<sup>-1</sup>. cm<sup>-1</sup>); **m** = Masse de l'organe (g).

#### II-5-5- Dosage de la superoxyde dismutase

- **Principe**

La présence de la superoxyde dismutase (SOD) dans l'échantillon inhibe l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome. L'augmentation de l'absorbance qui est proportionnelle à l'activité de la SOD est notée entre 20 et 80 secondes à 480 nm (Misra et Fridovich, 1972).

- **Mode opératoire**

Dans un tube, ont été introduits 134 µL d'homogénéat d'organe pour l'essai. 1666 µL de tampon carbonate (0,05 M, pH 10,2) ont été introduits dans le tube témoin. Après avoir calibré le spectrophotomètre, la réaction a été déclenchée en ajoutant 200 µL d'adrénaline (0,3 mM) dans chaque tube. Le mélange a été homogénéisé par inversion rapide de la cuve. La densité optique lue à 480 nm est notée après 20 et 80 secondes. L'activité spécifique de la SOD est définie en unités de SOD/mg de tissu. Une unité de l'activité de la SOD est définie comme la quantité de SOD nécessaire pour causer une inhibition de 50 % de l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome pendant une minute.

- **Détermination de l'activité de la SOD**

-La variation de la DO :  $\Delta DO$  (min) = DO 20s – DO 80s

-% inhibition =  $100 - (\Delta DO_{\text{essai}} \times 100 / \Delta DO_{\text{blanc}}) = n$  unités de SOD

L'activité spécifique de la SOD (unité de SOD / mg de tissu) = (nombre d'unités SOD / mL / g de tissu)

$A_{20s}$  = Absorbance mesurée à 20 secondes ;  $A_{80s}$  = Absorbance mesurée à 80 secondes ;

$\Delta A_{\text{essai}}$  = Variation de l'absorbance de l'échantillon ;  $\Delta A_{\text{blanc}}$  = Variation de l'absorbance du blanc;

$f$  = facteur de dilution; 50 % d'inhibition équivaut à une unité de SOD.

## II-5-6- Dosage des protéines totales tissulaires

La méthode décrite par Gornall *et al.* (1949) a été utilisée pour le dosage des protéines.

- **Principe**

Dans un milieu basique, le tartrate de sodium et de potassium forme avec les ions cuivriques un complexe soluble. L'addition d'une protéine déplace le cuivre complexé avec le tartrate pour former un autre complexe cuivro-protéique de couleur violette. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des protéines présente dans la solution à doser.

- **Mode opératoire**

Les différents réactifs ont été additionnés comme indiqué dans le tableau V. Les tubes ont été agités et incubés à 25°C pendant 30 minutes, puis la densité optique a été lue au spectrophotomètre à 540 nm contre le blanc.

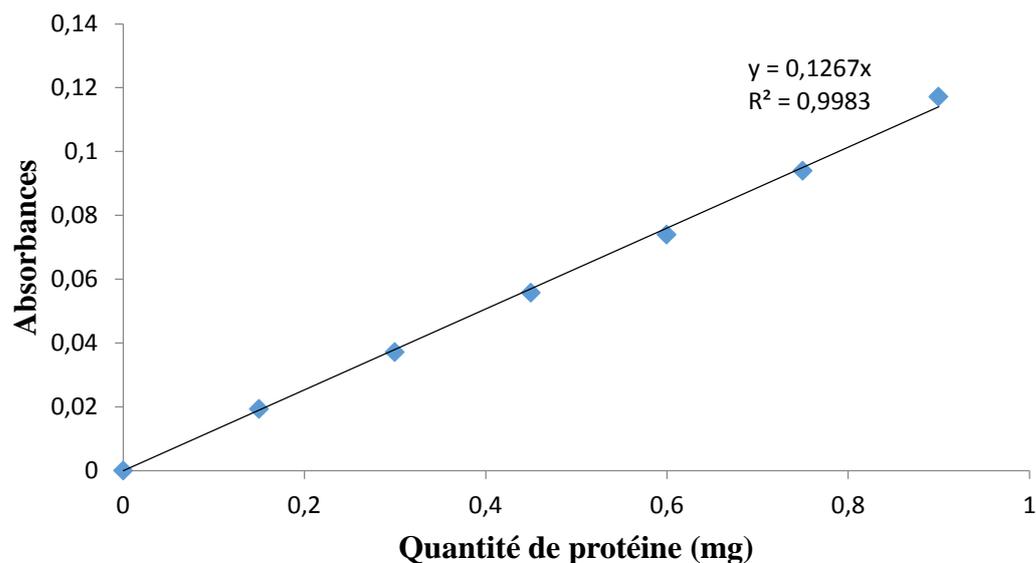
**Tableau V** : Protocole de dosage des protéines totales

Tubes	Blanc			Etalons				Echantillons	
	0	1	2	3	4	5	6	$X_1$ ...	$X_n$
SAB ( $\mu\text{L}$ )	0	50	100	150	200	250	300	-	-
Eau distillée ( $\mu\text{L}$ )	600	550	500	450	400	350	300	590	590
Réactif de Biuret ( $\mu\text{L}$ )	400	400	400	400	400	400	400	400	400
Echantillons ( $\mu\text{L}$ )	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Quantité de protéines (mg)	0	0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	-	-
Absorbances obtenues	0	0,01	0,03	0,055	0,07	0,09	0,11	-	-

Le contenu de chaque tube a été homogénéisé et incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance a été lue contre le blanc à 540 nm.

Tubes 0-6 : Tubes étalons, Tubes  $X_1$ - $X_n$  : Tubes tests.

La quantité de protéines dans l'échantillon a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 18).



**Figure 18 :** Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

## II-6- Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés sous la forme de moyenne  $\pm$  E.S.M. (Erreur Standard sur la Moyenne). Les analyses statistiques ont été faites à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 6.1 (GraphPad Software, San Diego, California, USA). La comparaison des moyennes entre les contrôles et les lots essais a été déterminée à l'aide du test ANOVA (Analyse des Variances) suivi du post-test de Dunnett (comparaison des variances par rapport à un contrôle bien défini) et ou de Tukey (comparaison des variances inter-groupes). Les probabilités inférieures à 0,05 ( $p < 0,05$ ) ont été considérées comme étant significatives.



# **CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION**

### III-1- RESULTATS

#### III-1-1- Composition phytochimique qualitative de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha*

Les principaux composés bioactifs identifiés dans l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sont représentés dans le tableau VI ci-dessous. L'analyse phytochimique qualitative de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* a révélé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins (catéchotanins), des stérols, des triterpènes, des saponines, des composés phénoliques, des anthraquinones et des anthocyanes.

**Tableau VI :** Caractérisation phytochimique qualitative des écorces de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*

Familles chimiques	Teneur de l'extrait plante
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Tanins (catéchotanins)	+
Stérols	+
Triterpènes	+
Saponines	+
Composés Phénoliques	+
Anthraquinones	+
Anthocyanes	+

+ Présents

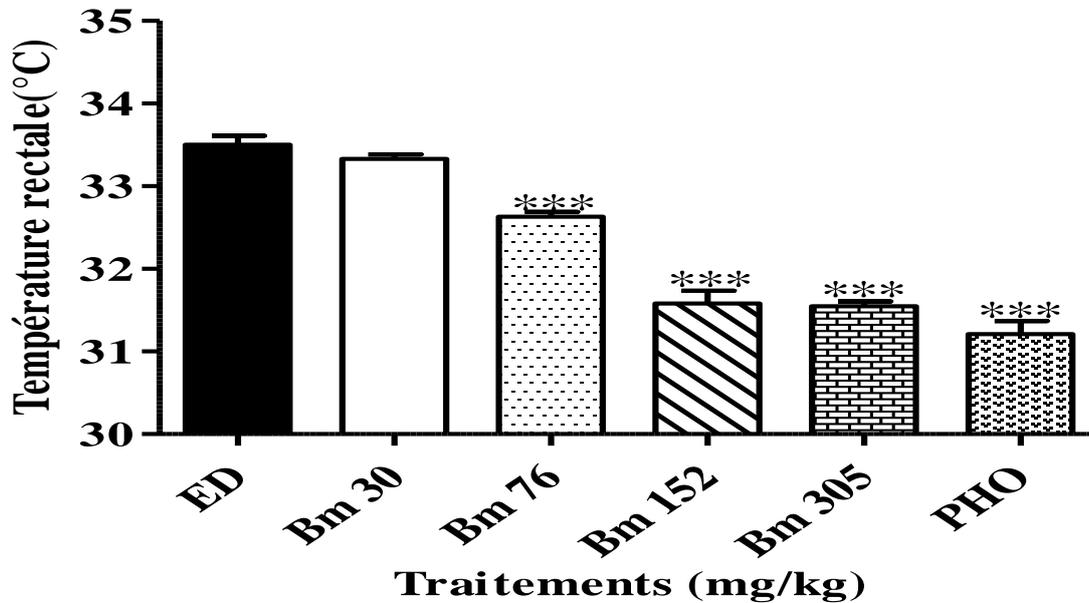
#### III-1-2- Propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* dans l'anxiété transitoire

##### III-1-2-1- Test de l'hyperthermie induite par le stress

##### III-1-2-1-1- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la température rectale

La figure 19 montre une réduction significative et dose-dépendante de la température rectale moyenne des souris traitées par les différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* par rapport au lot témoin. La température rectale moyenne des souris est passée de

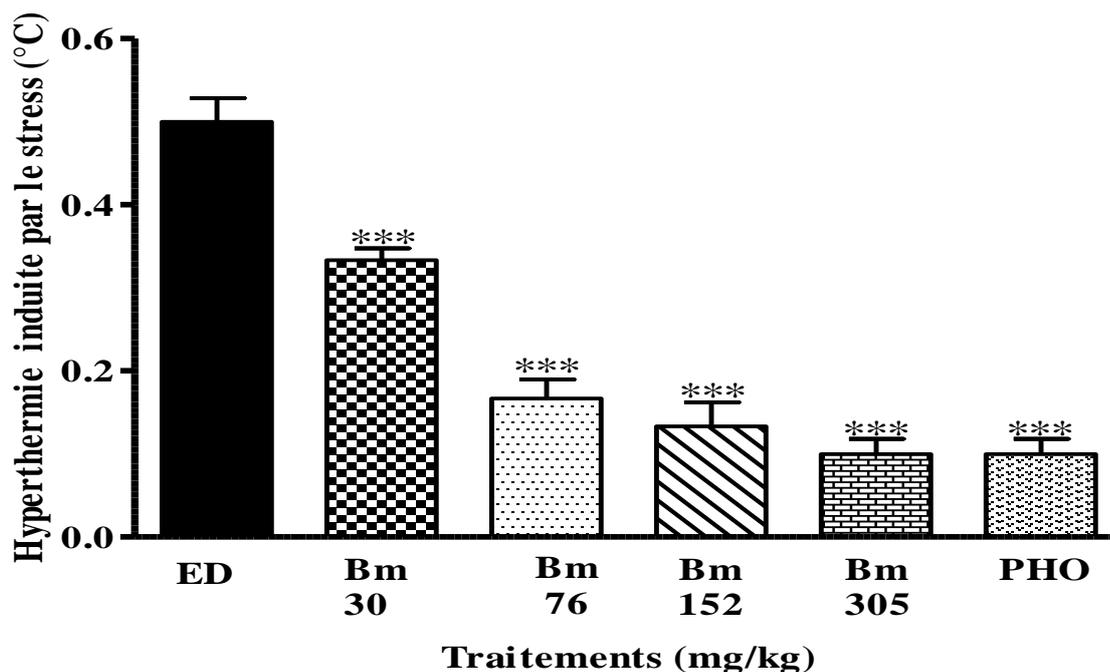
33,50 ± 0,11°C chez les souris du lot témoin à 32,63 ± 0,06 °C ; 31,58 ± 0,16 °C et 31,55 ± 0,05 °C chez celles traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. La température rectale moyenne était de 31,21 ± 0,16 °C chez les souris ayant reçu le phénobarbital à la dose de 20 mg/kg, soit une diminution de 6,83 % par rapport aux souris témoins.



**Figure 19 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la température rectale.**  
 Chaque barre représente la moyenne ± ESM, n = 10, \*\*\*p<0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin traité à l'eau distillée, PHO: témoin positif traité au Phénobarbital (20 mg/kg). Bm 30 ; Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305: groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 30, 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-1- 2- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'hyperthermie induite par le stress

La figure 20 montre une diminution significative et dose-dépendante de l'hyperthermie induite par le stress qui a varié de 0,5 °C chez les souris du lot témoin à 0,33 °C ; 0,16 °C, 0,13 °C et 0,10 °C chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 30, 76, 152 et 305 mg/kg. L'hyperthermie induite par le stress était de 0,10 °C chez les souris traitées au phénobarbital (20 mg/kg). La dose 305 mg/kg et le phénobarbital ont induit chacun une réduction de 80 % de l'hyperthermie induite par le stress par rapport au lot témoin.

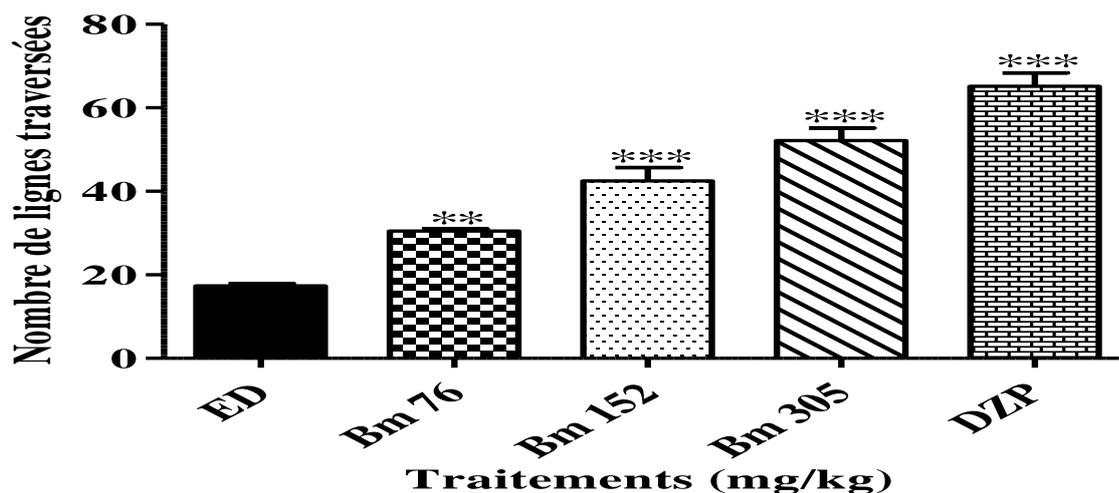


**Figure 20 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'hyperthermie induite par le stress.** Chaque barre représente le HIS, n = 10. \*\*\* p < 0,001 différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin traité à l'eau distillée. PHO : témoin positif traité au Phénobarbital (20 mg/kg). Bm 30 ; Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 30, 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-2- Test de l'arène ouverte

#### III-1-2-2-1- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de lignes traversées ou "crossing"

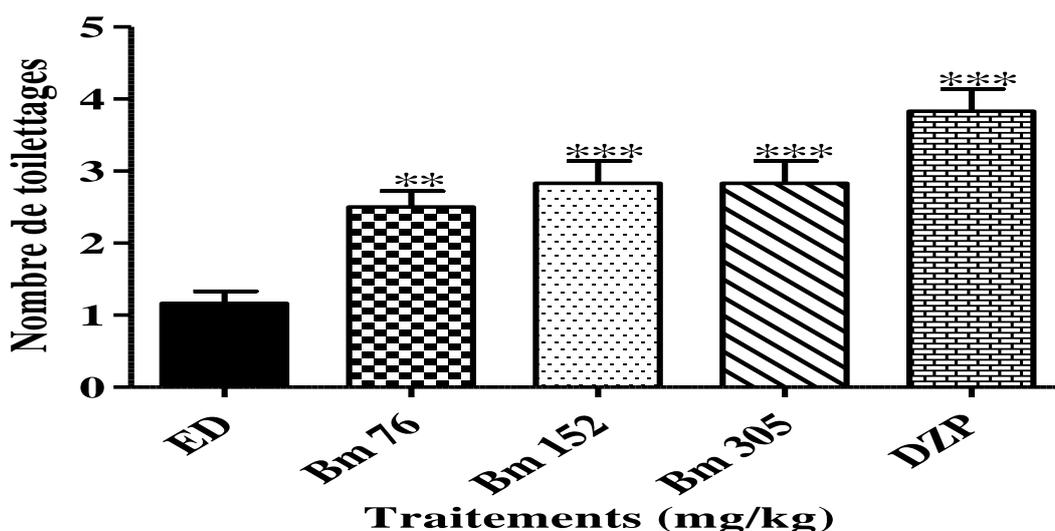
L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a induit une augmentation significative du nombre de lignes traversées ou « crossing » chez les souris par rapport au lot témoin (Figure 21). Le nombre de lignes traversées est passé de  $17,33 \pm 0,55$  chez les souris du lot témoin à  $30,50 \pm 0,56$  ;  $42,50 \pm 3,18$ , et  $52,17 \pm 2,90$  chez celles traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre de lignes traversées a significativement augmenté de 276,05 % ( $65,17 \pm 3,20$ ) chez les souris traitées au diazépam à la dose de 0,3 mg/kg par rapport aux souris du lot témoin.



**Figure 21 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de lignes traversées dans l'arène ouverte.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (0,3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305: groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel

### III-1-2-2-2- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettes ou de "grooming"

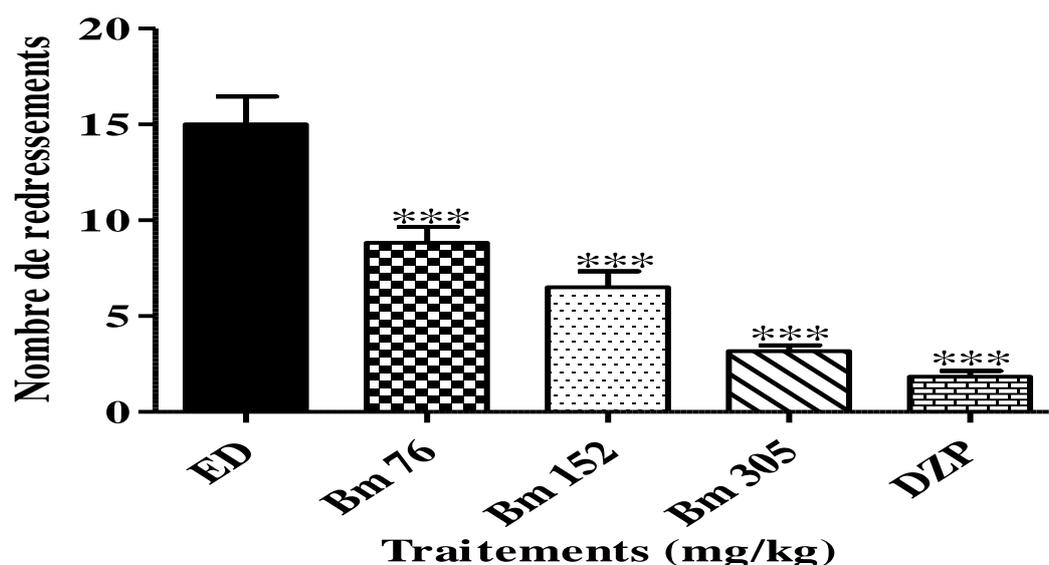
L'évaluation des effets de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettes a montré que chez les souris du lot témoin, la fréquence de toilette est passée de  $1,16 \pm 0,16$  à  $2,55 \pm 0,22$  ;  $2,83 \pm 0,30$  et  $2,83 \pm 0,30$  chez les souris traitées aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, soit respectivement une augmentation de 114,22 % et 142,76 %. Le diazépam utilisé dans les mêmes conditions expérimentales que l'extrait de *Bridelia micrantha* a induit une augmentation significative du nombre de toilettes de 228,44 % ( $3,83 \pm 0,30$ ) par rapport aux animaux témoins.



**Figure 22 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettages dans l'arène ouverte.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au diazépam (0,3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-2-3- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements ou « rearing »

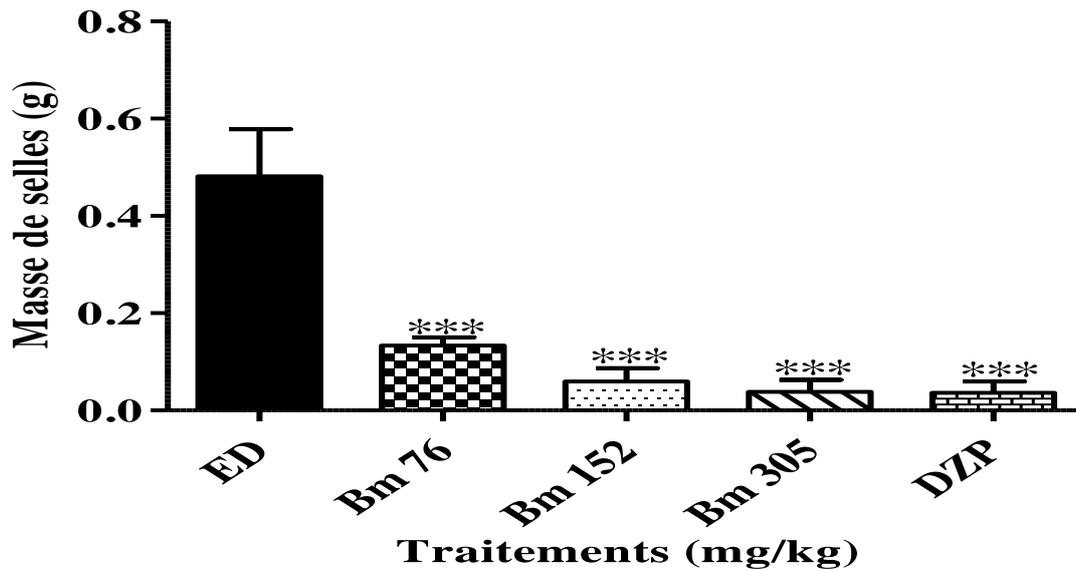
La figure 23 montre que le nombre de rearing a diminué de manière significative. Le nombre de redressements de  $15,00 \pm 1,46$  chez les souris du lot témoin est passé à  $8,83 \pm 0,83$  ;  $6,50 \pm 0,85$  et  $3,16 \pm 0,31$  chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le nombre de redressements était de  $1,83 \pm 0,31$  chez les souris traitées au diazépam à la dose de 0,3 mg/kg. La dose de 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et le diazépam ont induit une réduction du nombre de redressements respectivement de 78,88 % à 87,78 % par rapport au lot témoin.



**Figure 23: Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements dans l'arène ouverte.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP: témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (0,3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305: groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

#### III-1-2-2-4- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la masse de selles produites

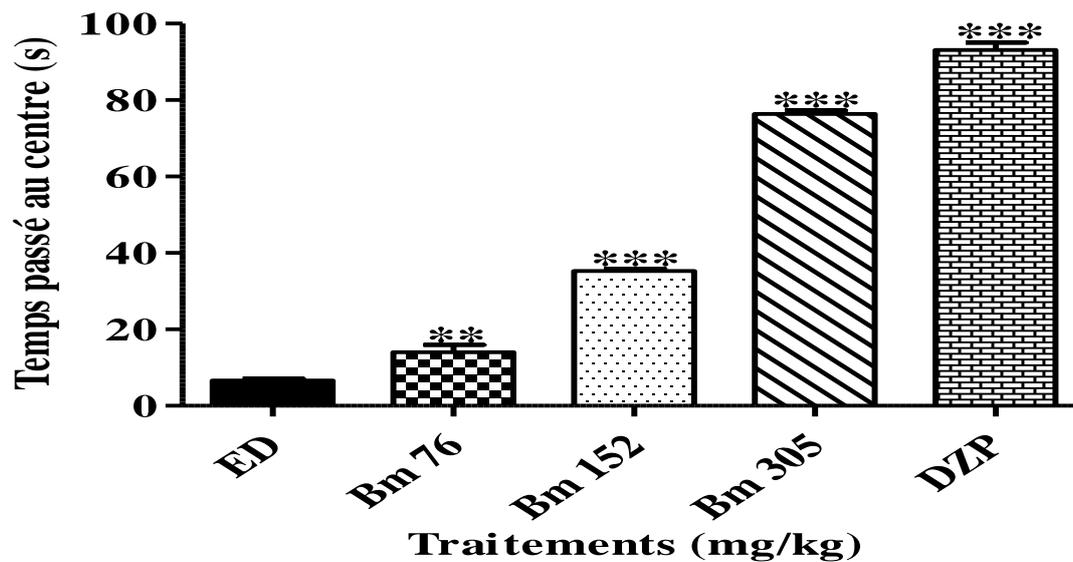
La figure 24 montre que la masse de selles produites par les souris du lot témoin de  $0,48 \pm 0,09$  g a diminué en fonction de la dose de l'extrait et était de  $0,13 \pm 0,02$  g ;  $0,06 \pm 0,03$  g et  $0,04 \pm 0,02$  g chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam à la dose (0,3 mg/kg) a entraîné une diminution significative de la masse de selles de 92,39 % ( $0,03 \pm 0,02$ ). La réduction de la masse de selles était respectivement de 72,33 % ; 87,54 % et de 92,04 % chez les souris traitées aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* par rapport au lot témoin.



**Figure 24 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la masse de selles produites dans l'arène ouverte.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (0,3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305: groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-2-5- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé au centre

La figure 25 montre une augmentation significative ( $P < 0,001$ ) et dose-dépendante du temps mis au centre de l'arène ouverte. Le temps mis au centre de l'arène ouverte de  $6,67 \pm 0,42$  s chez les souris du lot témoin est passé à  $14,00 \pm 1,95$  s ;  $35,33 \pm 0,56$  s et  $76,33 \pm 0,95$  s chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le traitement des souris au diazépam à la dose (0,3mg/kg) a également augmenté significativement ce temps ( $93,17 \pm 1,85$  s) en comparaison avec le lot témoin.



**Figure 25 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé au centre de l'arène ouverte.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (0,3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

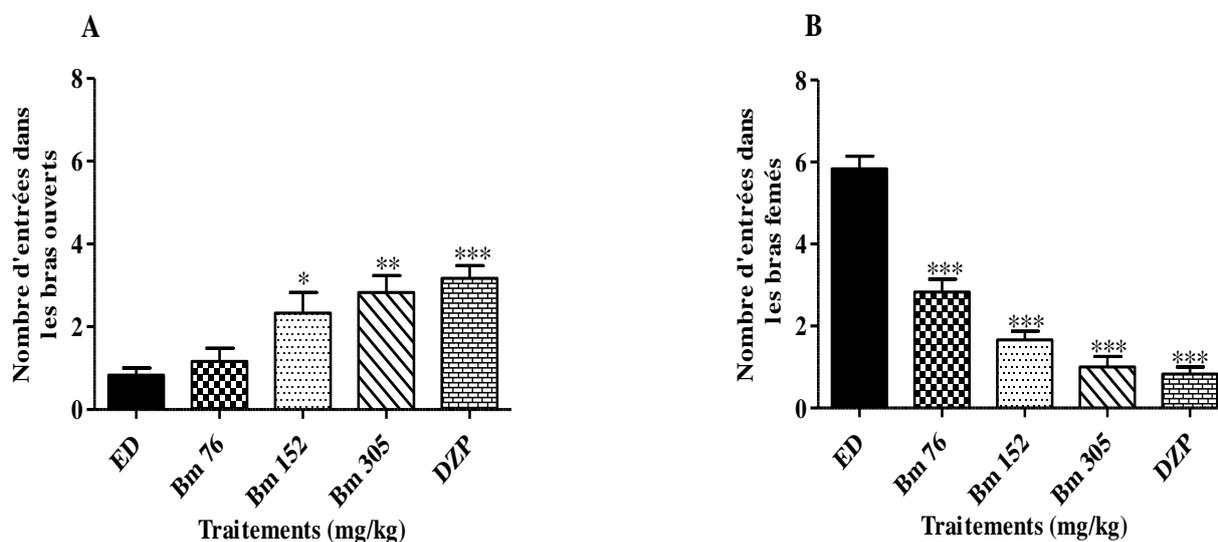
### III-1-2-3- Test du labyrinthe en croix surélevé

#### III-1-2-3-1- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La figure 26A montre que le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé est de  $0,83 \pm 0,17$  chez les souris du lot témoin. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a induit une augmentation significative de ce nombre de 179,97 % ( $2,33 \pm 0,31$ ) et de 239,97 % ( $2,83 \pm 0,40$ ) chez les souris traitées aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (3mg/kg) utilisé dans les mêmes conditions expérimentales que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 280,05 % ( $3,17 \pm 0,31$ ) par rapport au lot témoin.

La figure 26B montre une réduction significative et dose-dépendante du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $5,83 \pm 0,31$  chez les souris du lot témoin est passé à  $2,83 \pm 0,31$  ;  $1,66 \pm 0,21$  et  $1,00 \pm 0,26$  chez celles traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix

surélevé chez les animaux traités au diazépam (3mg/kg) était de  $0,83 \pm 0,16$ , soit une diminution de 85,71 % par rapport aux animaux témoins.

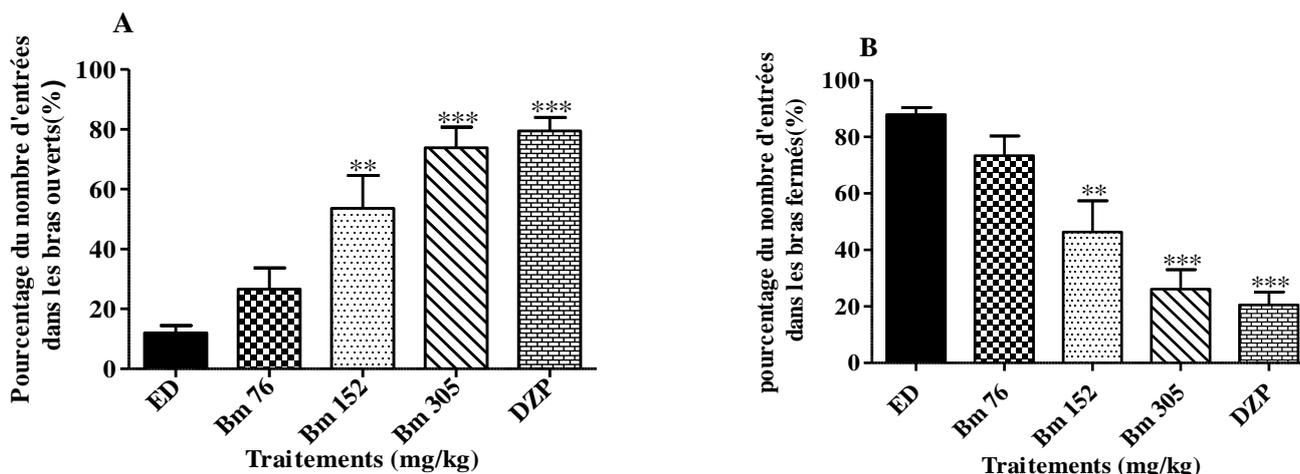


**Figure 26 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-3-2- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La figure 27A relève que le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé était de 12,00 % chez les souris du lot témoin. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts est de 53,61 % et 73,89 % chez les souris ayant reçu les doses respectives de 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe chez les animaux traités au diazépam (3mg/kg) était de 79,44 % par rapport au lot témoin.

La figure 27B montre que le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés était de 88 % chez les souris du lot témoin. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés a diminué significativement et est de 46,39 % et 26,11 % chez les souris ayant reçu les doses respectives de 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (3mg/kg) a également diminué le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé (20,56 %).

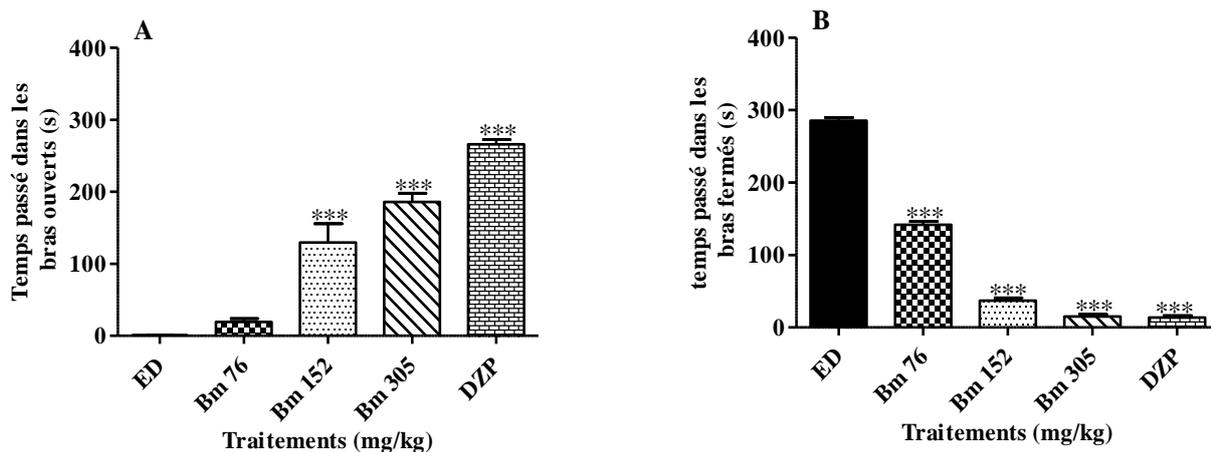


**Figure 27 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia miranthena* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente le pourcentage moyen  $\pm$  ESM, n=6. \*\*p< 0,01, \*\*\*p< 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-3-3- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micranthena* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La figure 28A montre une augmentation significative du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé chez les souris traitées aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micranthena* par rapport à celles traitées à l'eau distillée. Le temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de  $1,17 \pm 0,31$ s chez les souris du lot témoin est passé à  $19,67 \pm 4,41$ s et  $129,80 \pm 26,00$  s aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micranthena* de 152 et 305 mg/kg. Le temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé était de  $266,00 \pm 6,24$  s chez les souris traitées au diazépam.

Le traitement des souris à l'extrait aqueux de *Bridelia micranthena* a induit une réduction significative du temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé par rapport au lot témoin. Le temps passé dans les bras fermés de  $285,70 \pm 4,05$  s chez les souris traitées à l'eau distillée est passé à  $141,80 \pm 4,61$  s ;  $37,17 \pm 3,76$  s et  $15,00 \pm 3,18$  s chez celles traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micranthena* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le temps mis dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé était de  $13,67 \pm 2,79$  s chez les souris traitées au diazépam, soit une diminution significative de 95,21 % par rapport au témoin (Figure 28B).

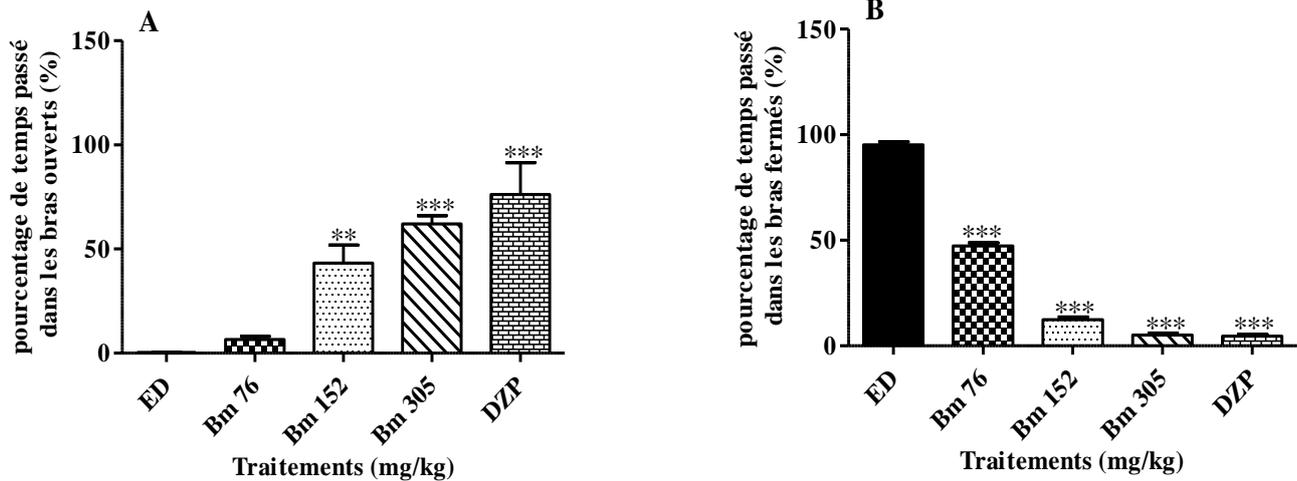


**Figure 28 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente le temps moyen  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel

### III-1-2-3-4- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 0,39 % chez les souris du lot témoin est passé à 43,28 % et 62,00 % chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 mg/kg et 305 mg/kg (Figure 29A). Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé était de 76,14 % chez les souris traitées au diazépam (3mg/kg).

Il a été observé une diminution significative et dose-dépendante du pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris traitées aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* par rapport à celles du lot témoin (Figure 29B). Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés de 95,22 % chez les souris du lot témoin est passé à 47,28 % ; 12,39 % et 5,00 % chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé était de 4,55 % chez les souris traitées au diazépam (3mg/kg).

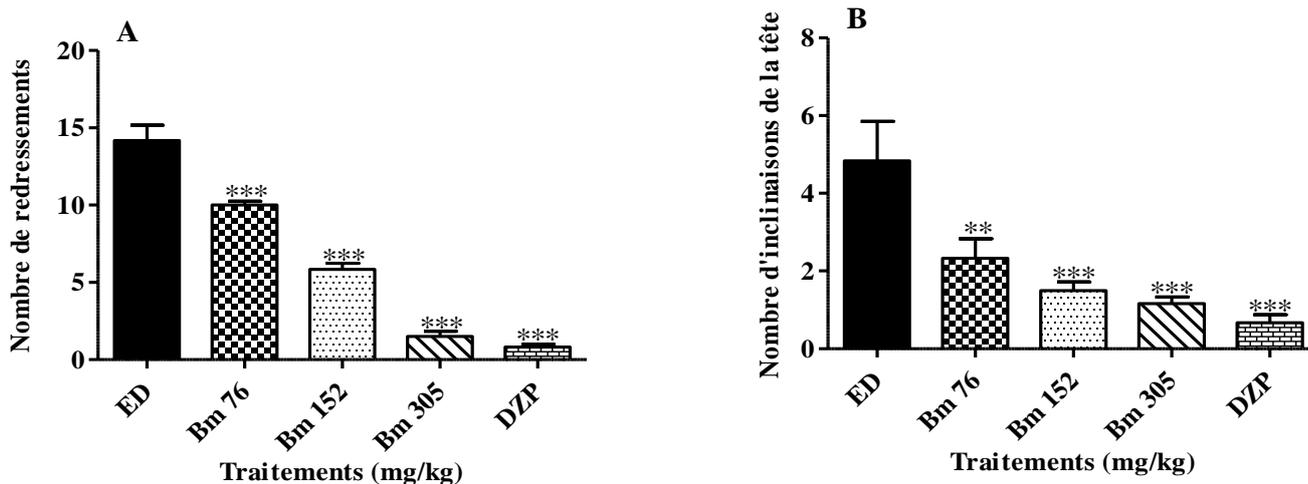


**Figure 29 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente le pourcentage moyen  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel

### III-1-2-3-5- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La figure 30A montre une diminution significative du nombre de redressements chez les souris traitées aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* par rapport aux animaux traités à l'eau distillée. Le nombre de redressements de  $14,17 \pm 1,01$  chez les souris du lot témoin est passé à  $10,00 \pm 0,26$  ;  $5,83 \pm 0,40$  et  $1,50 \pm 0,34$  chez les animaux ayant reçu respectivement l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre de redressements était de  $0,83 \pm 0,17$  chez les souris traitées au diazépam (3 mg/kg).

La figure 30B montre une diminution significative du nombre d'inclinaisons de la tête chez les souris traitées aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* par rapport à celles du lot témoin. Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $4,83 \pm 1,01$  chez les souris du lot témoin est passé à  $2,33 \pm 0,49$  ;  $1,50 \pm 0,22$  et  $1,16 \pm 0,17$  chez les animaux traités respectivement aux doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre d'inclinaisons de la tête était de  $0,67 \pm 0,21$  chez les souris traitées au diazépam (3mg/kg).

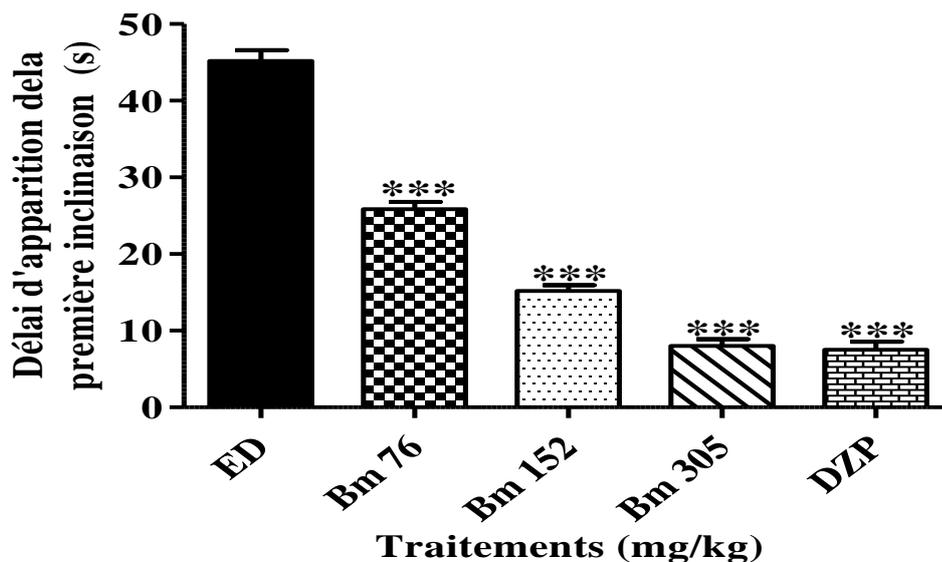


**Figure 30 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (Bm) sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée. DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III-1-2-4- Test de la planche à trous

#### III-1-2-4-1- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête

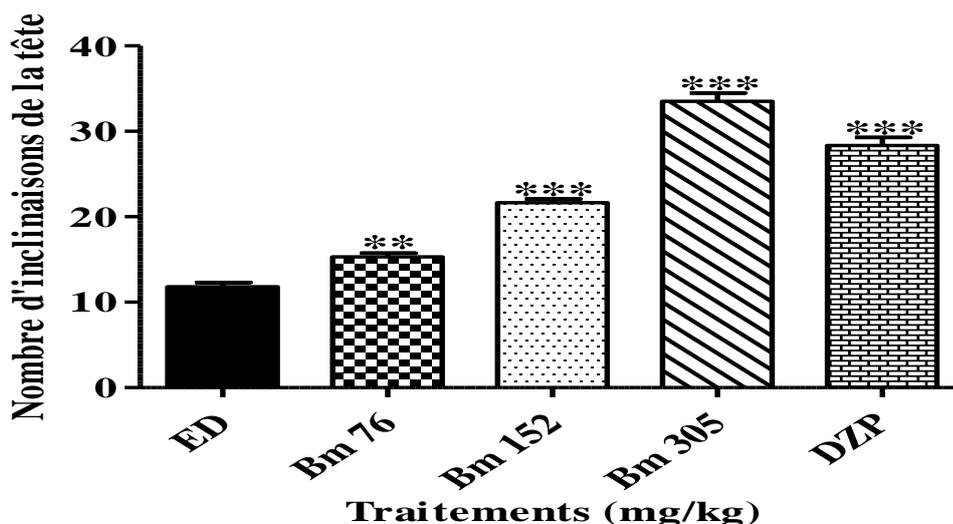
La figure 31 montre une réduction significative et dose-dépendante du temps d'apparition de la première inclinaison de la tête chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête de  $45,17 \pm 1,45$  s chez les souris du lot témoin est passé à  $25,83 \pm 0,40$  s ;  $15,17 \pm 0,31$  s et  $8,00 \pm 0,36$  s chez celles traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (0,5 mg/kg) a induit une diminution significative du temps d'apparition de la première inclinaison de la tête de 83,40 % ( $7,50 \pm 0,43$  s) par rapport aux souris témoins.



**Figure 31 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (Bm) sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête dans la planche à trous.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée. DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traitées à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76 mg/kg, 152 mg/kg et 305 mg/kg de poids corporel.

#### III-1-2-4-2 Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'inclinaisons de la tête

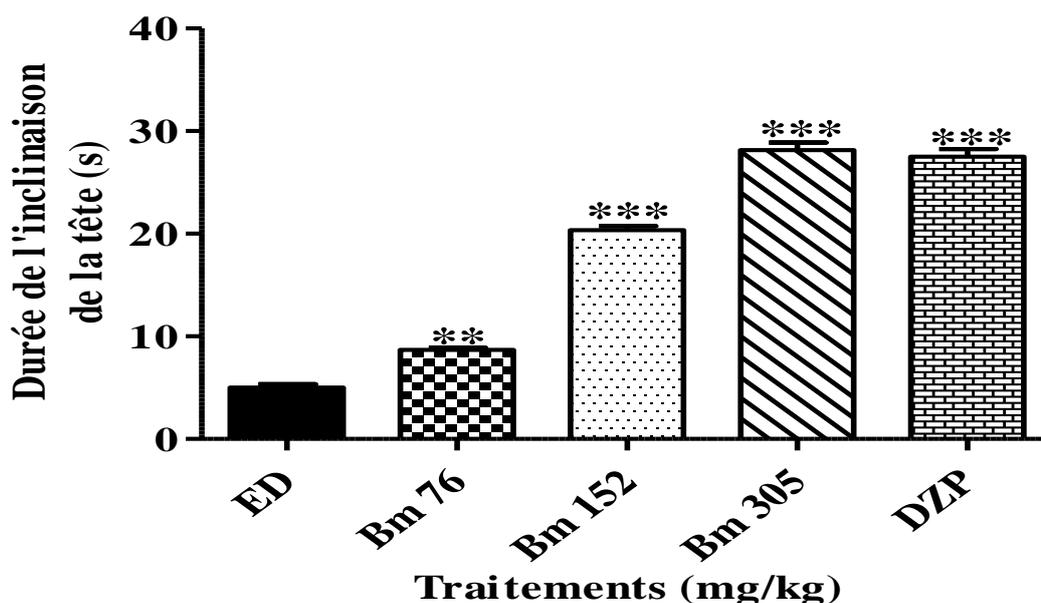
Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $11,83 \pm 0,47$  chez les souris du lot témoin est passé à  $15,33 \pm 0,42$  ;  $21,67 \pm 0,42$  et  $33,50 \pm 0,99$  chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, soit une augmentation significative et dose-dépendante du nombre d'inclinaisons de la tête respectivement de 29,58 % ; 83,18 % et 183,18 % par rapport au témoin. Il a été également observé une augmentation du nombre d'inclinaisons de la tête de 139,47 % ( $28,33 \pm 2,34$ ) chez les souris traitées au diazépam à la dose de 0,5 mg/kg par rapport au lot témoin.



**Figure 32 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (Bm) sur nombre d'inclinaisons de la tête dans la planche à trous.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*P < 0,01 ; \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée. DZP: témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

### III1-1-2-4-3- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée d'inclinaison de la tête

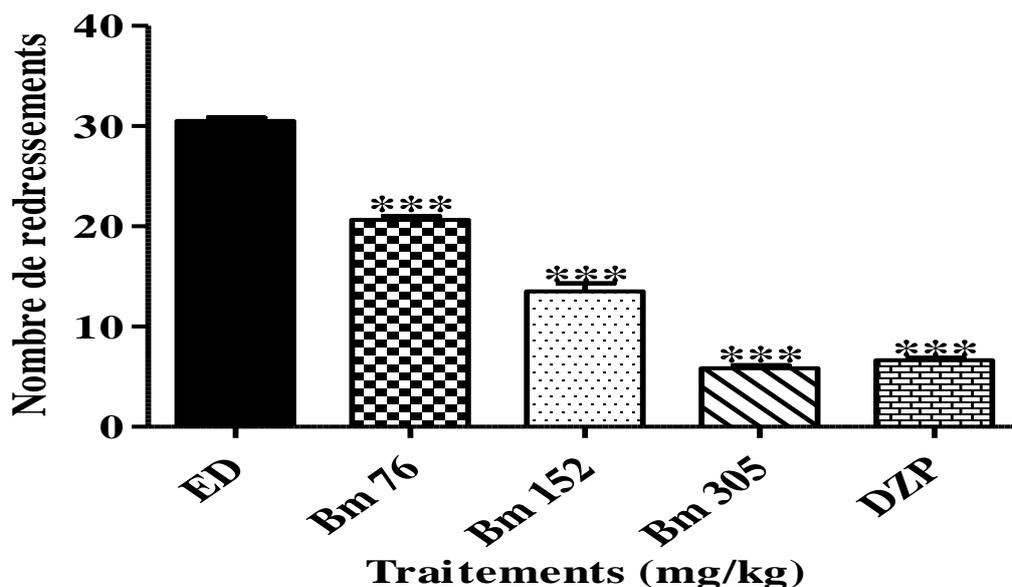
La durée d'inclinaison de la tête de  $5,00 \pm 0,36$  s chez les souris du lot témoin est passée à  $8,67 \pm 0,21$  s ;  $20,33 \pm 0,42$  s et  $28,17 \pm 0,70$  s chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. L'augmentation de la durée d'inclinaison de la tête était de près de 450 % ( $27,50 \pm 0,76$  s) chez les souris traitées au diazépam à la dose de 0,5 mg/kg par rapport au lot témoin. (Figure 33).



**Figure 33 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée d'inclinaison de la tête dans la planche à trous.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*P < 0,01 ; \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

#### III-1-2-4-4- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements

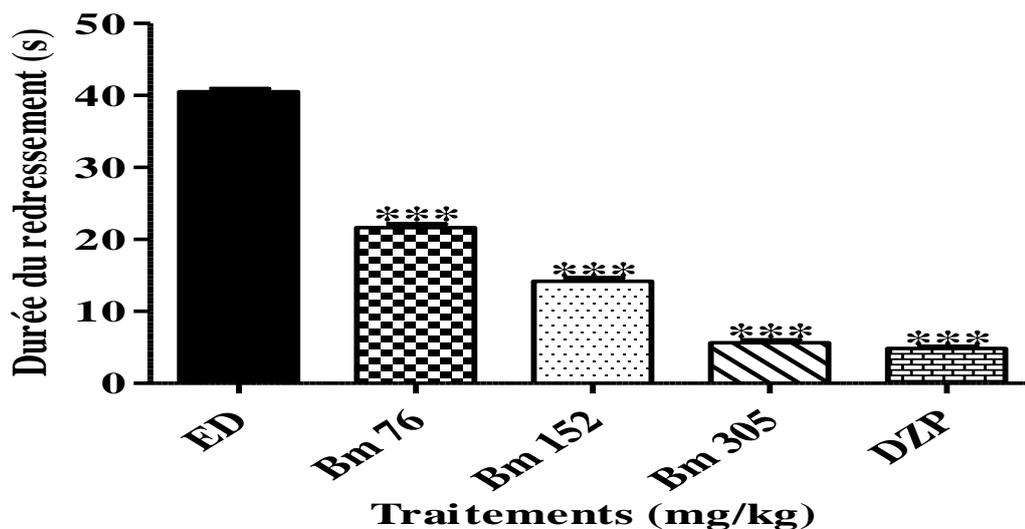
Le nombre de redressements de  $30,50 \pm 0,34$  chez les souris du lot témoin est passé à  $20,67 \pm 0,33$  ;  $13,50 \pm 0,81$  et  $5,83 \pm 0,31$  chez celles traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre de redressements a diminué de 78,14 % ( $6,67 \pm 0,21$ ) chez les souris traitées au diazépam à la dose de 0,5 mg/kg par rapport au témoin (Figure 34).



**Figure 34 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements dans la planche à trous.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée. DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

#### III-1-2-4-5- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée du redressement

La durée du redressement de  $40,50 \pm 0,42$  s chez les souris du lot témoin est passé à  $21,67 \pm 0,49$  s ;  $14,17 \pm 0,48$  s et  $5,67 \pm 0,33$  s chez celles traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg (Figure 35). La durée du redressement a diminué significativement de 88,06 % ( $4,83 \pm 0,31$  s) chez les souris traitées au diazépam à la dose 0,5 mg/kg.



**Figure 35 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (Bm) sur la durée du redressement dans la planche à trous.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au lot témoin. ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée. DZP : témoin positif constitué de souris traitées au Diazépam (3 mg/kg). Bm 76 ; Bm 152 ; Bm 305 : groupes de souris traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives 76, 152 et 305 mg/kg de poids corporel.

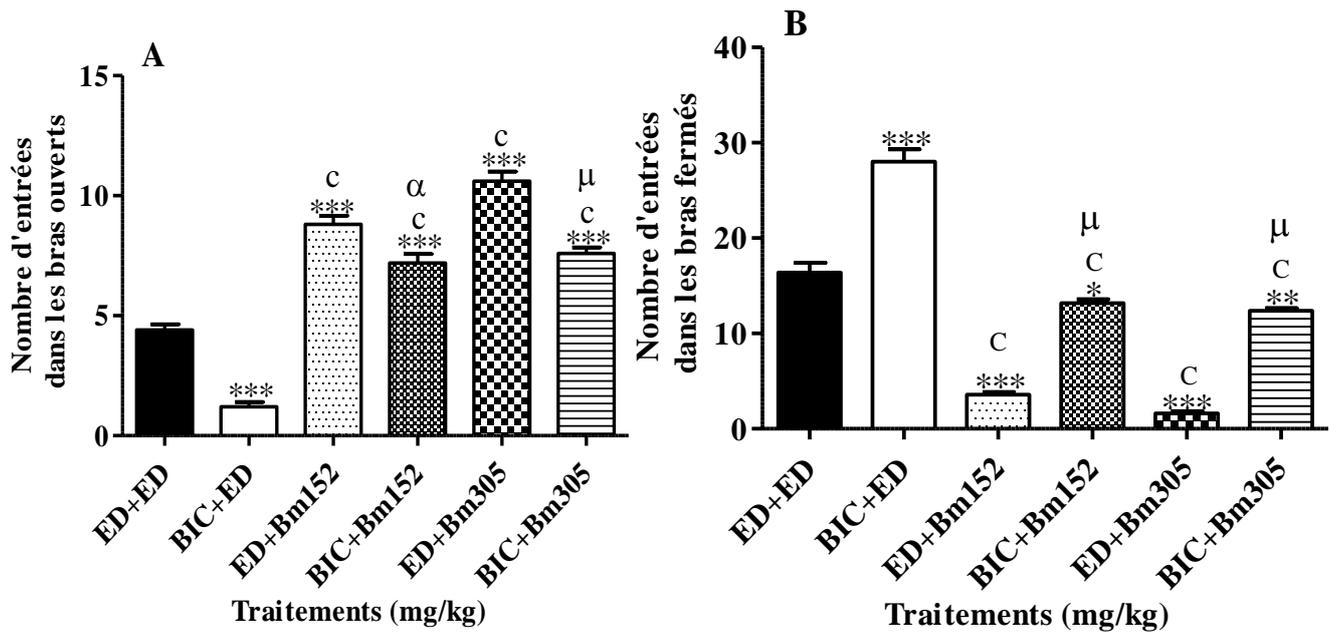
#### III-1-2-4-6- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline dans le labyrinthe en croix surélevé

##### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

Le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de  $4,40 \pm 0,24$  chez les souris qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) est passé à  $1,20 \pm 0,20$  chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED), soit une diminution de 72,73 %. L'administration préalable de l'extrait de plante aux doses de 152 mg/kg (ED+Bm152) et 305 mg/kg (ED+Bm305) a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $8,80 \pm 0,37$  et  $10,60 \pm 0,40$  respectivement. En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a diminué de manière significative ( $p < 0,001$ ) le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a diminué de  $8,80 \pm 0,37$  chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et à l'eau distillée (ED+Bm152) à  $7,20 \pm 0,37$  chez celles traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia*

*micrantha* à la même dose et à la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p<0,001$ ) du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $10,60 \pm 0,40$  chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $7,60 \pm 0,24$  chez celles qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305) (Figure 36A).

La figure 36B montre que le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de  $16,40 \pm 1,03$  chez les souris qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) est passé à  $28,00 \pm 1,30$  chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED), soit une augmentation de 70,73 %. L'administration préalable de l'extrait de plante aux doses de 152 mg/kg (ED+Bm152) et 305 mg/kg (ED+Bm305) a entraîné une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $3,60 \pm 0,24$  et  $1,60 \pm 0,24$  respectivement. En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p<0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a augmenté de manière significative ( $p<0,001$ ) le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $3,60 \pm 0,24$  chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et à l'eau distillée (ED+Bm152) a augmenté à  $13,20 \pm 0,37$  chez celles traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la même dose et à la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p<0,001$ ) du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $1,60 \pm 0,24$  chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $12,40 \pm 0,24$  chez celles qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305).



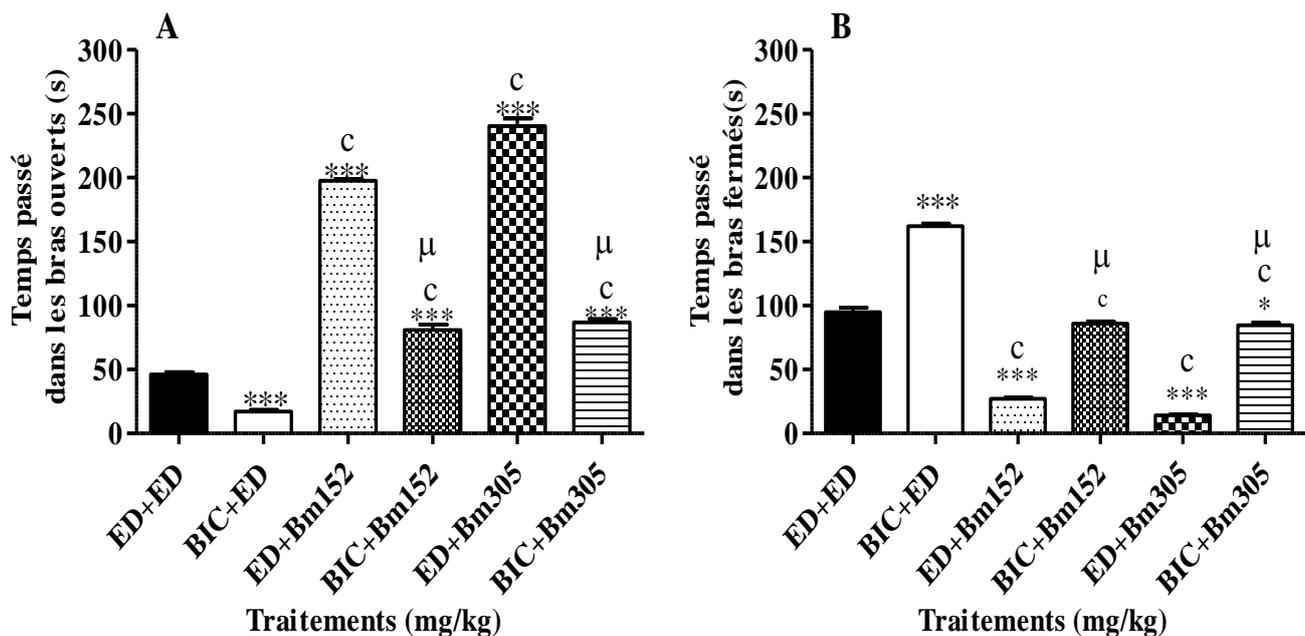
**Figure 36 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED), valeurs de  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité à la bicuculline (BIC+ED) et les valeurs de  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec la bicuculline (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, BIC+ED: témoin constitué de souris traitées à la bicuculline (2,5 mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $46,00 \pm 1,76$  s chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à  $17,20 \pm 1,16$  s chez les animaux traités à l'eau distillée et à la bicuculline (BIC+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $197,60 \pm 1,16$  s et  $240,40 \pm 6,10$  s respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a diminué de manière significative ( $p < 0,001$ ) le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg (Figure 37A). Ainsi, le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $197,60 \pm 1,16$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à  $80,80 \pm 4,26$  s chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait

de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $240,40 \pm 6,10$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $86,80 \pm 2,50$  s chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305).

Le temps mis dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de  $94,80 \pm 3,45$  s chez les souris témoins qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) de  $162,20 \pm 2,03$  s chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED) à la dose de 2,5 mg/kg. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a diminué significativement ( $p < 0,001$ ) le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de  $27,00 \pm 1,09$  s et  $14,20 \pm 0,73$  s respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de  $27,00 \pm 1,09$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à  $85,80 \pm 1,85$  s chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de  $14,20 \pm 6,10$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $84,60 \pm 2,04$  s chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305) (Figure 37B).



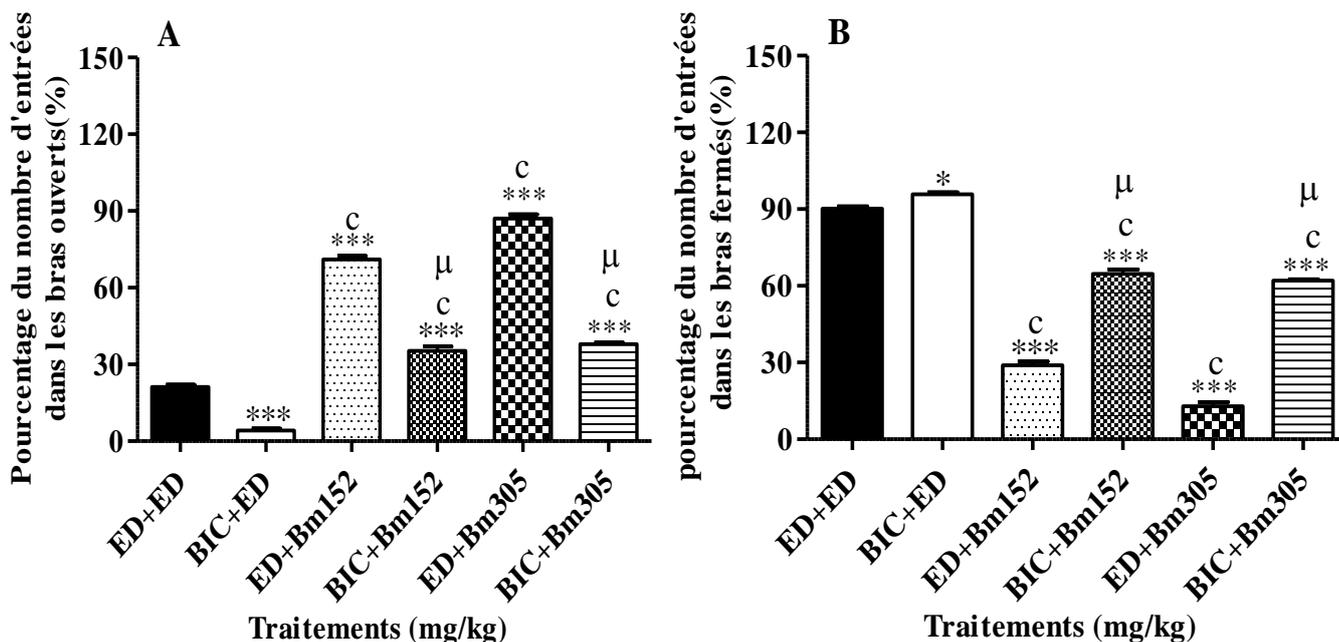
**Figure 37 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*\*p < 0,001, différence significative par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED), valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité à la bicuculline (BIC+ED) et les valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec la bicuculline (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, BIC+ED : lot constitué de souris traitées à la bicuculline (2,5mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

La figure 38A montre que le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 21,23 % chez les souris qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) a diminué significativement (p<0,001) à 4,16 % chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a augmenté significativement (p<0,001) le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 71,01 % et 87,10 % respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement (p<0,001) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline, de par son influence sur l'effet de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, a entraîné une diminution significative (p<0,001) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 71,01 % chez les

souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à 35,29 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 87,10 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 37,97 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305).

Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 90,17 % chez les souris témoins qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) a augmenté significativement ( $p < 0,05$ ) à 95,83 % chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED) à la dose de 2,5 mg/kg. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a diminué significativement ( $p < 0,001$ ) le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 28,99 % et 12,90 % respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ), le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 28,99 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à 64,71 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 12,90 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 62,03 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305) (Figure 38B).



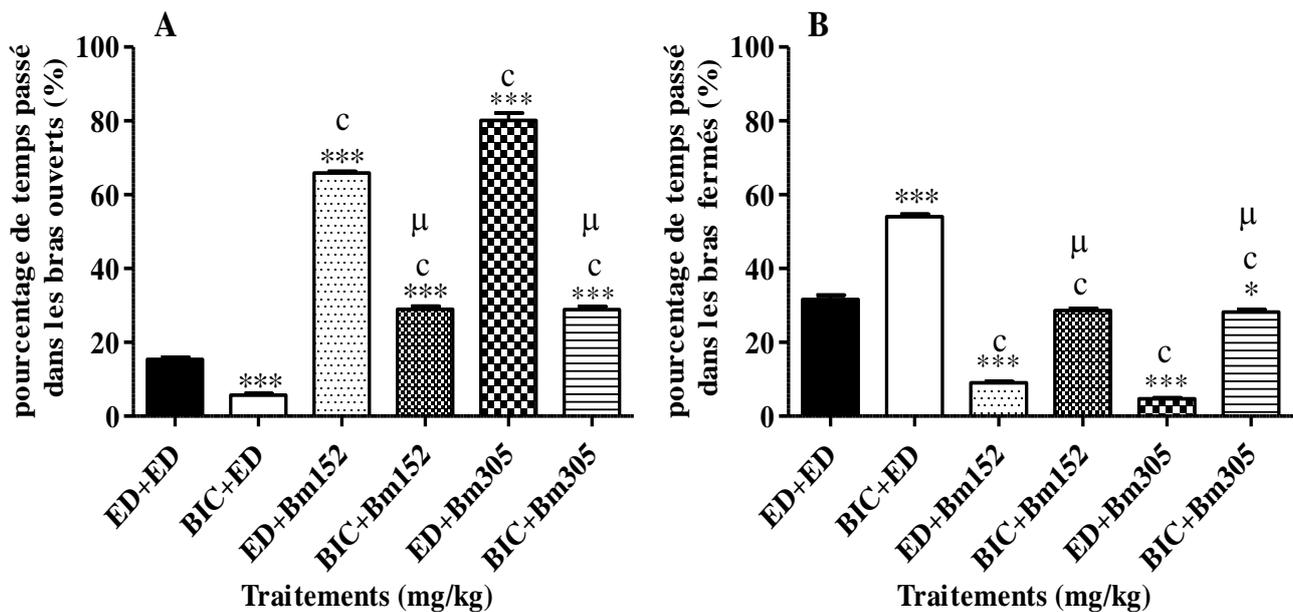
**Figure 38 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$  différence significative par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED), valeurs de  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité à la bicuculline (BIC+ED) et les valeurs de  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec la bicuculline (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, BIC+ED : lot constitué de souris traitées à la bicuculline (2,5mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé en présence de la bicuculline**

La figure 39A montre que le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 15,33 % chez les souris qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) a diminué significativement ( $p < 0,001$ ) à 5,73 % chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de 65,87 % et 80,13 % respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a diminué de manière significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg.

Ainsi, le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de 65,87 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à 28,93 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de 80,13 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 28,87 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305).

Le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 31,60 % chez les souris témoins qui ont reçu de l'eau distillée (ED+ED) a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) à 54,07 % chez les souris traitées à la bicuculline (BIC+ED) à la dose de 2,5 mg/kg. L'administration préalable de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a diminué significativement ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de 9,00 % et 4,73 % respectivement par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu la bicuculline et l'eau distillée (BIC+ED), le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La bicuculline a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, Le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de 9,00 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 152 mg/kg (ED+Bm152) est passé à 28,60 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de 4,73 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 28,20 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable de la bicuculline (BIC+Bm305) (Figure 39B).



**Figure 39 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence de la bicuculline sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*p<0,05, \*\*\*p < 0,001 différence significative par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED), valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité à la bicuculline (BIC+ED) et les valeurs de p<0,05; p<0,01 et p<0,001 respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec la bicuculline (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, BIC+ED : lot constitué de souris traitées à la bicuculline (2,5mg/kg).

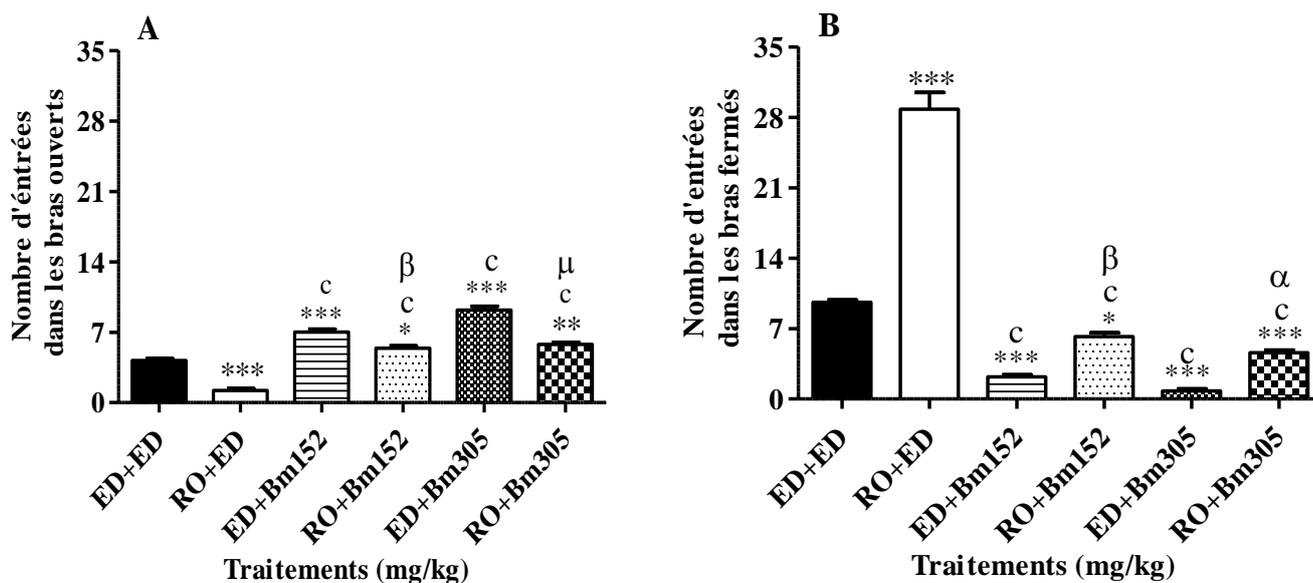
### III-1-2-4-7- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil dans le labyrinthe en croix surélevé

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

Le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $4,20 \pm 0,20$  chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à  $1,20 \pm 0,20$  chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une augmentation significative de  $7,00 \pm 0,32$  et  $9,20 \pm 0,37$  du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement (p<0,001) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La figure 40A montre l'influence du flumazénil sur l'effet de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe

a diminué de  $7,00 \pm 0,32$  chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à  $5,40 \pm 0,24$  chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $9,20 \pm 0,37$  chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $5,80 \pm 0,20$  chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305).

Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $9,60 \pm 0,24$  chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à  $28,80 \pm 1,65$  chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une diminution significative de  $2,20 \pm 0,20$  et  $0,80 \pm 0,20$  du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a augmenté de  $2,20 \pm 0,20$  chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à  $6,20 \pm 0,37$  chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $0,80 \pm 0,20$  chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $4,60 \pm 0,24$  chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305) (Figure 40B).



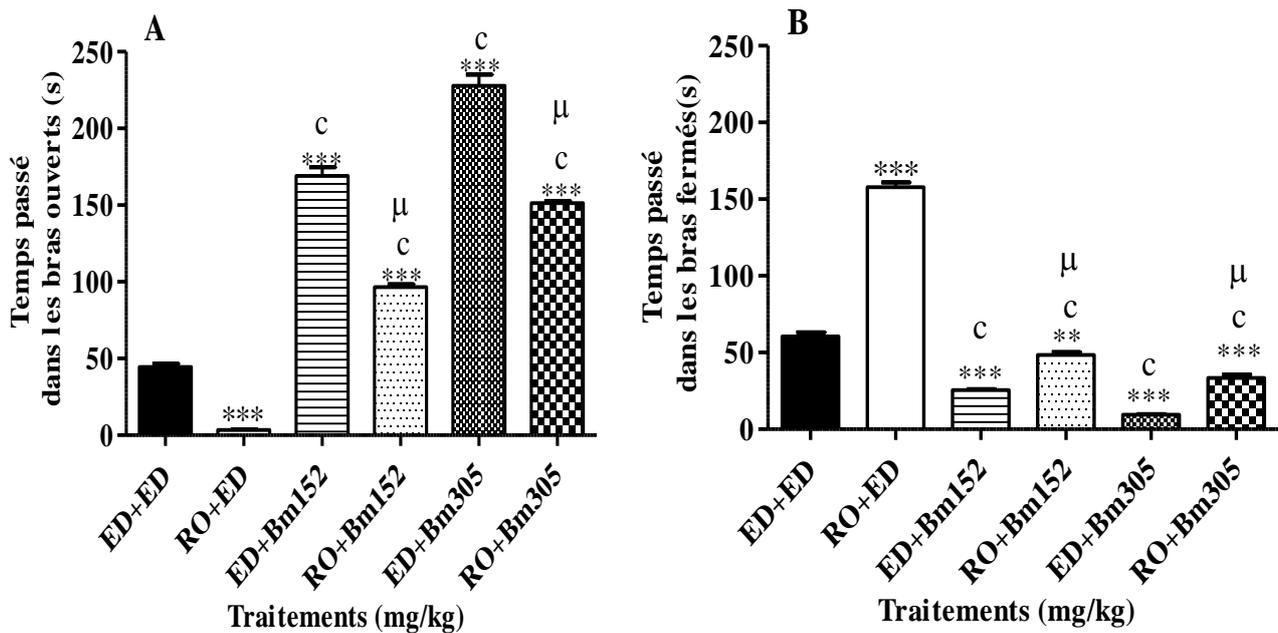
**Figure 40 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \* p<0,05, \*\*p<0,01 et \*\*\*p < 0,001; différence significative par rapport aux souris traitées à l'eau distillée (ED+ED), valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité au flumazénil (RO+ED); et les valeurs de p<0,05; p<0,01 et p<0,001 respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec le flumazénil (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, RO+ED : témoin constitué de souris traitées au flumazénil (3 mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $44,40 \pm 2,08$  s chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à  $3,40 \pm 0,51$  s chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une augmentation significative de  $169,00 \pm 5,78$  s et  $227,80 \pm 7,21$  s du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement (p<0,001) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. La figure 41A montre l'influence du flumazénil sur l'effet de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a diminué de  $169,00 \pm 5,78$  s chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à  $96,60 \pm 1,88$  s chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152).

De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de  $227,80 \pm 7,21$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $151,40 \pm 1,22$  s chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305).

Le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de  $60,60 \pm 2,82$  s chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à  $157,80 \pm 3,12$  s chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une diminution significative de  $25,60 \pm 0,51$  s et  $9,40 \pm 0,51$  s du temps passé dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg et le flumazénil. Ainsi, le temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a augmenté de  $25,60 \pm 0,51$  s chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à  $48,40 \pm 1,96$  s chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de  $9,40 \pm 0,51$  s chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à  $33,40 \pm 2,29$  s chez celles qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305) (Figure 41B).



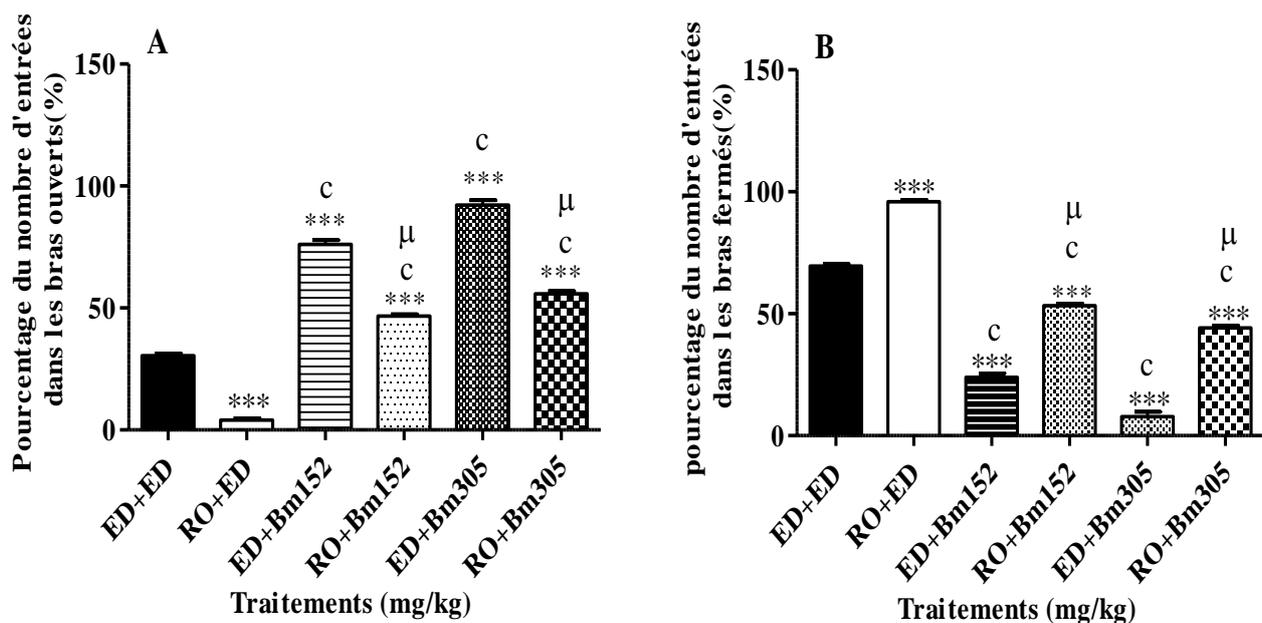
**Figure 41 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n = 6$ . \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ; différence significative par rapport aux souris traitées à l'eau distillée (ED+ED), valeurs de  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité au flumazénil (RO+ED); et les valeurs de  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec le flumazénil (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, RO+ED : témoin constitué de souris traitées au flumazénil (3 mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

La figure 42A montre que le flumazénil a inhibé de façon significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 4,06 % par rapport au témoin qui a reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED) (30,40 %). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une augmentation significative de 76,11 % et 92,14 % du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil, de par son influence sur l'effet de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, a entraîné une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a diminué de 76,11 % chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée

(ED+Bm152) à 46,64 % chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 92,14 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 55,84 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305).

Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 69,60 % chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à 95,94 % chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une diminution significative de 23,89 % et 7,86 % du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe a augmenté de 23,89 % chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à 53,36 % chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 7,86 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 44,16 % chez celles qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305) (Figure 42B).



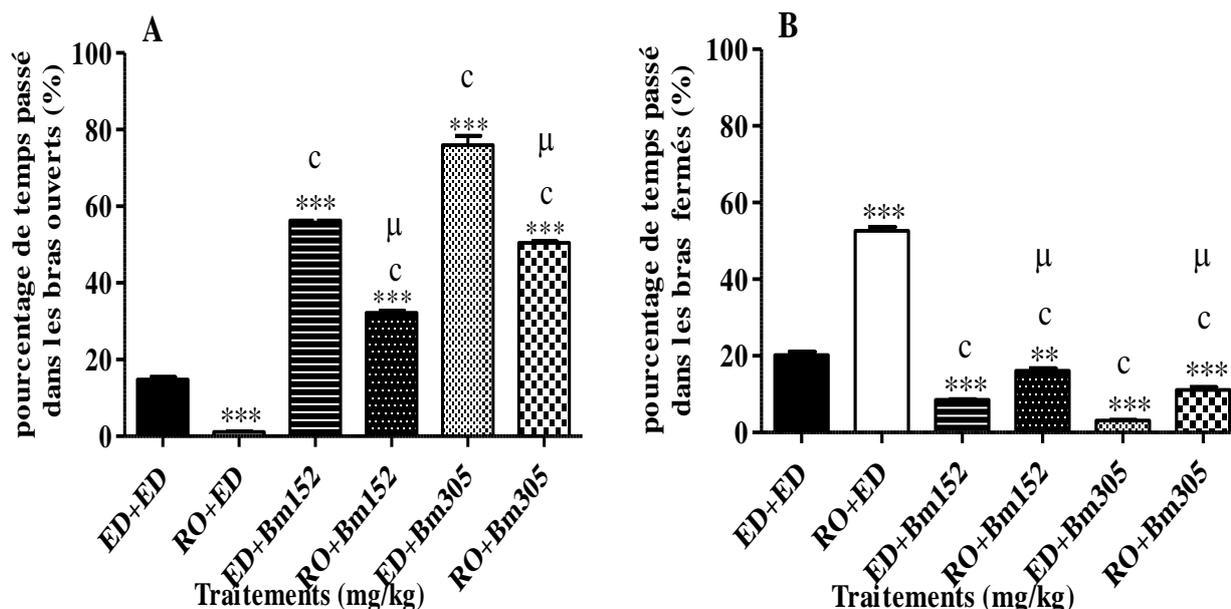
**Figure 42 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*\*p < 0,001; différence significative par rapport aux souris traitées à l'eau distillée (ED+ED), valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité au flumazénil (RO+ED) ; et les valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec le flumazénil (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, RO+ED : témoin constitué de souris traitées au flumazénil (3 mg/kg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

La figure 43A montre que le flumazénil a inhibé de façon significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 1,13 % par rapport au témoin qui a reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED) (14,80 %). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une augmentation significative de 56,33 % et 75,93 % du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a également augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil, de par son influence sur l'effet de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, a entraîné une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe. Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe a diminué de 56,33 % chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à 32,20 %

chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe de 75,93 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 50,47 % chez les souris qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305).

Le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de 20,20 % chez les souris qui ont reçu uniquement de l'eau distillée (ED+ED), est passé à 52,60 % chez les animaux traités à l'eau distillée et au flumazénil (RO+ED). L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg a induit une diminution significative de 8,53 % et 3,13 % du pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée (ED+ED). En comparaison au témoin ayant reçu le flumazénil et l'eau distillée (RO+ED), le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a également diminué significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Le flumazénil a augmenté de manière significative ( $p < 0,001$ ) le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris qui ont reçu l'extrait de plante aux doses respectives de 152 et 305 mg/kg. Ainsi, le pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe a augmenté de 8,53 % chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et l'eau distillée (ED+Bm152) à 16,13 % chez celles traitées à l'extrait de plante à la même dose et au flumazénil (RO+Bm152). De même, il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du pourcentage de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe de 3,13 % chez les souris qui ont reçu l'eau distillée et l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg (ED+Bm305) à 11,13 % chez celles qui ont reçu la même dose de l'extrait de plante après administration préalable du flumazénil (RO+Bm305) (Figure 43B).



**Figure 43 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en présence du flumazénil sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé.**

Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n = 6. \*\*p<0,01, \*\*\*p < 0,001 ; différence significative par rapport aux souris traitées à l'eau distillée (ED+ED), valeurs de p<0,05 ; p<0,01 et p<0,001 respectives (a, b, c) en comparaison au témoin traité au flumazénil (RO+ED); et les valeurs de p<0,05; p<0,01 et p<0,001 respectives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\mu$ ) en comparaison aux groupes traités à l'extrait de plante avec le flumazénil (ANOVA suivi du test de comparaison multiple de Turkey). ED+ED : témoin constitué de souris traitées à l'eau distillée, RO+ED : témoin constitué de souris traitées au flumazénil (3 mg/kg).

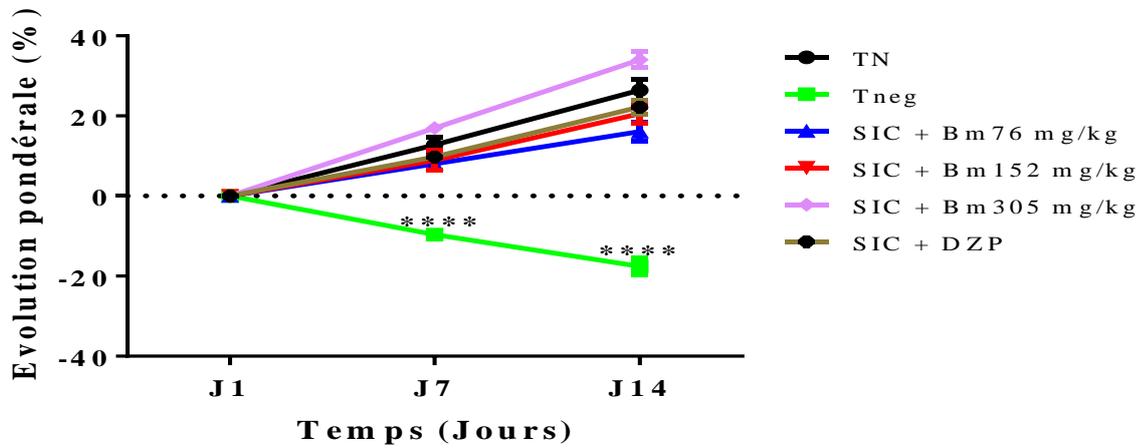
### III-1-3- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur l'anxiété chronique

#### III-1-3-1- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur le stress induit par immobilisation chronique des souris

##### III-1-3-1-1- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises au stress par immobilisation chronique (SIC) pendant 14 jours

La figure 44 présente les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises au stress par immobilisation chronique pendant 14 jours. Il ressort que les souris normales non soumises au stress ont affiché une croissance régulière de leur masse corporelle durant les 14 jours d'expérimentation. Comparés aux animaux témoins normaux, il a été noté une diminution significative du poids corporel chez les animaux du lot témoin négatif stressés et non traités du 7<sup>ième</sup> jour au 14<sup>ième</sup> jour de la période expérimentale de 9,66 % à 17,58 %. Le poids corporel chez le témoin positif traité au diazépam à la dose (2 mg/kg) a augmenté significativement comparé au témoin négatif au 14<sup>ième</sup> jour de 22,21 %. L'administration de l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg a entraîné

une augmentation significative et dose-dépendante de poids corporel de 16,07 %, 20,55 % et 34,02 % au jour 14 comparé aux souris du lot témoin négatif stressées et non traitées.



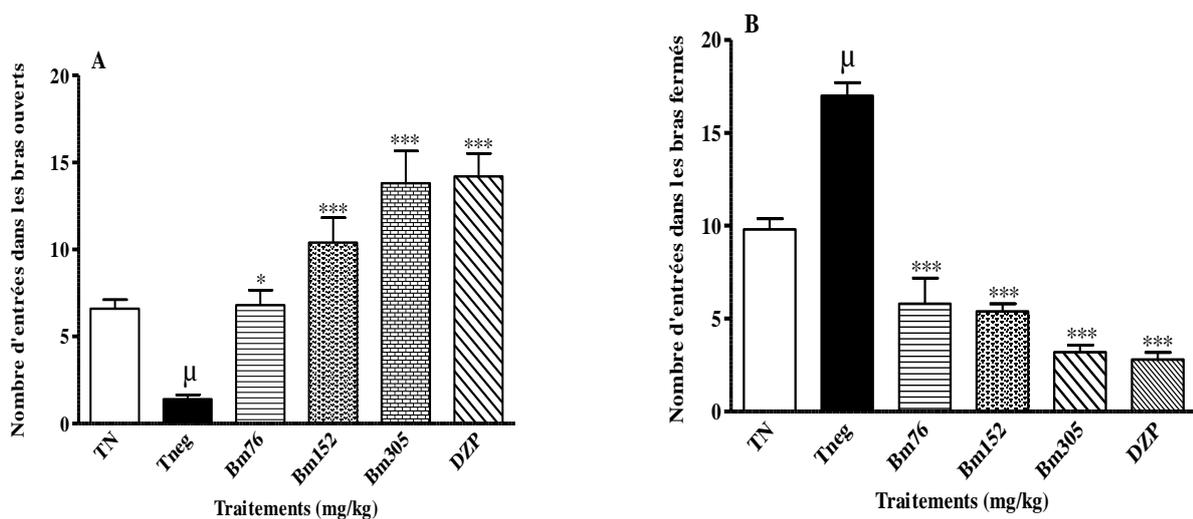
**Figure 44 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises au stress par immobilisation chronique.** Les points représentent les gains pondéraux moyens  $\pm$  ESM, n=5. \*\*\*\*p<0,0001, différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-1-2- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur le stress induit par immobilisation chronique des souris dans le labyrinthe en croix surélevé

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

L'activité exploratrice des souris soumises au stress par immobilisation chronique (SIC) montre que les souris du lot témoin négatif n'explorent pas cet environnement non familier autant que les souris du lot témoin normal (celles qui n'ont pas été exposées au stress). Le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $6,06 \pm 0,51$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $1,40 \pm 0,24$  chez les souris du lot témoin négatif, soit une réduction de 76,89 %. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant le stress d'immobilisation et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce nombre d'entrées dans les bras ouverts de  $1,40 \pm 0,24$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $6,80 \pm 0,86$  ;  $10,40 \pm 1,43$  et  $13,80 \pm 1,86$  chez celles traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à  $14,20 \pm 1,32$  chez celles traitées au diazépam (Figure 45A).

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 73,46 % par rapport aux souris du lot témoin normal. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $9,80 \pm 1,30$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $17,00 \pm 0,71$  chez les souris du lot témoin négatif. Le traitement à l'extrait de plante à toutes les doses tout comme au diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative et dose-dépendante du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $17,00 \pm 0,71$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $5,80 \pm 1,39$  ;  $5,40 \pm 0,40$  et  $3,20 \pm 0,37$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 83,52 % ( $2,80 \pm 0,37$ ) par rapport au témoin négatif (figure 45B).



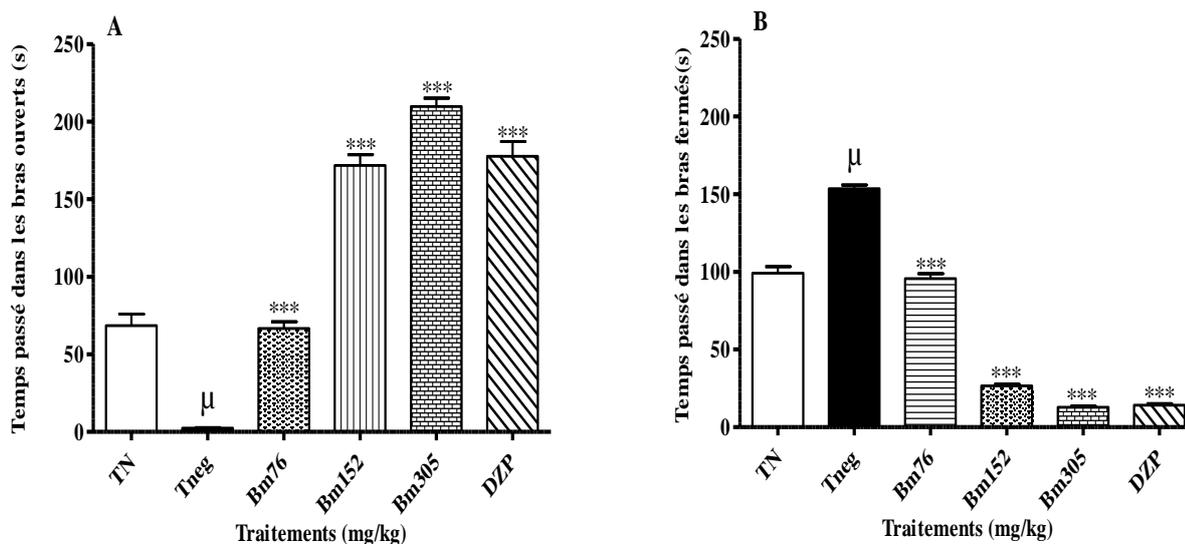
**Figure 45: Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** (A): le nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B): le nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN: témoin normal; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \* $p < 0,05$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

L'analyse de la figure 46A montre que le stress par immobilisation chronique a diminué de manière significative le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe chez les animaux du lot témoin négatif comparativement aux animaux du lot témoin normal non stressés. Le temps

mis dans les bras ouverts du labyrinthe de  $68,60 \pm 7,27$  s chez les animaux du lot témoin normal est passé à  $2,40 \pm 0,40$  s chez les animaux du lot témoin négatif, soit une diminution de 96,50 %. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant le stress d'immobilisation et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce temps de  $2,40 \pm 0,40$  s chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $66,60 \pm 4,37$ s ;  $171,80 \pm 6,85$  s et  $209,60 \pm 5,35$  s aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à  $177,60 \pm 9,4$  s chez celles traitées au diazépam.

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif une augmentation significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 54,94 % par rapport aux souris du lot témoin normal (Figure 46B). Le temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de  $99,00 \pm 4,30$  s chez les souris du lot témoin normal est passé à  $153,40 \pm 2,42$  s chez les animaux du lot témoin négatif stressés. Chez les animaux ayant reçu pendant la période expérimentale l'extrait de plante, il a été observé une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe qui est passé de  $153,40 \pm 2,42$  s chez le témoin négatif à  $95,60 \pm 3,22$  s ;  $26,60 \pm 0,93$  s et  $12,80 \pm 0,66$  s respectivement chez les animaux traités aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 90,74 % ( $14,20 \pm 0,97$  s).



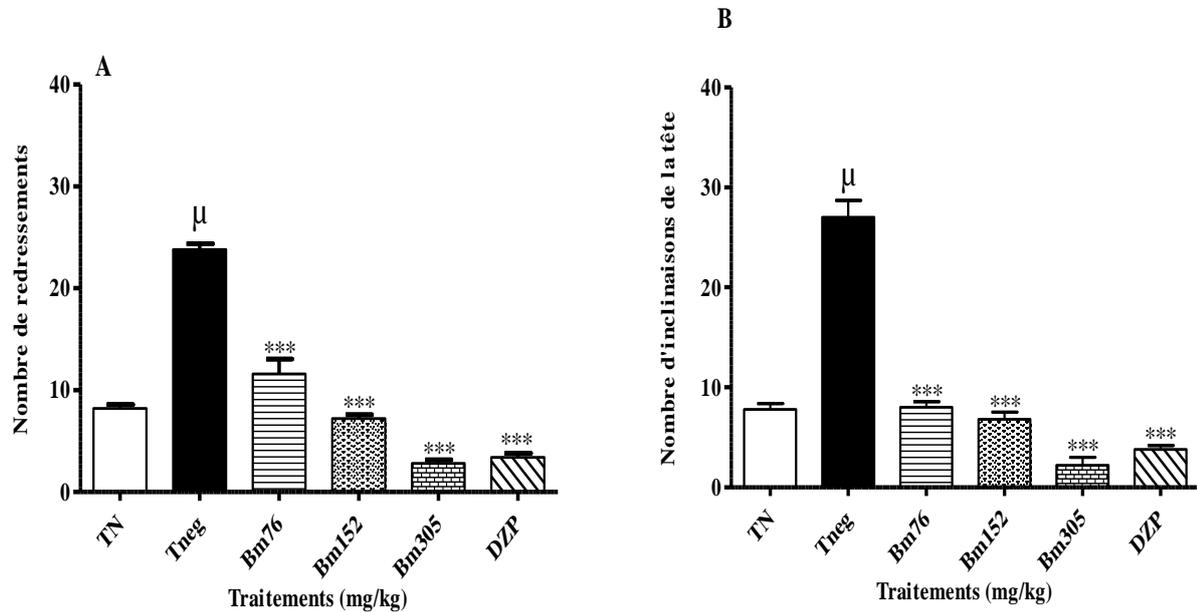
**Figure 46 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** (A) : le temps passé dans les bras ouverts. (B) : le temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le stress par immobilisation chronique des souris a induit une augmentation significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les animaux du lot témoin négatif stressés. Ce nombre de redressements de  $8,20 \pm 0,37$  chez le témoin normal est passé à  $23,80 \pm 0,58$  chez les souris du lot témoin négatif stressées (Figure 47A). Le nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe de  $23,80 \pm 0,58$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $11,60 \pm 1,43$  ;  $7,20 \pm 0,37$  et  $2,80 \pm 0,37$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 85,71 % ( $3,40 \pm 0,40$ ) par rapport au témoin négatif.

La figure 47B montre une augmentation significative du nombre d'inclinaisons de la tête chez les souris du lot témoin négatif ( $27,00 \pm 1,70$ ) par rapport aux animaux du lot témoin normal non stressés ( $7,80 \pm 0,58$ ). Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $27,00 \pm 1,70$  chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées a diminué significativement après le stress

d'immobilisation chez les souris traitées au diazépam ( $3,80 \pm 0,37$ ) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76 mg/kg ( $8,00 \pm 0,55$ ), 152 mg/kg ( $6,80 \pm 0,73$ ) et 305 mg/kg ( $2,20 \pm 0,80$ ).

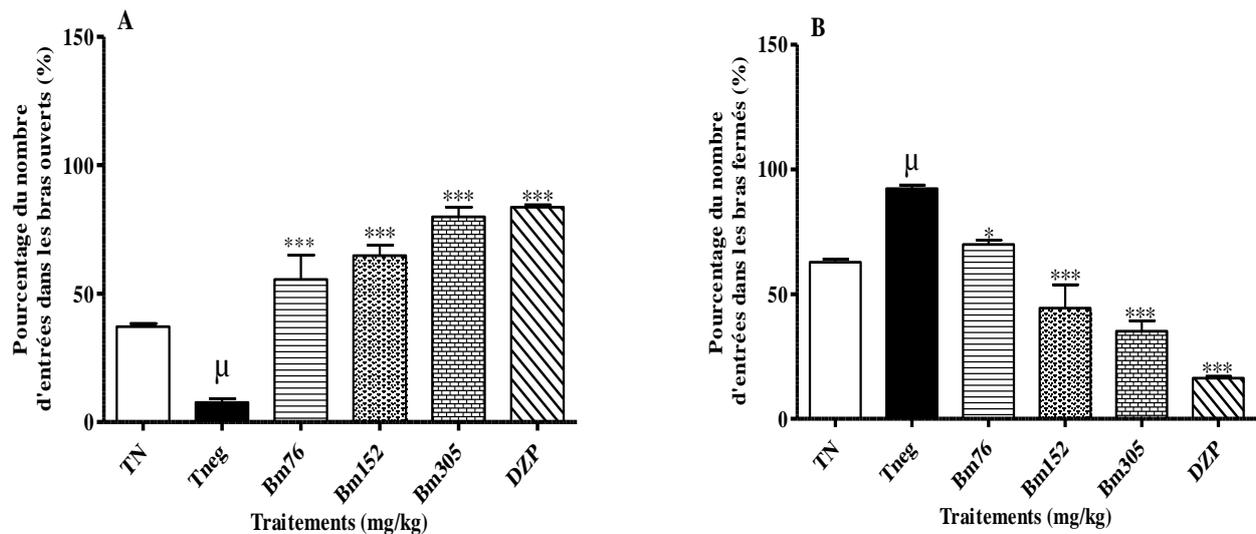


**Figure 47 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans le labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** (A) : le nombre de redressements. (B) : le nombre d'inclinaisons de la tête. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

La figure 48A montre que le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 37,20 % chez le témoin normal est passé à 7,69 % chez le témoin négatif. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a augmenté chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en comparaison au lot témoin négatif stressé et non traité. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 7,69 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 55,63 % ; 64,76 % et 79,90 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam a induit un pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 83,70 %.

Le stress par immobilisation chronique a entraîné une augmentation significative du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les animaux du lot témoin négatif de 92,31 % par rapport aux animaux du lot témoin normal non stressés où il est de 62,80 %. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 92,31% chez les souris du lot témoin négatif a diminué significativement chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) à 16,30 % ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg à 69,87 %, 44,37 % et 35,24 % (figure 48B).



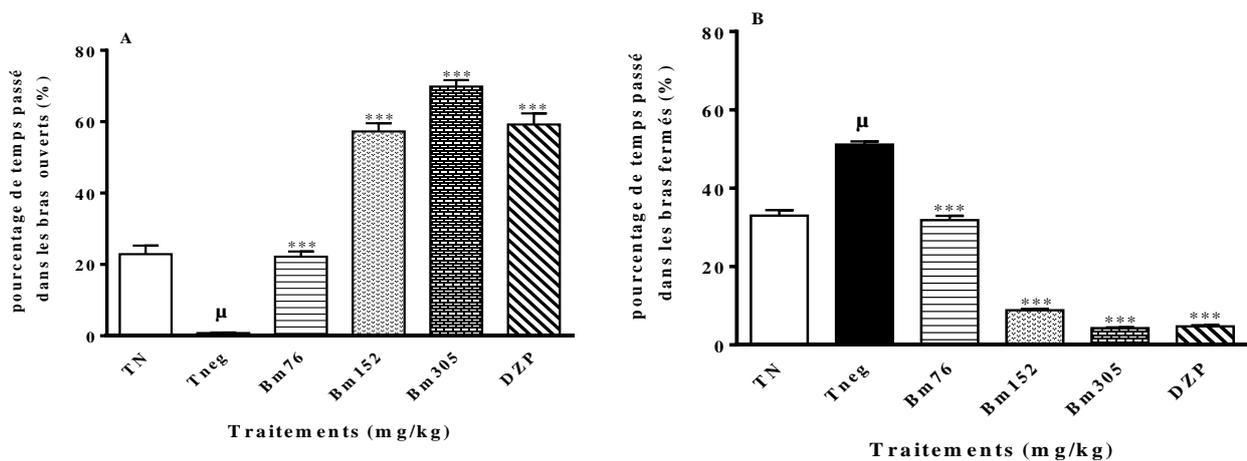
**Figure 48 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** (A) : le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B) : le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \* $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le stress par immobilisation chronique a diminué de manière significative le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal non stressées. Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe de 22,87 % chez le lot témoin normal est passé à 0,80 % chez les souris du lot témoin négatif (Figure 49A). Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant le stress d'immobilisation et en comparaison au lot témoin négatif, il a été

observé une augmentation significative du pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe est passé de 0,80 % chez les souris du lot témoin négatif à 22,20 % ; 57,27 % et 69,87 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 59,20 % chez celles traitées au diazépam.

Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 33,00 % chez les animaux du lot témoin normal non stressés est passé à 53,13 % chez les souris du lot témoin négatif stressées. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant le stress d'immobilisation et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une diminution significative du pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe. Ce pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 51,13 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 31,87 % ; 8,87 % et 4,27 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 4,73 % chez celles traitées au diazépam (Figure 49B).



**Figure 49 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** (A) : le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. (B) : le pourcentage de temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-1-3- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur le stress induit par immobilisation chronique (SIC) des souris dans le test de l'arène ouverte

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de lignes traversées

Le nombre de lignes traversées par les animaux dans l'arène ouverte après un stress par immobilisation chronique est résumé dans la figure 50. Ces résultats montrent que les souris du lot témoin négatif n'explorent pas cet environnement nouveau autant que les souris du lot témoin normal (celles qui n'ont pas été exposées au stress). Chez les souris du lot témoin négatif, le nombre de lignes traversées a significativement diminué par rapport aux souris du lot témoin normal. Le nombre de lignes traversées de  $20,20 \pm 1,02$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $8,40 \pm 0,51$  chez les souris du lot témoin négatif, soit une réduction de 58,41 %. Le traitement avec l'extrait de plante pendant l'induction du stress a entraîné une augmentation significative du nombre de lignes traversées à  $17,60 \pm 0,68$  à la dose de 76 mg/kg ;  $67,00 \pm 3,21$  à la dose de 152 mg/kg ; et à  $74,00 \pm 1,79$  à la dose de 305 mg/kg par rapport au lot témoin négatif. Le diazépam (2 mg/kg) a augmenté le nombre de lignes traversées par rapport au lot témoin négatif à  $70,60 \pm 2,77$ .

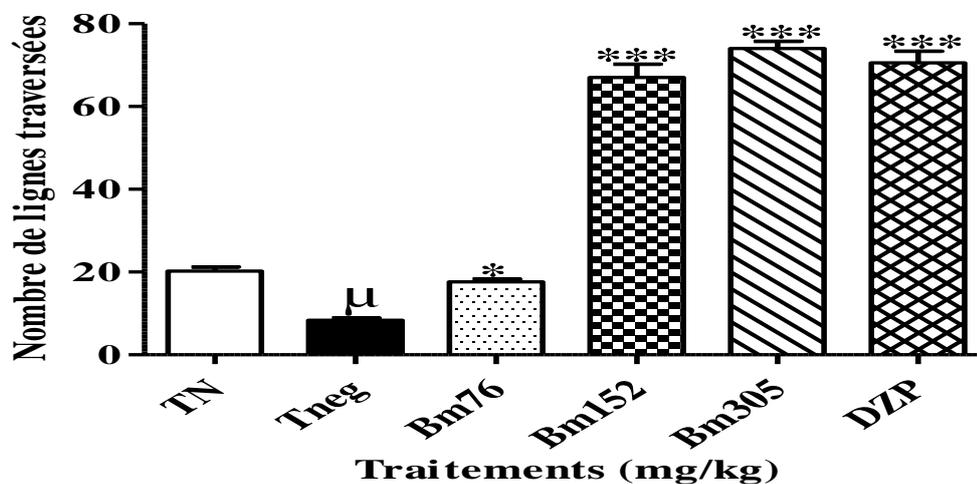
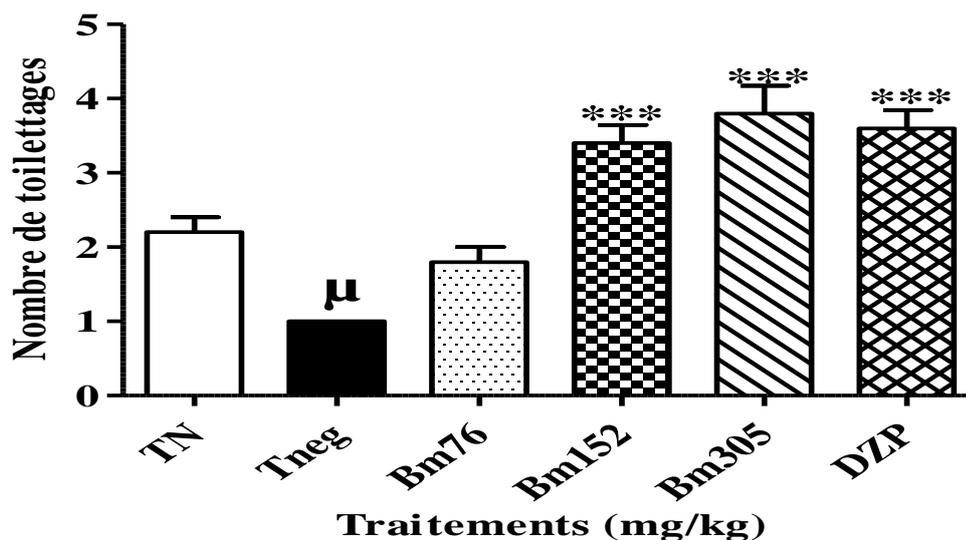


Figure 50 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de lignes traversées dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,01$ , comparaison entre TN et Tneg ; \* $p < 0,05$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettes**

Le stress par immobilisation chronique a diminué significativement ( $p < 0,01$ ) le nombre de toilettes chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées. Le nombre de toilettes de  $2,80 \pm 0,20$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $1,00 \pm 0,00$  chez les souris du lot témoin négatif, soit une diminution de 54,55 %. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a induit une augmentation significative du nombre de toilettes par rapport aux souris du lot témoin négatif. Le nombre de toilettes de  $1,00 \pm 0,00$  chez le témoin négatif est passé à  $1,80 \pm 0,20$  ;  $3,40 \pm 0,24$  et  $3,80 \pm 0,37$  chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le Diazépam utilisé dans les mêmes conditions expérimentales que l'extrait de plante a induit une augmentation significative du nombre de toilettes à  $3,60 \pm 0,24$  par rapport aux animaux du lot témoin négatif (Figure 51).

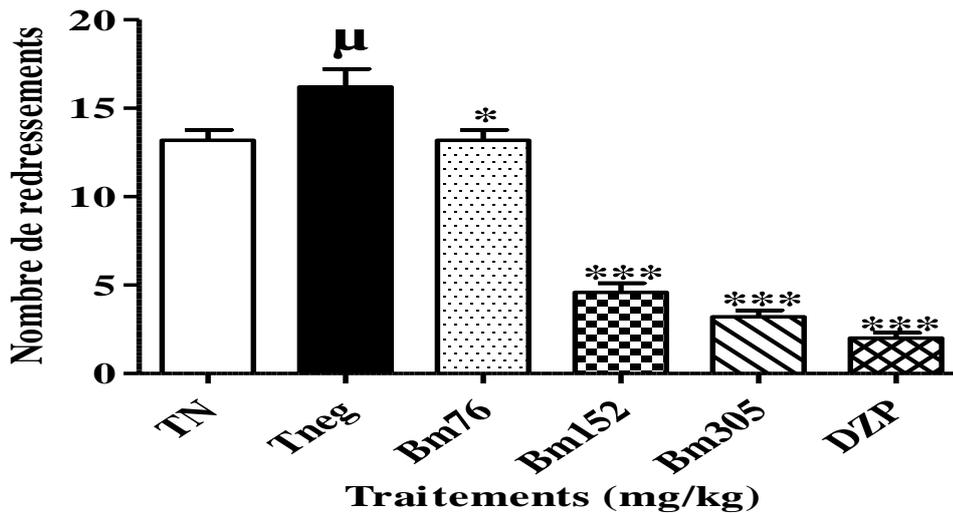


**Figure 51 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettes dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n=5$ . TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,05$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements**

La figure 52 montre que le nombre de redressements des souris dans l'arène ouverte après le stress par immobilisation chronique a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris du lot témoin négatif ( $16,20 \pm 1,02$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $13,20 \pm 0,58$ ) qui n'ont pas été stressées. Le nombre de redressements de  $16,20 \pm 1,02$  chez les souris

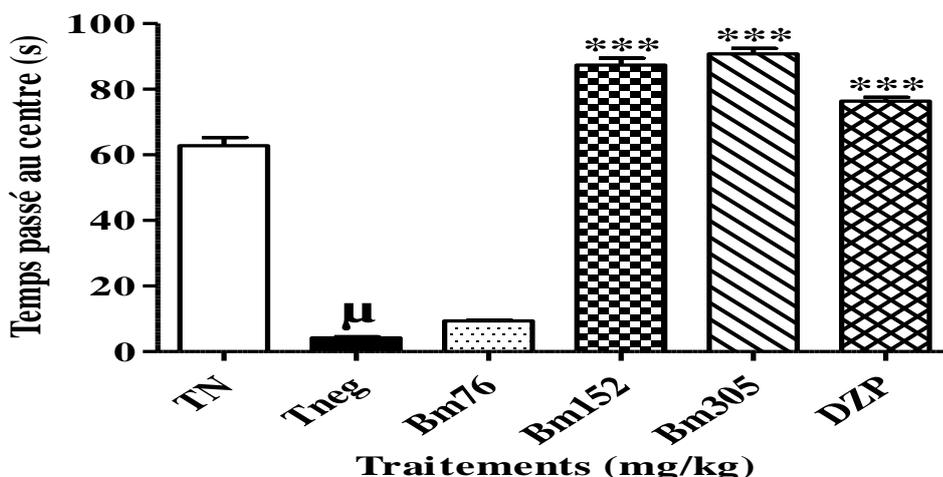
du lot témoin négatif est passé à  $13,20 \pm 0,58$  ;  $4,60 \pm 0,51$  et  $3,20 \pm 0,37$  chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le nombre de redressements était de  $2,00 \pm 0,31$  chez les souris traitées au diazépam à la dose de 2 mg/kg. La dose 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et le diazépam ont induit une réduction significative du nombre de redressements respectivement de 80,24 % et 87,65 % par rapport au lot témoin négatif.



**Figure 52 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,05$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*  $p < 0,05$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé au centre

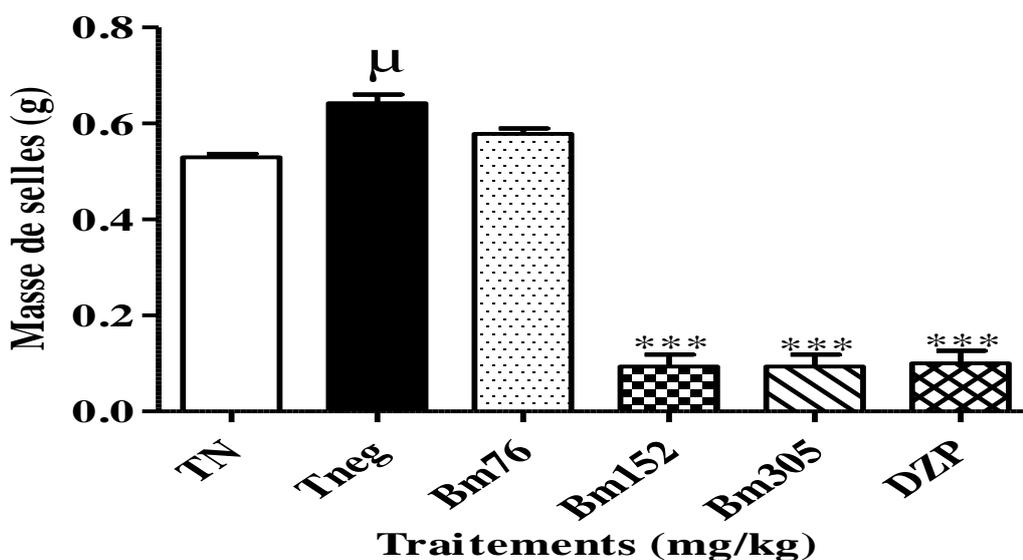
La figure 53 montre une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du temps passé au centre de l'arène ouverte après le stress par immobilisation chronique chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées. Cette réduction était de 95,19 %. Le temps mis au centre de l'arène ouverte de  $4,20 \pm 0,37$  s chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $9,40 \pm 0,24$  s ;  $62,80 \pm 2,49$  s et  $90,80 \pm 1,65$  s chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* respectivement aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg. Le traitement des souris au diazépam à la dose de 2 mg/kg a également augmenté significativement ce temps à  $76,40 \pm 1,16$  s en comparaison avec les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées.



**Figure 53 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé au centre de l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la masse de selles produites**

La figure 54 montre une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) de 21,13 % de la masse de selles produites dans l'arène ouverte après le stress par immobilisation chronique chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées. La masse de selles produites par les souris du lot témoin négatif de  $0,64 \pm 0,01$  g a diminué en fonction de la dose de l'extrait de plante et est de  $0,58 \pm 0,01$  g ;  $0,53 \pm 0,01$  g et  $0,09 \pm 0,02$  g chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam à la dose de 2 mg/kg a entraîné une diminution significative de la masse de selles de 84,42 % ( $0,10 \pm 0,03$  g) par rapport au lot témoin négatif.



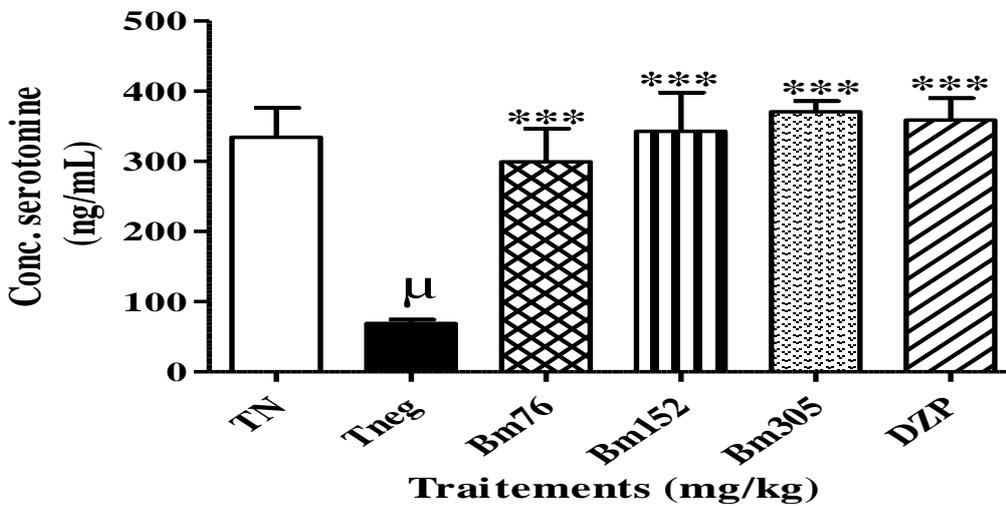
**Figure 54 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la masse de selles produites dans l'arène ouverte chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,01$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### III-1-3-1-4- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur les taux plasmatiques de sérotonine et de corticostérone chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique

##### ➤ Effets sur le taux de sérotonine plasmatique

Le stress par immobilisation chronique a entraîné une diminution significative ( $p < 0,001$ ) de 79,38 % de la concentration plasmatique de sérotonine chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées ( $68,84 \pm 5,71$  ng/mL) comparativement aux souris du lot témoin normal non stressées ( $333,90 \pm 41,75$  ng/mL). Chez les animaux soumis au stress par immobilisation chronique et traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*, la concentration plasmatique de sérotonine a augmenté de 4,34 fois ( $299,10 \pm 47,31$  ng/mL) à la dose de 76 mg/kg, de 4,98 fois ( $342,70 \pm 55,00$  ng/mL) à la dose de 152 mg/kg et de 5,38 fois ( $370,40 \pm 15,08$  ng/mL) à la dose de 305 mg/kg par rapport au témoin négatif (Figure 55). Le diazépam (2 mg/kg) utilisé dans les mêmes conditions que l'extrait de plante a également induit une

augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration plasmatique de sérotonine de 6,11 fois ( $358,50 \pm 31,43$  ng/mL) par rapport au témoin négatif.

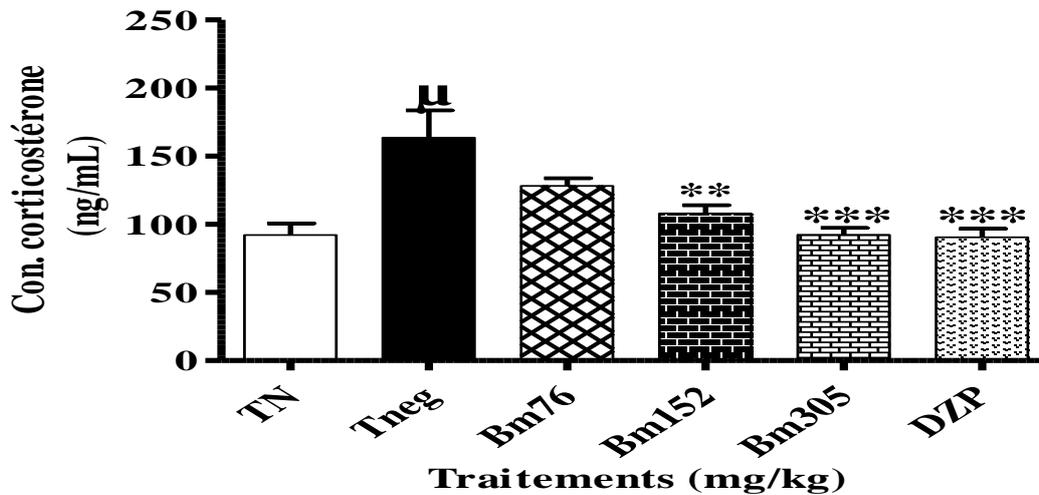


**Figure 55 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le taux de sérotonine plasmatique chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.**

TN: témoin normal; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam. μ:  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$  différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets sur le taux de corticostérone plasmatique

La figure 56 montre le taux plasmatique de la corticostérone chez les animaux soumis au stress par immobilisation chronique (SIC). La concentration plasmatique de la corticostérone a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées ( $163,70 \pm 19,91$  ng/mL) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $92,18 \pm 8,55$  ng/mL) non stressées. Chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pendant la période expérimentale, la concentration plasmatique de la corticostérone a diminué de manière significative par rapport aux souris du lot témoin négatif stressées et non traitées. La concentration plasmatique de la corticostérone de  $163,70 \pm 19,91$  ng/mL chez le témoin négatif est passée à  $108,00 \pm 6,01$  ng/mL chez les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* à la dose de 152 mg/kg et à  $92,29 \pm 5,09$  ng/mL chez celles qui ont reçu l'extrait de plante à la dose de 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) dans cette étude a provoqué par rapport au témoin négatif une réduction du taux de corticostérone de 44,65 % ( $90,60 \pm 6,09$  ng/mL).



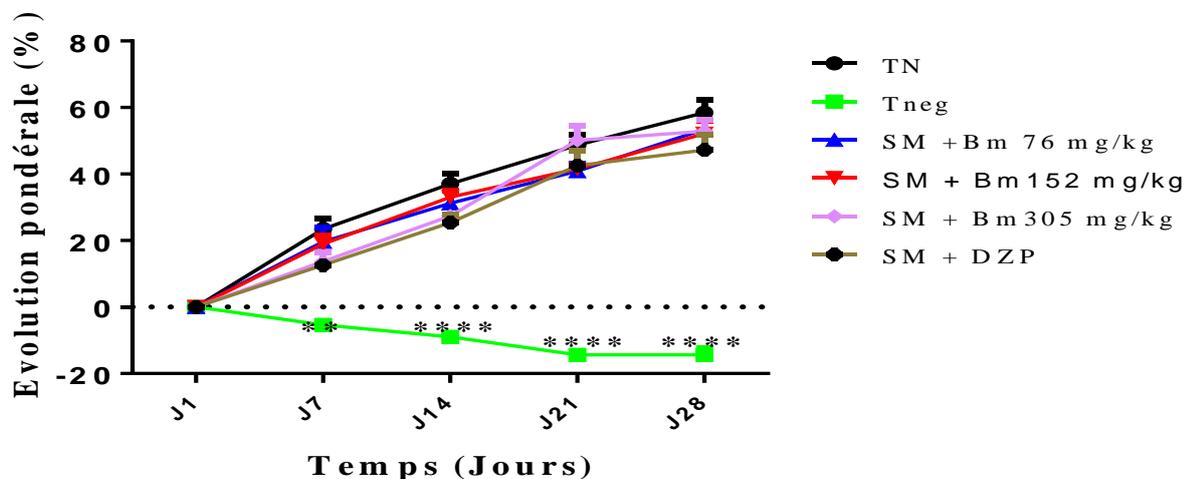
**Figure 56 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le taux de corticostérone plasmatique chez les souris soumises au stress par immobilisation chronique.**

TN: témoin normal; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam. μ:  $p < 0,001$  ; comparaison entre TN et Tneg; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-2- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur le stress induit par la séparation maternelle des souris

#### III-1-3-2-1- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises au stress de la séparation maternelle

La figure 57 présente les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises à la séparation maternelle pendant 14 jours. Il ressort que les souris normales non soumises au stress ont affiché une croissance régulière de leur masse corporelle durant les 14 jours d'expérimentation. Comparées aux souris du lot témoin normal, il a été noté une diminution significative du poids corporel chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées aux jours 7, 14, 21 et 28 de la période expérimentale de 5,38 % ; 8,94 % ; 14,35 % et 14,40 %. Le poids corporel chez le témoin positif traité au diazépam (2 mg/kg) a augmenté significativement comparé au témoin négatif au 28<sup>ième</sup> jour de 58,48 %. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg a entraîné une augmentation significative du poids corporel de 53,48 %, 52,13 % et 52,89 % au jour 28 comparé aux souris du lot témoin négatif stressées et non traitées.



**Figure 57 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris soumises à la séparation maternelle.** Les points représentent les gains pondéraux moyens  $\pm$  ESM, n=5. \*\*p<0,01, \*\*\*\*p<0,0001, différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

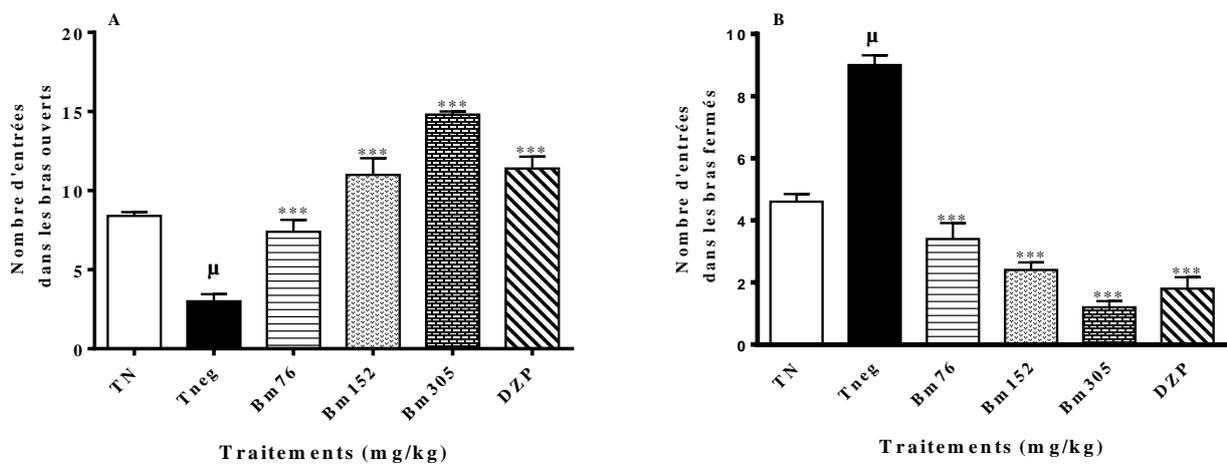
### III-1-3-2-2- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* dans le labyrinthe en croix surélevé après un stress de la séparation maternelle

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La séparation maternelle a entraîné chez les souris du lot témoin négatif une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées. Le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de  $8,40 \pm 0,24$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $3,00 \pm 0,45$  chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées, soit une réduction de 64,28 %. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'induction du stress par simple séparation maternelle et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce nombre d'entrées dans les bras ouverts de  $3,00 \pm 0,45$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $7,40 \pm 0,75$  ;  $11,00 \pm 1,05$  et  $14,80 \pm 0,20$  aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à  $11,40 \pm 0,75$  chez celles traitées au diazépam (Figure 58A).

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 95,65 % par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées. La figure 58B montre une

diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg par rapport au lot témoin négatif. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $9,00 \pm 0,32$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $3,40 \pm 0,51$  ;  $2,40 \pm 0,24$  et  $1,20 \pm 0,20$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 80,00 % ( $1,80 \pm 0,37$ ) par rapport au témoin négatif.



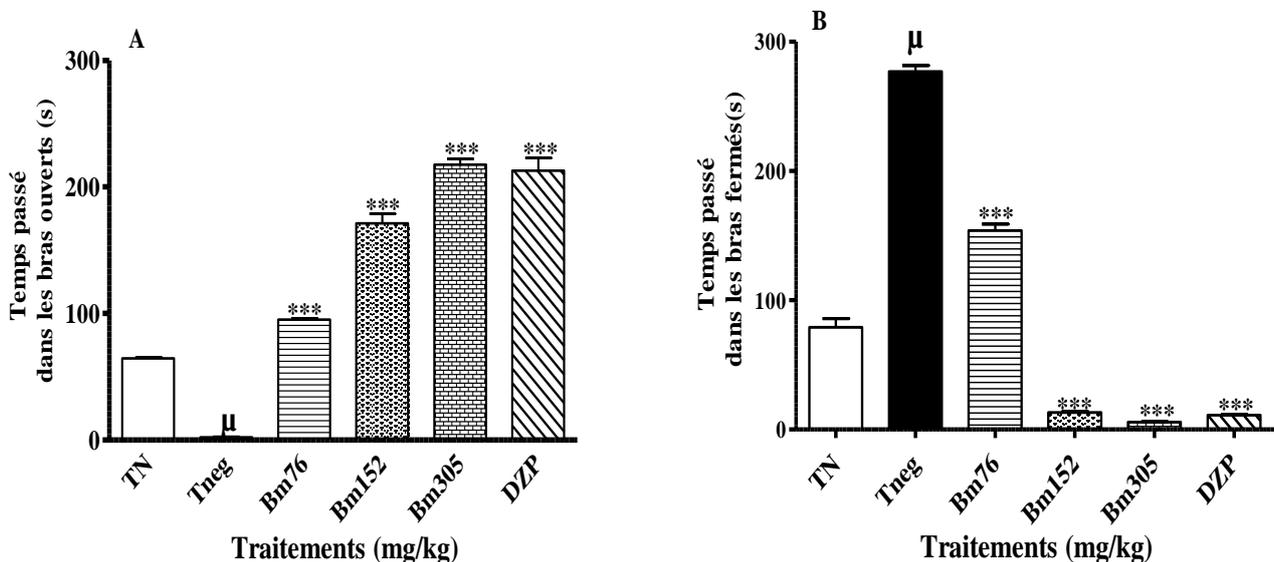
**Figure 58: Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** (A): le nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B): le nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN: témoin normal; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe de  $64,60 \pm 0,98$  s chez les souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées est passé à  $2,20 \pm 0,37$ s chez les souris du lot témoin négatif, soit une diminution de 96,59 %. Chez les souris traitées au diazépam à la dose de 2 mg/kg ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'induction du stress par simple séparation maternelle et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce temps de  $2,20 \pm 0,37$ s chez les souris du lot témoin négatif est passé à

95,20 ± 0,97 s ; 171,40 ± 7,37s et 217,60 ± 4,61 s aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 212,80 ± 10,19 s chez celles traitées au diazépam (Figure 59A).

La figure 59B montre une augmentation significative du temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris du lot témoin négatif (277,00 ± 4,70 s) par rapport aux animaux du lot témoin normal qui n'ont pas été stressés (79,00 ± 6,85 s). Chez les animaux ayant reçu pendant la période expérimentale l'extrait de plante, il a été observé une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin négatif. Le temps passé dans les bras fermés a diminué à 153,80 ± 5,11 s ; 13,20 ± 0,73 s et à 5,80 ± 0,37 s respectivement aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 5,95 % (11,20 ± 0,37 s).



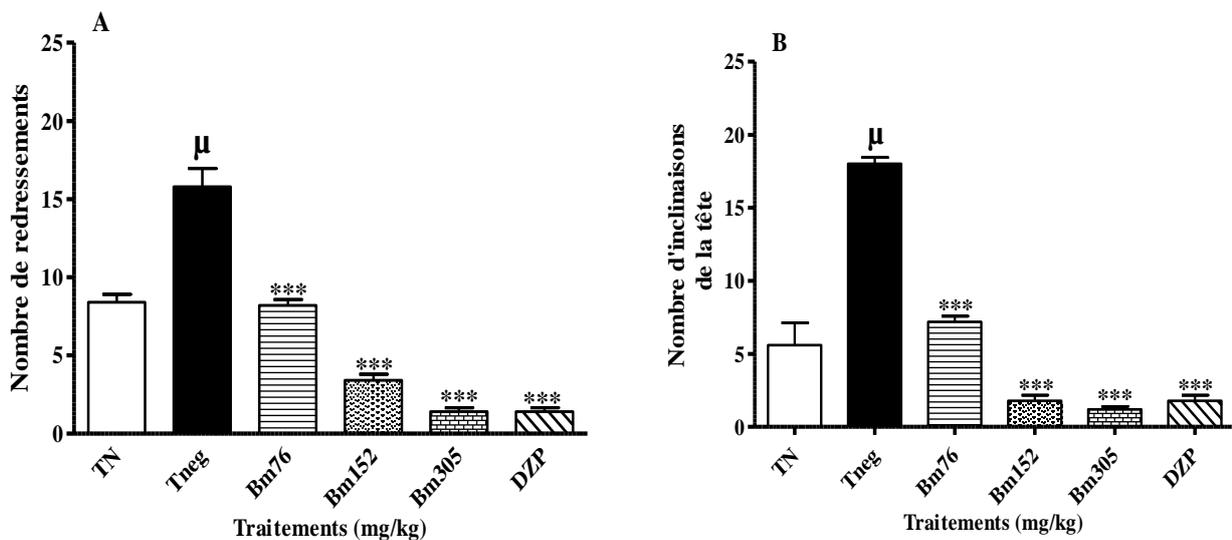
**Figure 59: Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** (A): le temps passé dans les bras ouverts. (B): le temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne ± ESM, n=5. TN: témoin normal; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam. μ: p<0,001, comparaison entre TN et Tneg; \*\*\* p< 0,001, différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif une augmentation significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe. Ce nombre est passé de 8,40 ± 0,81 chez le témoin normal non stressé à 15,80 ± 1,16 chez le témoin négatif stressé. La figure 60A montre une diminution significative du nombre de redressements chez les souris traitées

au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg par rapport au lot témoin négatif. Le nombre de redressements de  $15,80 \pm 1,16$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $8,20 \pm 0,37$  ;  $3,40 \pm 0,40$  et  $1,40 \pm 0,24$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 91,13 % ( $1,40 \pm 0,24$ ) par rapport au témoin négatif.

La figure 60B montre une augmentation significative du nombre d'inclinaisons de la tête chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux animaux du lot témoin normal non stressés. Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $18,00 \pm 0,45$  chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées a diminué significativement à  $7,20 \pm 0,37$ ;  $1,80 \pm 0,37$  et  $1,20 \pm 0,20$  chez les animaux traités aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre d'inclinaisons de la tête était de  $1,67 \pm 0,21$  chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg).

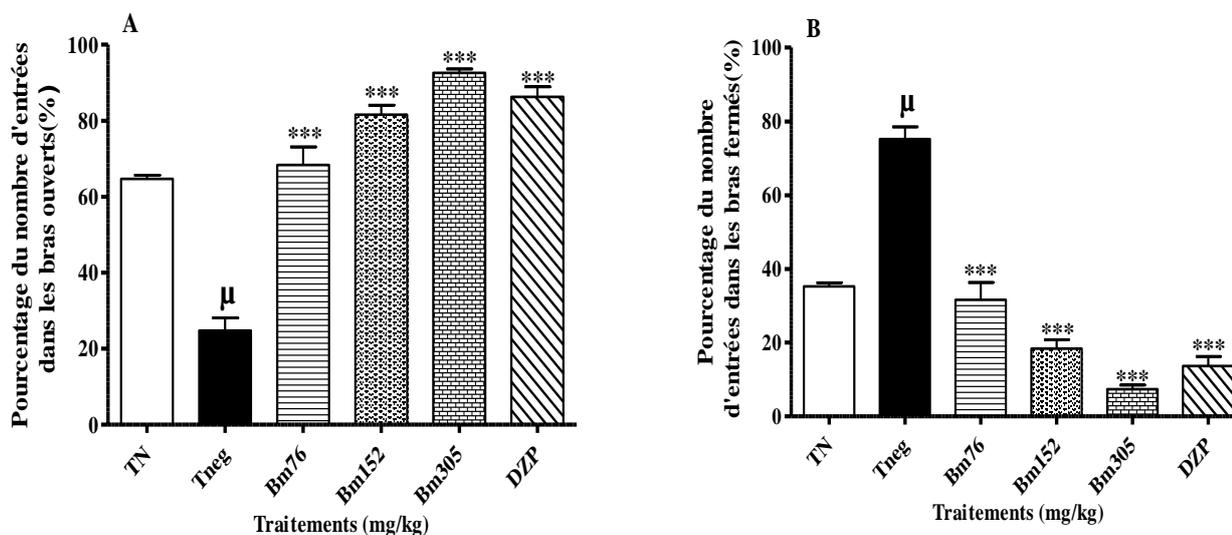


**Figure 60 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** (A) : le nombre de redressements. (B): le nombre d'inclinaisons de la tête. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

Le stress de la séparation maternelle a entraîné une diminution significative du pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 24,79 % chez les souris du lot témoin négatif stressées et non traitées par rapport aux souris du lot témoin normal non stressées (64,69 %). Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a augmenté chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en comparaison au lot témoin négatif. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 24,79 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 68,39 % ; 81,62 % et 92,56 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam a induit un pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 86,33 % (Figure 61A).

Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 35,31 % chez les animaux du lot témoin normal non stressés est passé à 75,21 % chez les souris du lot témoin négatif stressées. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 75,21 % chez les souris du lot témoin négatif a diminué significativement chez les souris traitées au diazépam de 13,67 % ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de 31,61 % ; 18,38 % et 7,43 % (Figure 61B).



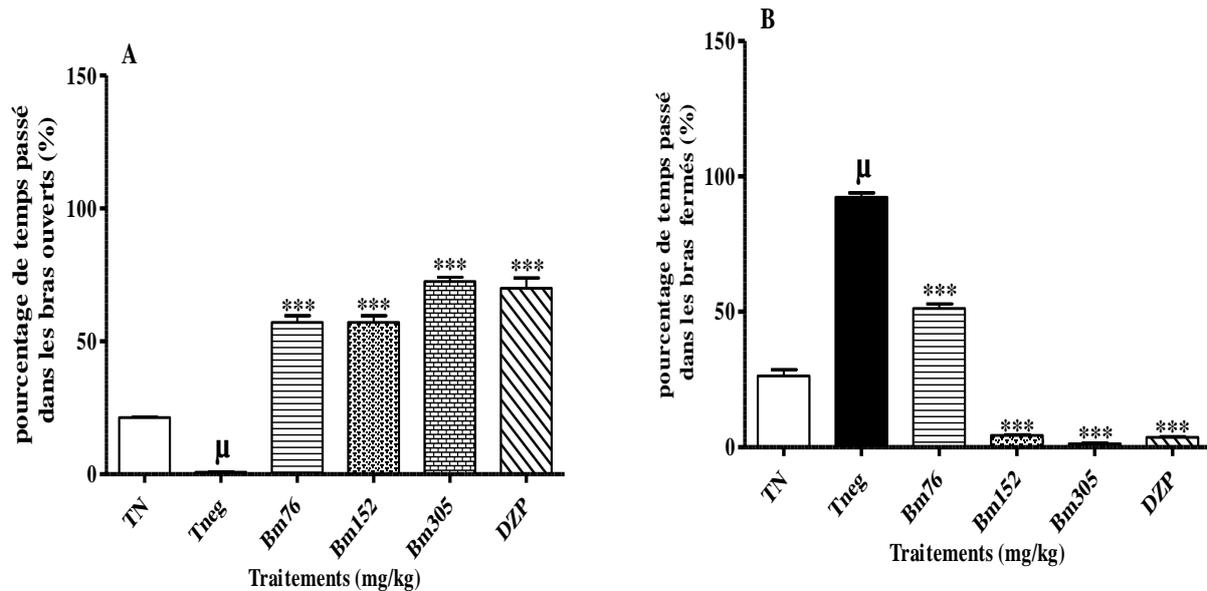
**Figure 61 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** (A) : le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B): le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg: témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée; Bm 76: groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152: groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante; Bm 305: groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 21,27 % chez les souris du lot témoin normal non stressées est passé à 0,73 % chez les souris du lot témoin négatif stressées. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'induction du stress par simple séparation maternelle et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe de 0,73 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 57,13 % ; 57,13 % et 72,53 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg et à 70,00 % chez celles traitées au diazépam (Figure 62A).

Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 26,33 % chez les souris du lot témoin normal non stressées est passé à 92,33 % chez les animaux du lot témoin négatif stressés. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de

*Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'induction du stress par simple séparation maternelle et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une diminution significative du pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe. Ce pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 92,33 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 51,27 % ; 4,40 % et 1,27 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 3,73 % chez les souris traitées au diazépam (Figure 62B).



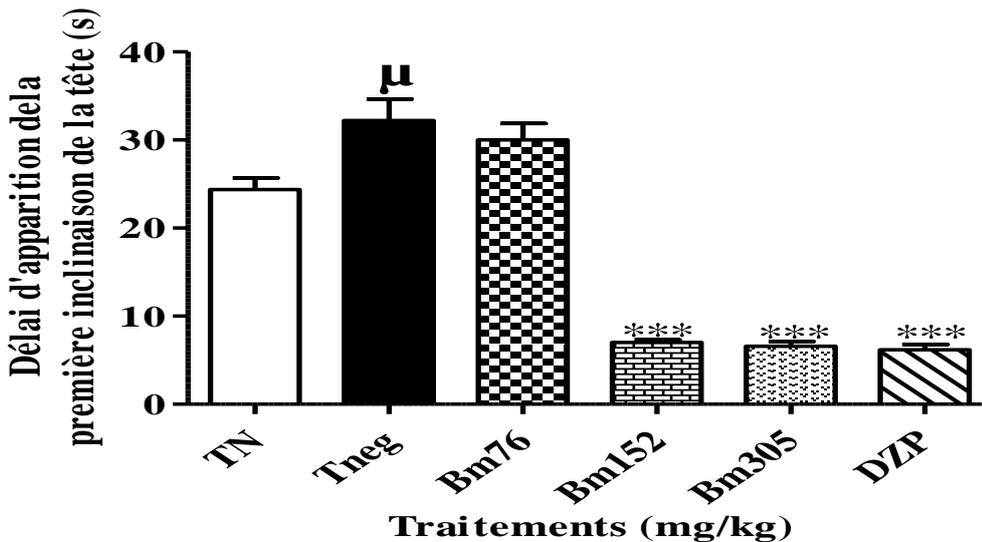
**Figure 62 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** (A) : le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. (B) : le pourcentage de temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  : p<0,001, comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\* p< 0,001, différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-2-3- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur le stress induit par la séparation maternelle (SM) des souris dans la planche à trous

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête

La séparation maternelle a significativement augmenté de 31,97 % le temps d'apparition de la première inclinaison de la tête chez les souris du lot témoin négatif ( $32,20 \pm 2,44$  s) par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées ( $24,40 \pm 1,28$  s). Le

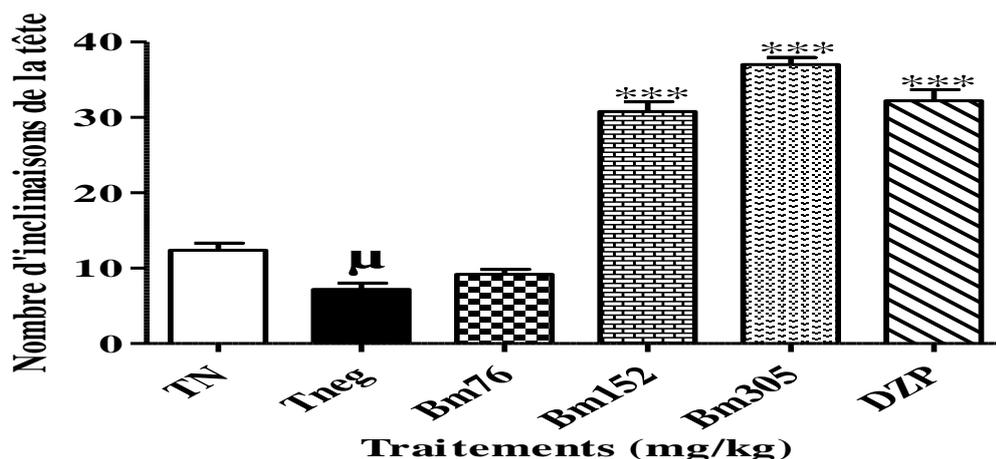
traitement à l'extrait de plante pendant l'induction du stress a diminué le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête de  $32,20 \pm 2,44$  s chez les souris du lot témoin négatif à  $30,00 \pm 1,87$  s ;  $7,00 \pm 0,32$  s et  $6,60 \pm 0,51$  s chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (2 mg/kg) a également induit une diminution significative du temps d'apparition de la première inclinaison de la tête à  $6,20 \pm 0,58$  s par rapport aux souris témoin négatif (Figure 63).



**Figure 63: Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le délai d'apparition de la première inclinaison de la tête dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant subi le stress+ 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,01$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'inclinaisons de la tête**

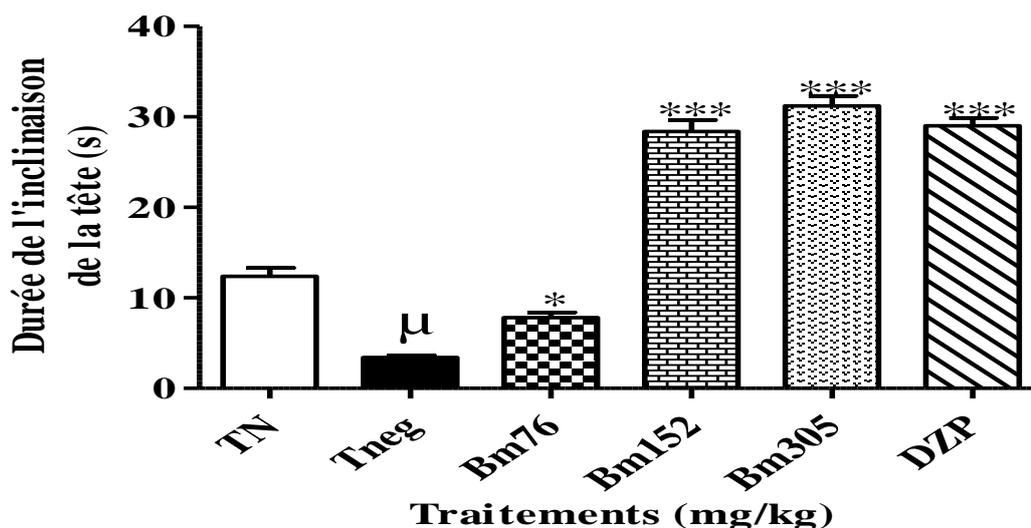
La figure 64 montre une diminution significative de 41,93 % ( $p < 0,01$ ) du nombre d'inclinaisons de la tête dans la planche à trous après le stress de la séparation maternelle chez les souris du lot témoin négatif ( $7,20 \pm 0,80$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées ( $12,40 \pm 0,93$ ). Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $7,20 \pm 0,80$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $9,20 \pm 0,66$  ;  $30,80 \pm 1,28$  et  $37,00 \pm 0,95$  chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam a également augmenté le nombre d'inclinaisons de la tête à  $32,20 \pm 1,50$  à la dose de 2 mg/kg par rapport aux souris du lot témoin négatif.



**Figure 64 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'inclinaisons de la tête dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,05$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée de l'inclinaison de la tête**

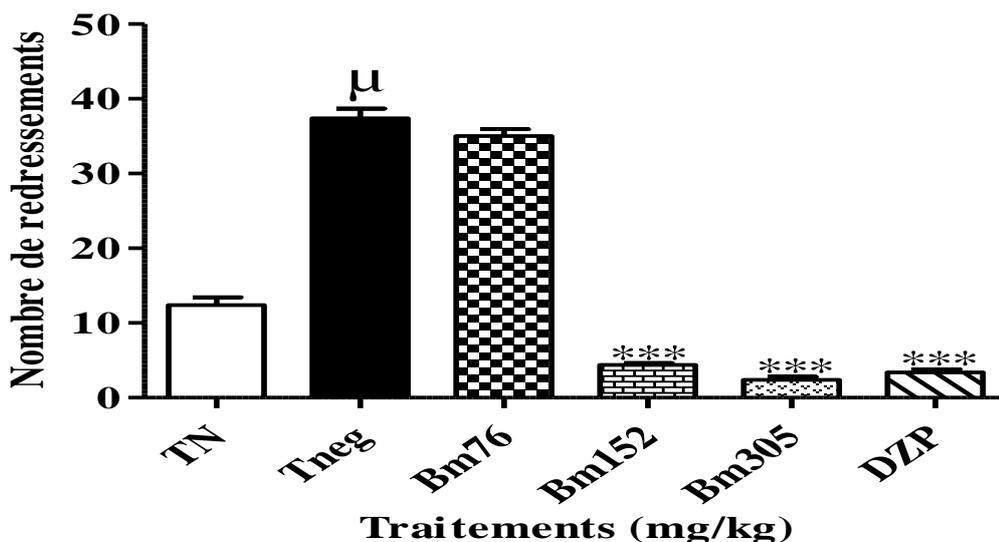
La durée de l'inclinaison de la tête dans la planche à trous a significativement ( $p < 0,001$ ) diminué de 72,58 % après le stress de la séparation maternelle chez les souris du lot témoin négatif ( $3,40 \pm 0,24$  s) par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas été stressées ( $12,40 \pm 0,93$  s). La durée de l'inclinaison de la tête de  $3,40 \pm 0,24$  s chez les souris du lot témoin négatif est passée à  $7,80 \pm 0,58$  s,  $28,40 \pm 1,25$  s et  $31,20 \pm 1,11$  s chez les souris traitées aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (2 mg/kg) a augmenté la durée de l'inclinaison de la tête à  $29,00 \pm 0,89$  s par rapport aux souris du lot témoin négatif (Figure 65).



**Figure 65 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée de l'inclinaison de la tête dans la planche trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*  $p < 0,05$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements

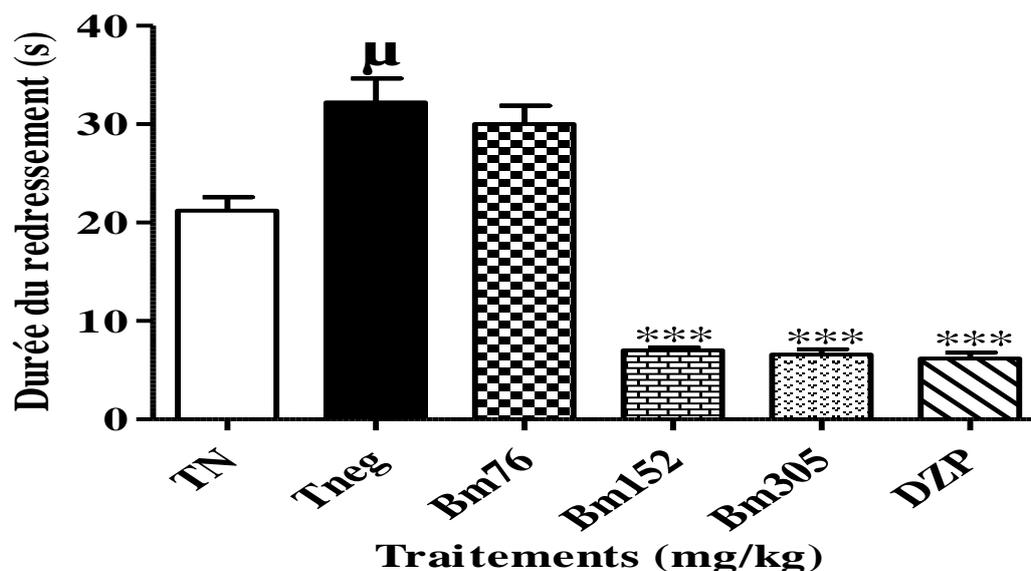
Le nombre de redressements dans la planche à trous a significativement augmenté après le stress de la séparation maternelle chez les souris du lot témoin négatif ( $37,40 \pm 1,28$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $12,40 \pm 1,03$ ) qui n'ont pas été stressées. Le nombre de redressements de  $37,40 \pm 1,28$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $35,00 \pm 0,95$  ;  $4,40 \pm 0,24$  et  $2,40 \pm 0,40$  chez les souris traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre de redressements a diminué à  $3,40 \pm 0,40$  chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) par rapport au lot témoin négatif (Figure 66).



**Figure 66 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée du redressement

La figure 67 montre une augmentation significative de 51,89 % de la durée du redressement dans la planche à trous après le stress de la séparation maternelle chez les souris du lot témoin négatif ( $32,20 \pm 2,44$  s) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $21,20 \pm 1,39$  s) qui n'ont pas été stressées. La durée du redressement de  $32,20 \pm 2,44$  s chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $30,00 \pm 1,87$  s ;  $7,00 \pm 0,32$  s et  $6,60 \pm 0,51$  s chez les souris traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. La durée du redressement a diminué significativement à  $6,20 \pm 0,58$  s chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) par rapport aux animaux du témoin négatif.

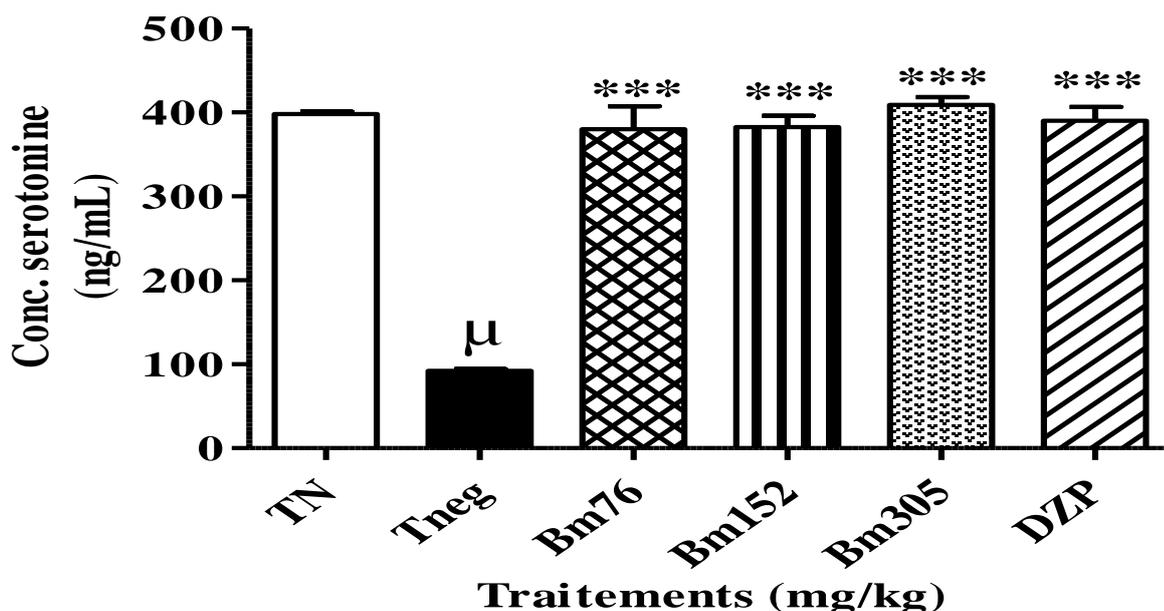


**Figure 67 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la durée du redressement dans la planche à trous chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-2-4- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur les taux plasmatiques de sérotonine et de corticostérone chez les souris soumises au stress de la séparation maternelle

#### ➤ Effets sur le taux de sérotonine plasmatique

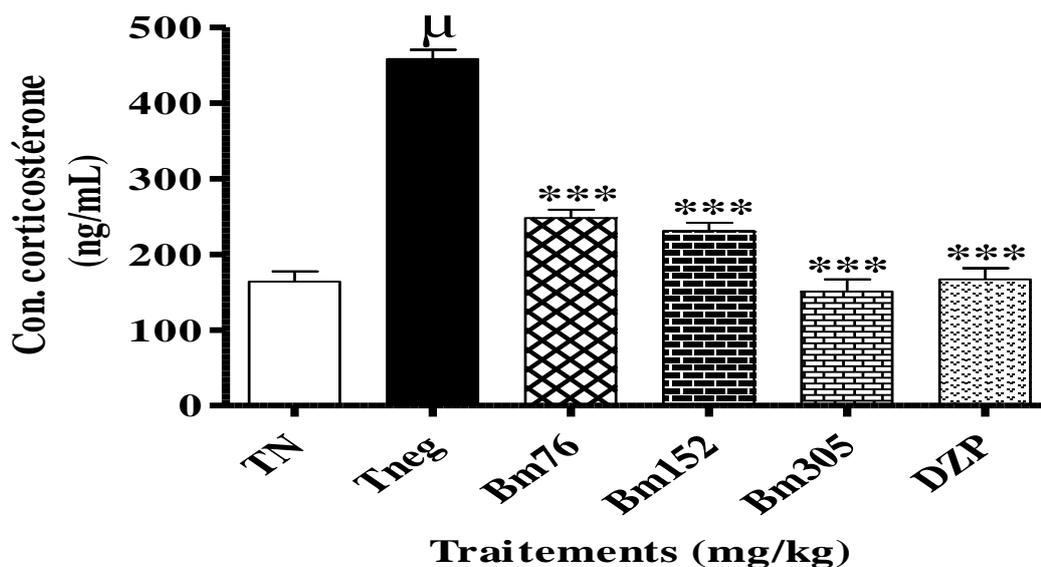
Le stress de la séparation maternelle a entraîné une diminution significative de 76,88 % ( $p < 0,001$ ) de la concentration plasmatique de la sérotonine chez les souris du lot témoin négatif stressées ( $92,07 \pm 2,11$  ng/mL) comparativement aux souris du lot témoin normal non stressées ( $398,20 \pm 2,89$  ng/mL). La concentration plasmatique de la sérotonine de  $92,07 \pm 2,11$  ng/mL chez le témoin négatif est passée à  $380,10 \pm 27,06$  ng/mL à la dose de 76 mg/kg,  $382,40 \pm 13,58$  ng/mL à la dose de 152 mg/kg et  $408,90 \pm 9,38$  ng/mL à la dose de 305 mg/kg (Figure 68). Le diazépam (2 mg/kg) a également induit une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de la concentration plasmatique de la sérotonine de  $390,00 \pm 16,60$  ng/mL par rapport au témoin négatif.



**Figure 68 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le taux de sérotonine plasmatique chez les souris après le stress de la séparation maternelle.** TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$  différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets sur le taux de corticostérone

La figure 69 illustre les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le taux de corticostérone plasmatique des souris ayant été soumises au stress de la séparation maternelle simple (SM) juste après leur naissance. La concentration plasmatique de la corticostérone du témoin négatif stressé et non traité était de  $457,90 \pm 12,47$  ng/mL contre  $163,70 \pm 13,55$  ng/mL chez le témoin normal non stressé. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué une diminution significative de la concentration plasmatique de la corticostérone par rapport au témoin négatif. La concentration plasmatique de la corticostérone de  $457,90 \pm 12,47$  ng/mL chez le témoin négatif est passé à  $248,00 \pm 11,04$  ng/mL ;  $230,80 \pm 10,68$  ng/mL et  $150,60 \pm 16,41$  ng/mL chez les souris traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit par rapport au témoin négatif une diminution significative de la concentration plasmatique de corticostérone de 63,66 % ( $166,40 \pm 15,07$  ng/mL).

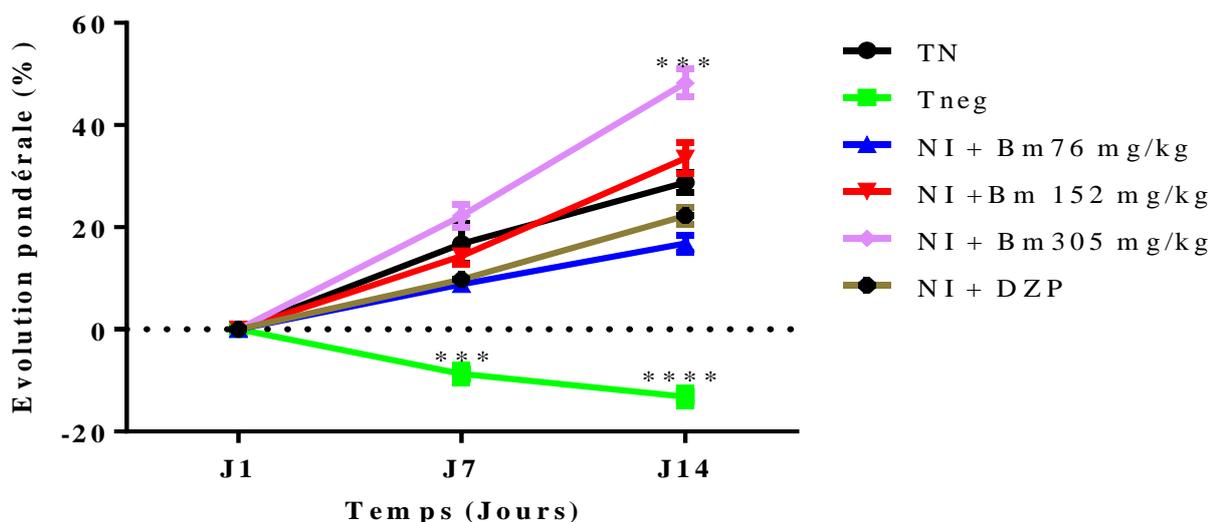


**Figure 69 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le taux de corticostérone plasmatique chez les souris soumises à la séparation maternelle.** TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant subi le stress + eau distillée ; Bm76 : groupe ayant subi le stress + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm152 : groupe ayant subi le stress + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm305 : groupe ayant subi le stress + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant subi le stress + 2 mg/kg de diazépam. μ :  $p < 0,001$  ; comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-3- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* après administration subchronique de nicotine pendant 14 jours

#### III-1-3-3-1- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris traitées à la nicotine pendant 14 jours

La figure 70 montre les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris traitées à la nicotine pendant 14 jours. Il ressort que l'administration de la nicotine a induit chez le témoin négatif une diminution significative du poids corporel de 13,14 % au 14<sup>ième</sup> jour comparativement au témoin normal non stressé. Le poids corporel chez le témoin positif traité à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) a augmenté de 22,21 % comparé au témoin négatif au 14<sup>ième</sup> jour. Chez les souris qui ont reçu la nicotine (1,5 mg/kg) puis l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et de 305 mg/kg, il a été observé une augmentation significative du poids corporel de 16,84 % ; 33,50 % et de 48,23 % au jour 14 comparée aux souris du lot témoin négatif stressées et non traitées.



**Figure 70 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris traitées à la nicotine (1,5 mg/kg) pendant 14 jours.** Les points représentent les gains pondéraux moyens  $\pm$  ESM, n=5. \*\*\*p<0,001 ; \*\*\*\*p<0,0001, différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

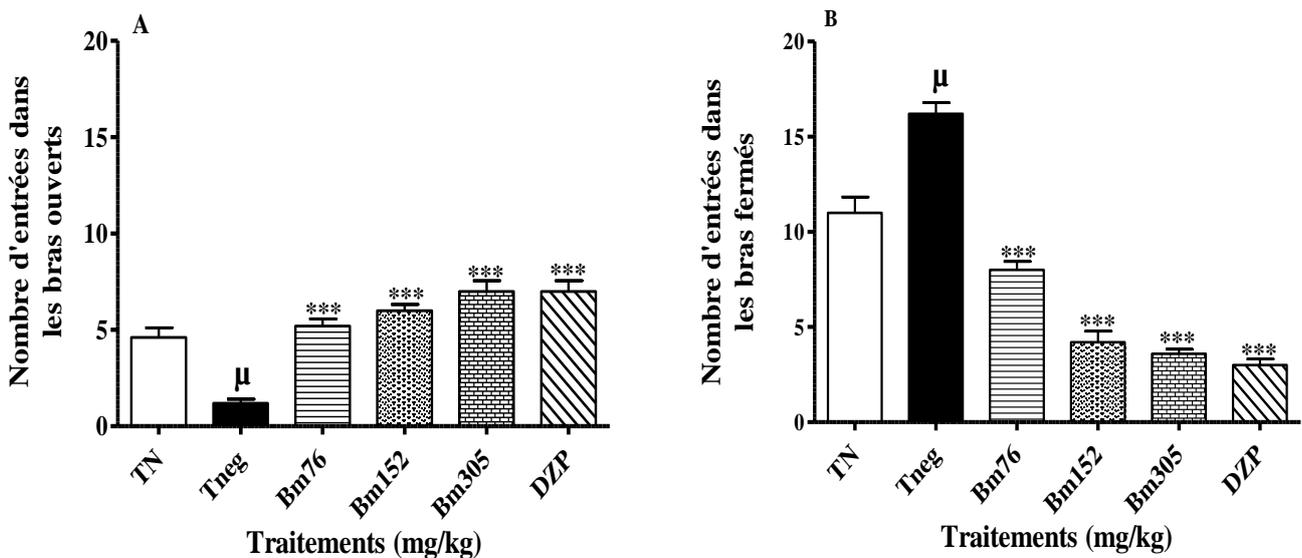
### III-1-3-3-2- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur les paramètres comportementaux des souris dans le labyrinthe en croix surélevé après une administration subchronique de la nicotine

#### ➤ Effets sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

L'administration répétée de la nicotine (1,5 mg/kg) pendant 14 jours a induit une diminution significative de 73,91 % (p<0,001) du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux animaux du lot témoin normal qui n'ont pas reçu la nicotine. Chez les souris qui ont reçu la nicotine et le diazépam (2 mg/kg) ou l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* (76, 152 et 305 mg/kg) et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe. Le nombre d'entrées dans les bras ouverts de  $1,20 \pm 0,20$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $5,20 \pm 0,37$  ;  $6,00 \pm 0,32$  et  $7,00 \pm 0,55$  aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à  $7,00 \pm 0,55$  chez les souris traitées au diazépam (Figure 71A).

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif stressés et non traités une augmentation significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé ( $16,20 \pm 0,58$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $11,00 \pm 0,84$ ). La figure 71B montre une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe chez les souris traitées à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux

de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg par rapport au lot témoin négatif. Le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de  $16,20 \pm 0,58$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $8,00 \pm 0,45$  ;  $4,20 \pm 0,58$  et  $3,60 \pm 0,24$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 81,48 % ( $3,00 \pm 0,32$ ) par rapport au témoin négatif.

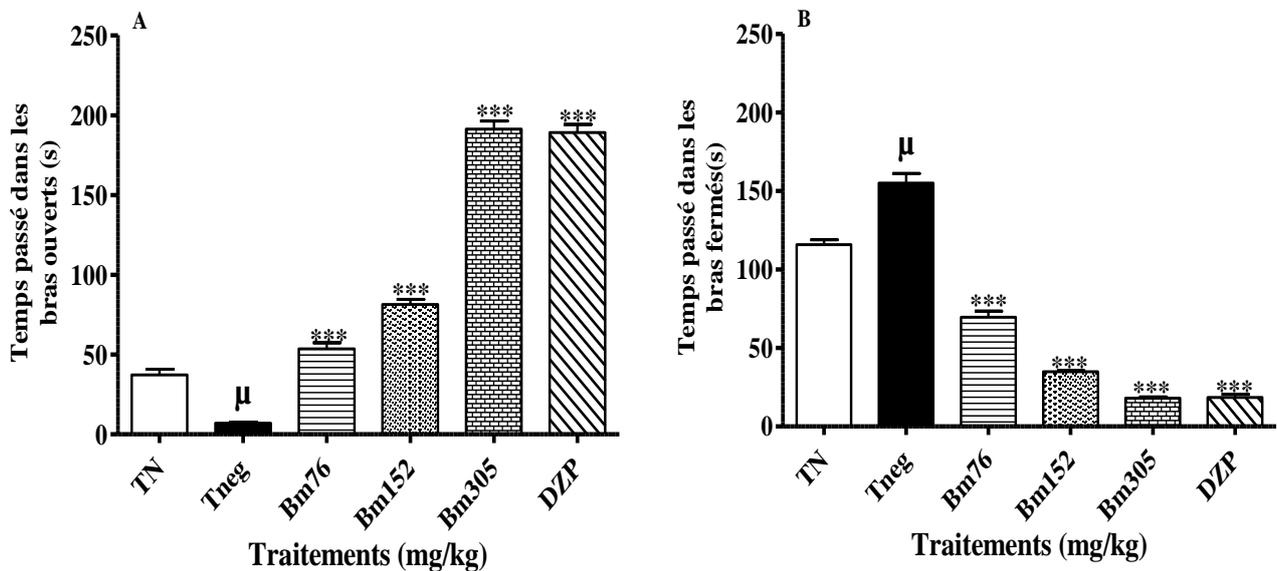


**Figure 71 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de nicotine pendant 14 jours.** (A) : le nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B) : le nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$  différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### ➤ Effets sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

La figure 72A montre une diminution significative de 81,28 % ( $p < 0,001$ ) du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe chez les souris du lot témoin négatif comparativement aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas reçu la nicotine. Chez les souris traitées à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Ce temps de  $7,00 \pm 0,55$  s chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $53,60 \pm 3,88$  s ;  $81,40 \pm 3,19$  s et  $191,40 \pm 4,92$  s chez les souris traitées aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à  $189,20 \pm 4,88$ s chez les souris traitées au diazépam.

Il a été observé chez les animaux du lot témoin négatif une élévation significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 33,85 % par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas reçu de nicotine (figure 72B). Le temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de  $115,80 \pm 3,02$  s chez les animaux du lot témoin normal est passé à  $155,00 \pm 6,12$  s chez les souris du lot témoin négatif. Chez les animaux ayant reçu pendant la période expérimentale l'extrait de plante et la nicotine, il a été observé une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin négatif. Le temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de  $155,00 \pm 6,12$  s chez le témoin négatif est passé à  $69,40 \pm 3,98$  s ;  $34,80 \pm 0,66$  s et à  $18,00 \pm 0,71$  s respectivement aux doses de 76, 152 et 305 mg/kg de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du temps mis dans les bras fermés du labyrinthe à  $18,40 \pm 1,96$  s.



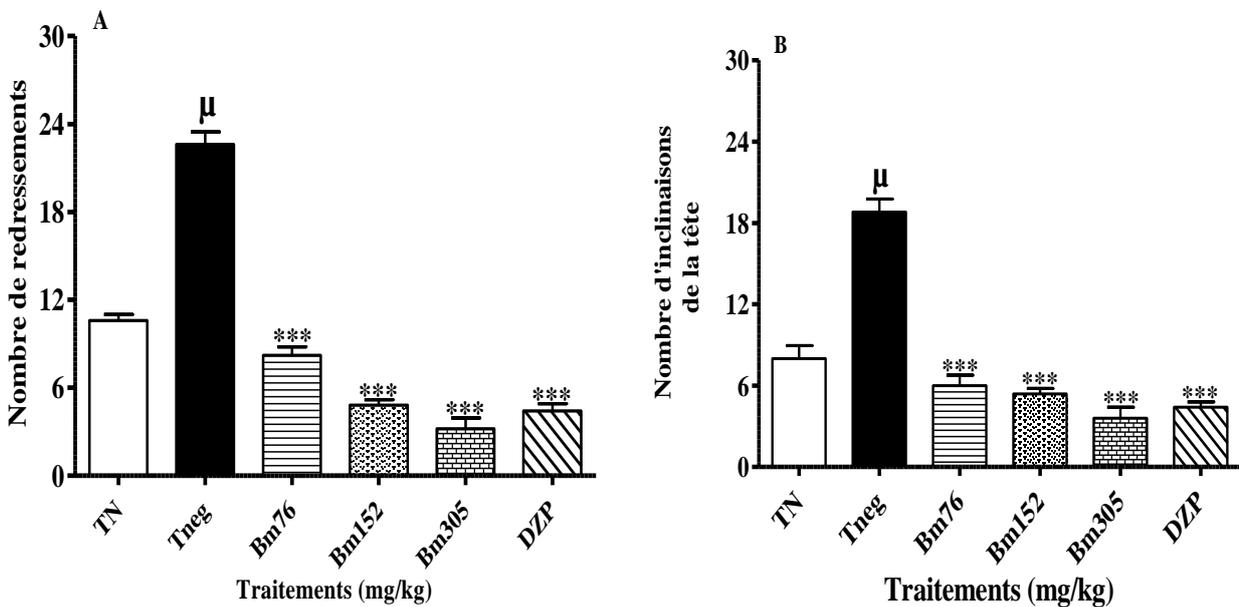
**Figure 72 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** (A) : le temps passé dans les bras ouverts. (B) : le temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n=5$  pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p<0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p<0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### ➤ Effets sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

L'administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours a induit une augmentation significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé

chez les animaux du lot témoin négatif ( $22,60 \pm 0,87$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas reçu de nicotine ( $10,60 \pm 0,40$ ) (Figure 73A). Le nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe de  $22,60 \pm 0,87$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $8,20 \pm 0,58$  ;  $4,80 \pm 0,37$  et  $3,20 \pm 0,73$  chez les animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a induit une diminution significative du nombre de redressements dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé à  $4,40 \pm 0,51$ .

La figure 73B montre une augmentation significative du nombre d'inclinaisons de la tête chez les souris du lot témoin négatif ( $18,80 \pm 0,97$ ) par rapport aux animaux du lot témoin normal ( $8,00 \pm 0,95$  qui n'ont pas reçu de nicotine). Le nombre d'inclinaisons de la tête de  $18,80 \pm 0,97$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $6,00 \pm 0,77$  ;  $5,40 \pm 0,40$  et  $3,60 \pm 0,81$  chez les animaux traités respectivement aux doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre d'inclinaisons de la tête était de  $4,40 \pm 0,40$  chez celles traitées au diazépam (2 mg/kg).



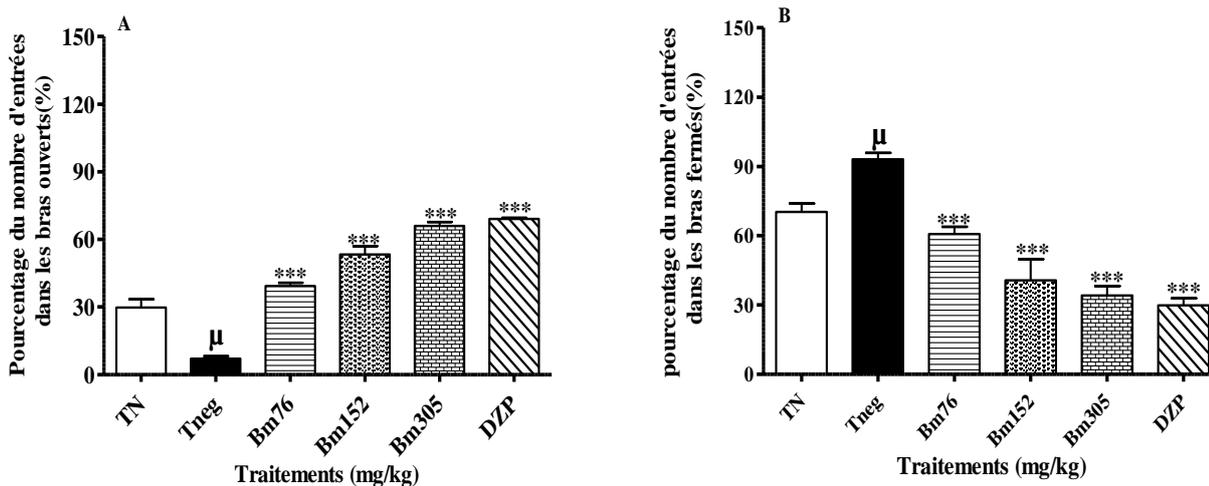
**Figure 73 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements et d'inclinaisons de la tête dans le labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.**

(A) : le nombre de redressements. (B) : le nombre d'inclinaisons de la tête. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé**

La figure 74A montre que le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé de 29,78 % chez les souris du lot témoin normal est passé à 7,05 % chez les souris du lot témoin négatif qui ont reçu la nicotine. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les souris traitées à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en comparaison au lot témoin négatif. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 7,05 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 39,32 % ; 53,33 % et 65,91 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam a induit un pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe de 69,03%.

Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé de 70,22 % chez les animaux du lot témoin normal est passé à 93,06 % chez les souris du lot témoin négatif qui ont reçu la nicotine. Ce pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe de 93,06 % chez les souris du lot témoin négatif a diminué significativement chez les souris traitées à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) à 29,82 % ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg à 60,68 % ; 40,61 % et 34,09 % (Figure 74B).



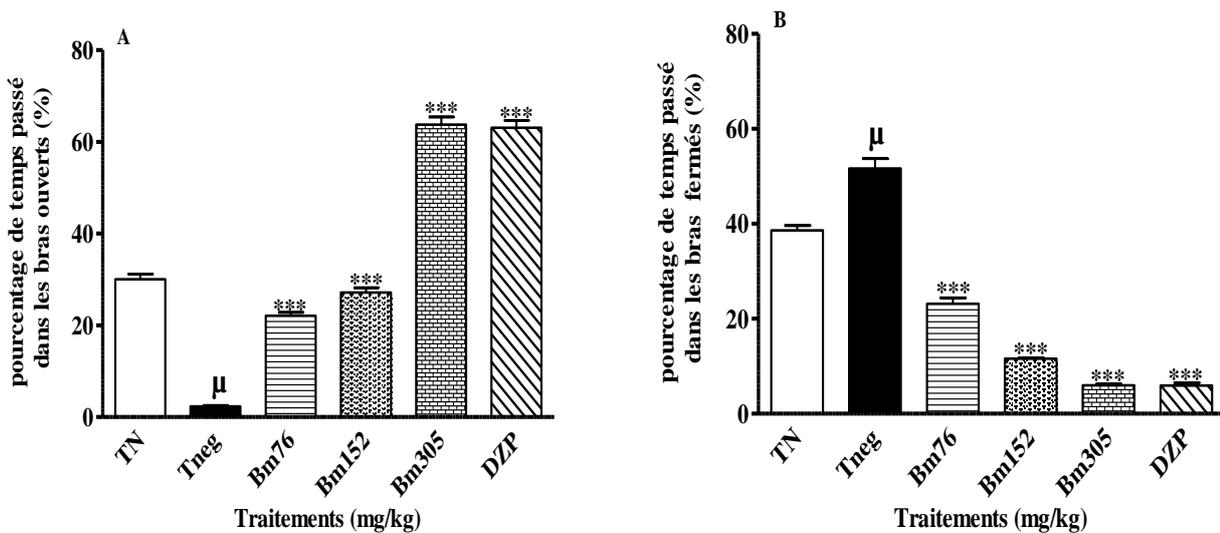
**Figure 74 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** (A) : le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts. (B) : le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets sur le pourcentage de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé

L'administration subchronique de la nicotine a diminué de manière significative le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal qui n'ont pas reçu la nicotine. Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe de 30,07 % chez les animaux du lot témoin normal est passé à 2,33 % chez les souris du lot témoin négatif. Chez les souris traitées à la nicotine et au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'administration de la nicotine et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe. Le pourcentage de temps mis dans les bras ouverts du labyrinthe de 2,33 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 22,07 % ; 27,13 % et 63,80 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 63,80 % chez celles traitées au diazépam (Figure 75A).

Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe a augmenté significativement chez les animaux du lot témoin négatif ayant reçu la nicotine par rapport aux souris du lot témoin normal non stressées. Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 38,60 % chez les animaux du lot témoin normal est passé à 51,67 % chez les

souris du lot témoin négatif. Chez les souris traitées au diazépam (2 mg/kg) ou à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg pendant l'administration de la nicotine et en comparaison au lot témoin négatif, il a été observé une diminution significative du pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe. Le pourcentage de temps mis dans les bras fermés du labyrinthe de 51,67 % chez les souris du lot témoin négatif est passé à 23,13 % ; 11,60 % et 6,00 % aux doses respectives de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et à 5,93 % chez celles traitées au diazépam (75B).



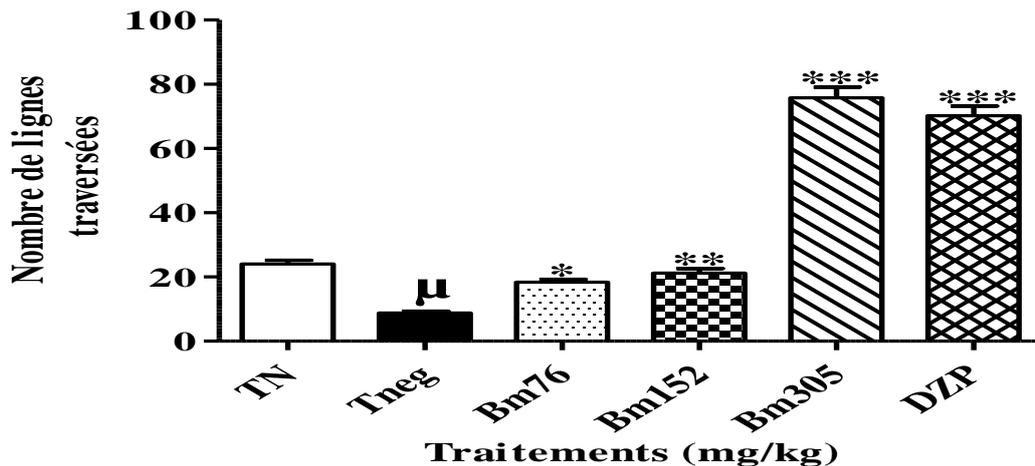
**Figure 75 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et fermés du labyrinthe en croix surélevé chez les souris après un stress subchronique de 14 jours induit par la nicotine.** (A) : le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts. (B) : le pourcentage de temps passé dans les bras fermés. Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP: témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-3-3-3- Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur les paramètres comportementaux des souris dans l'arène ouverte après une administration subchronique de la nicotine

#### ➤ Effets sur le nombre de lignes traversées

La figure 76 montre les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* après une administration subchronique de nicotine pendant 14 jours. L'administration de la nicotine (1,5 mg/kg) aux souris pendant 14 jours consécutives a provoqué une diminution significative du nombre de lignes traversées chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot

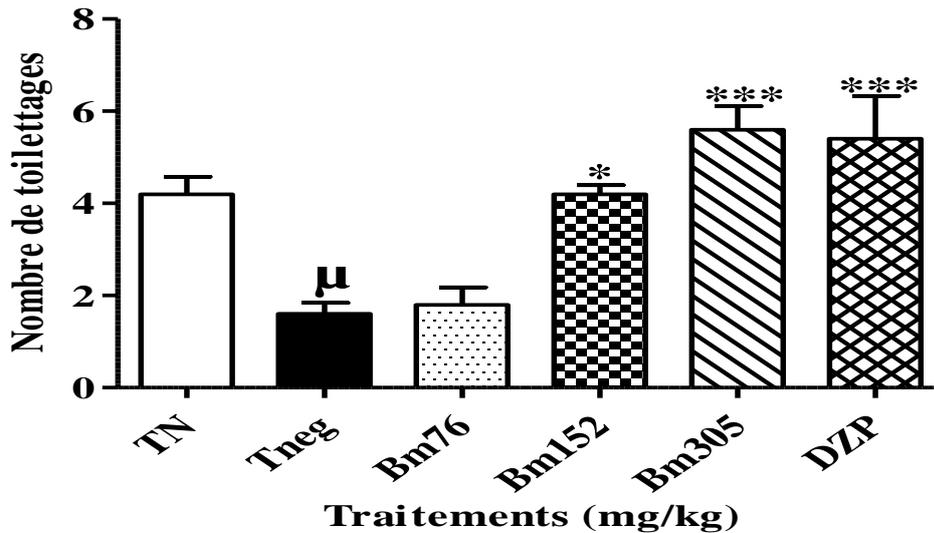
témoin normal. Le nombre de lignes traversées de  $24,00 \pm 1,22$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $8,80 \pm 0,58$  chez les souris du lot témoin négatif, soit une réduction de 63,33 %. Le nombre de lignes traversées de  $8,80 \pm 0,58$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $18,40 \pm 0,93$  ;  $21,20 \pm 1,39$  ; et  $75,80 \pm 3,30$  chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a augmenté le nombre de lignes traversées à  $70,20 \pm 2,99$ .



**Figure 76 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de lignes traversées après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### ➤ Effets sur le nombre de toilettages

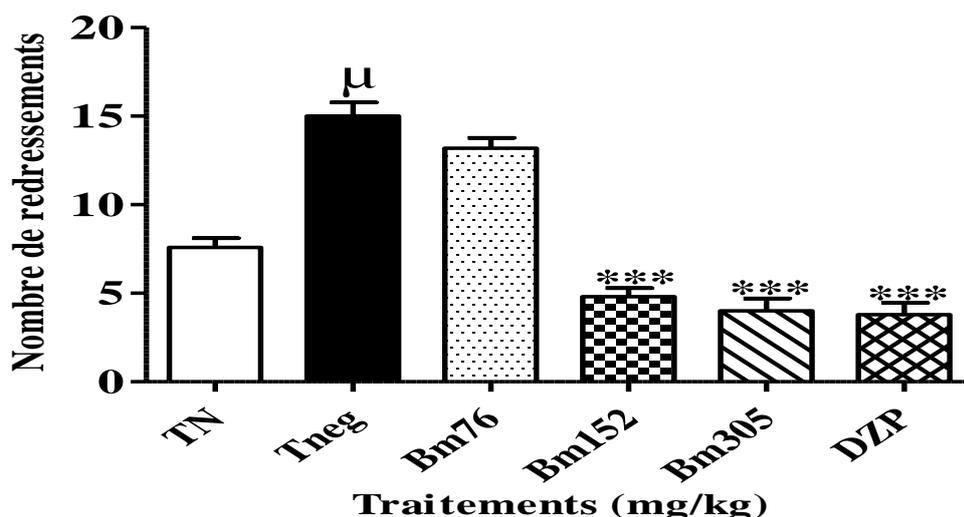
L'administration de la nicotine (1,5 mg/kg) aux souris pendant 14 jours consécutifs a provoqué une diminution significative du nombre de toilettages chez les souris du lot témoin négatif par rapport aux souris du lot témoin normal. Le nombre de toilettages de  $4,20 \pm 0,37$  chez les souris du lot témoin normal est passé à  $1,60 \pm 0,24$  chez les souris du lot témoin négatif, soit une réduction de 61,90 %. Le nombre de toilettages de  $1,60 \pm 0,24$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $1,80 \pm 0,37$  ;  $4,20 \pm 0,20$  et  $5,60 \pm 0,51$  chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam utilisé dans les mêmes conditions expérimentales que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a induit une augmentation significative du nombre de toilettages à  $5,40 \pm 0,93$  par rapport aux animaux du lot témoin négatif (Figure 77).



**Figure 77 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de toilettings après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,05$ , comparaison entre TN et Tneg ; \* $p < 0,05$  ; \*\*\*  $p < 0,001$  différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets sur le nombre de redressements

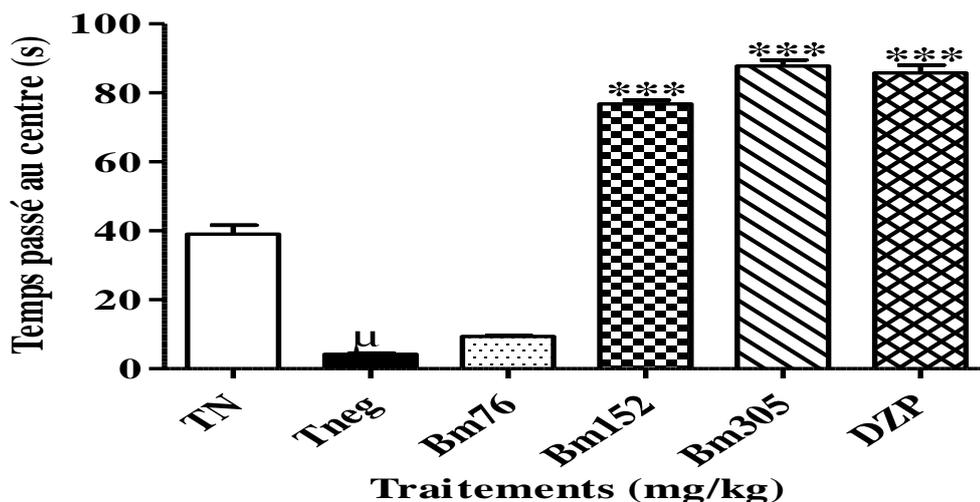
La figure 78 montre que le nombre de redressements des souris dans l'arène ouverte après une administration subchronique de nicotine pendant 14 jours a augmenté de manière significative de 97,37 % chez les souris du lot témoin négatif ( $15,00 \pm 0,77$ ) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $7,60 \pm 0,51$ ) qui n'ont pas reçu la nicotine. Le nombre de redressements de  $15,00 \pm 0,77$  chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $13,20 \pm 0,58$  ;  $4,80 \pm 0,49$  et  $4,00 \pm 0,71$  chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le nombre de redressements était de  $3,80 \pm 0,66$  chez les souris traitées au diazépam à la dose de 2 mg/kg.



**Figure 78 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le nombre de redressements après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$  :  $p < 0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

➤ **Effets sur le temps passé au centre de l'arène ouverte**

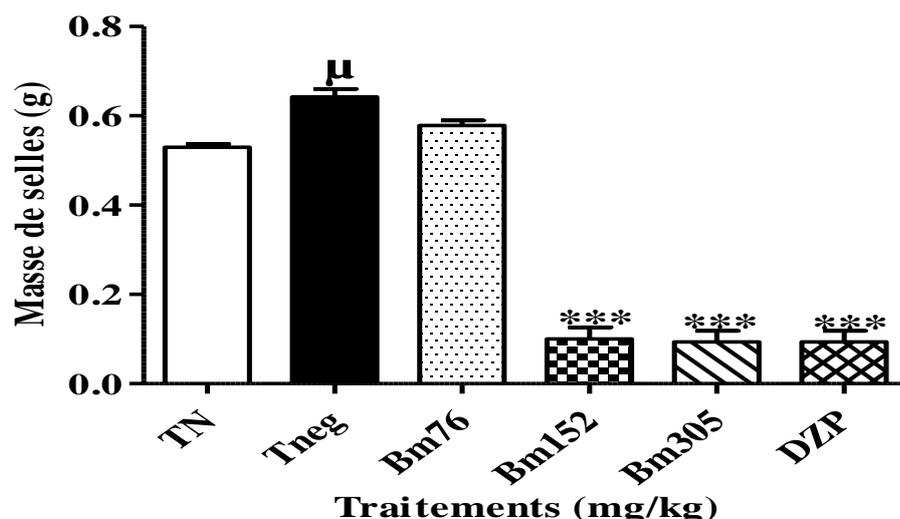
La figure 79 montre que la prise répétée de la nicotine pendant 14 jours a induit une diminution significative de 89,23 % du temps passé au centre de l'arène ouverte chez les souris du lot témoin négatif ( $4,20 \pm 0,37$  s) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $39,00 \pm 2,61$ ) qui n'ont pas reçu la nicotine. Le temps mis au centre de l'arène ouverte de  $4,20 \pm 0,37$  s chez les souris du lot témoin négatif est passé à  $9,40 \pm 0,24$  s ;  $76,80 \pm 1,07$  s et  $87,80 \pm 1,71$  s chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le traitement des souris au diazépam à la dose (2 mg/kg) a également augmenté significativement ce temps à  $85,80 \pm 2,20$  s.



**Figure 79 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le temps passé au centre de l'arène ouverte après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM,  $n=5$  pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p<0,001$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p<0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### ➤ Effets sur la masse de selles produites

La figure 80 montre une augmentation significative de 21,13 % de la masse de selles produites dans l'arène ouverte après une prise répétée en dose quotidienne unique de la nicotine pendant 14 jours chez les souris du lot témoin négatif ( $0,64 \pm 0,02$  g) par rapport aux souris du lot témoin normal ( $0,53 \pm 0,01$  g) qui n'ont pas reçu la nicotine. La masse de selles produites par les souris du lot témoin négatif de  $0,64 \pm 0,02$  g est passé à  $0,58 \pm 0,01$  g ;  $0,10 \pm 0,03$  g et  $0,09 \pm 0,02$  g chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg. Le diazépam (2 mg/kg) a entraîné une diminution de la masse de selles à  $0,09 \pm 0,02$  g.



**Figure 80 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur la masse de selles produites après une administration subchronique de la nicotine pendant 14 jours.** Chaque barre représente la moyenne  $\pm$  ESM, n=5 pour chaque groupe d'animaux. TN : témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : lot ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam.  $\mu$ :  $p < 0,01$ , comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\*  $p < 0,001$ , différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

#### III-1-3-3-4- Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur quelques marqueurs cérébraux du stress oxydant chez les animaux traités à la nicotine pendant 14 jours

##### ➤ Effets sur le taux de malondialdéhyde

Le tableau VII montre que l'administration de la nicotine (1,5 mg/kg) pendant 14 jours a induit une augmentation significative du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le tissu cérébral chez le témoin négatif par rapport au témoin normal. La concentration tissulaire de MDA de  $2,99 \pm 0,09$  mM/g de tissu dans le lot témoin normal est passée à  $4,98 \pm 0,28$  mM/g de tissu chez le témoin négatif, soit une augmentation de 66,43 %. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* tout comme le diazépam a protégé significativement les animaux contre cette hausse du taux de MDA dans le tissu cérébral. Par rapport au témoin négatif, il a été observé une diminution du taux de MDA de 38,02 % à la dose de 76 mg/kg ; 54,25 % à la dose de 152 mg/kg et de 64,82 % à la dose de 305 mg/kg. Le diazépam a induit par rapport au témoin négatif une baisse du taux de MDA de 49,81 %.

### ➤ Effets sur l'activité de la superoxyde dismutase

L'administration de la nicotine (1,5 mg/kg) pendant 14 jours a entraîné une diminution significative de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le cerveau chez le témoin négatif de 59,64 % par rapport aux souris du lot témoin normal. Chez les souris qui ont reçu pendant la période expérimentale la nicotine et l'extrait de plante, il a été observé par rapport au témoin négatif, une augmentation de l'activité de la SOD de 157,83 % à la dose de 76 mg/kg ; 158,63 % à la dose de 152 mg/kg et de 255,82 % à la dose de 305 mg/kg. Le diazépam a induit par rapport au témoin négatif une augmentation significative de l'activité de la SOD de 163,05 % (Tableau VII).

### ➤ Effets sur l'activité de la catalase

L'activité de la catalase exprimée en mmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/g de tissu de 10,140 ± 0,018 chez les souris du lot témoin normal est passée à 4,595 ± 0,092 chez les animaux traités à la nicotine pendant 14 jours. Chez les souris qui ont reçu la nicotine en même temps que l'extrait de plante, l'activité de la catalase a augmenté significativement dans le tissu cérébral comparativement au lot témoin négatif. L'augmentation de l'activité de la catalase était de 99,10 % à la petite dose de 76 mg/kg ; 155,71 % à la dose de 152 mg/kg et de 240,15 % à la forte dose de 305 mg/kg par rapport au lot témoin négatif. Le diazépam a également induit une augmentation significative de l'activité de la catalase de 210,11 % (Tableau VII).

### ➤ Effets sur le glutathion réduit

Le taux de glutathion réduit (GSH) exprimé en mmole/g de tissu est passé de 85,55 ± 1,28 dans le lot témoin normal à 45,07 ± 0,64 chez le témoin négatif. Chez les souris traitées concomitamment à la nicotine et à l'extrait de plante, il a été observé par rapport au témoin négatif une hausse significative (p<0,001) du taux de glutathion réduit à toutes les doses (Tableau VII). Le diazépam a également induit par rapport au témoin négatif une augmentation significative du taux tissulaire de GSH.

### ➤ Effets sur le taux de nitrites

Chez les animaux qui ont reçu uniquement de la nicotine (1,5 mg/kg) pendant 14 jours, le taux de nitrites dans le tissu cérébral a diminué de 78,20 % par rapport au lot témoin normal. L'extrait de plante administré concomitamment avec la nicotine a protégé les animaux contre

cette baisse tissulaire du taux de nitrites. Par rapport au témoin négatif, il a été observé une augmentation significative du taux de nitrites chez les souris qui ont reçu la nicotine et l'extrait de plante. Le diazépam a également induit par rapport au témoin négatif une hausse du taux de nitrites (Tableau VII).

➤ **Effets sur le taux de protéines dans le tissu cérébral**

L'administration répétée de la nicotine pendant 14 jours a provoqué au niveau du tissu cérébral une diminution significative du taux de protéines chez le témoin négatif. Le taux cérébral de protéines de  $0,744 \pm 0,008$  mg/mL dans le lot témoin normal est passé à  $0,446 \pm 0,007$  mg/mL chez le témoin négatif. L'administration de l'extrait de plante a protégé les souris à toutes les doses contre la diminution du taux cérébral de protéines. Le diazépam (2 mg/kg) a augmenté par rapport au témoin négatif la concentration tissulaire des protéines (Tableau VII).

**Tableau VII :** Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres du stress oxydant dans le cerveau des animaux traités à la nicotine pendant 14 jours

	<b>TN</b>	<b>Tneg</b>	<b>Bm76</b>	<b>Bm152</b>	<b>Bm305</b>	<b>DZP</b>
<b>Protéines (mg/mL)</b>	0,744 ± 0,008	0,446 ± 0,007 <sup>μ</sup>	0,628 ± 0,012***	0,817 ± 0,027***	0,960 ± 0,028***	0,877 ± 0,029***
<b>SOD (Unité de SOD/g d'organes)</b>	0,617 ± 0,049	0,249 ± 0,003 <sup>μ</sup>	0,642 ± 0,034***	0,644 ± 0,021***	0,886 ± 0,038***	0,655 ± 0,050***
<b>MDA (mmol/g de tissu)</b>	2,991 ± 0,093	4,978 ± 0,277 <sup>μ</sup>	3,085 ± 0,065***	2,277 ± 0,132***	1,751 ± 0,034***	2,498 ± 0,083***
<b>GSH (mmol/g de tissu)</b>	85,550 ± 1,285	45,070 ± 0,643 <sup>μ</sup>	64,490 ± 2,298***	91,470 ± 4,094***	107,000 ± 0,158***	103,700 ± 0,068***
<b>Catalase (mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/g)</b>	10,140 ± 0,018	4,595 ± 0,092 <sup>μ</sup>	9,149 ± 0,049***	11,750 ± 0,088***	15,630 ± 0,190***	14,250 ± 0,137***
<b>Nitrite (mM)</b>	0,043 ± 0,003	0,009 ± 0,001 <sup>μ</sup>	0,037 ± 0,003***	0,061 ± 0,004***	0,082 ± 0,006***	0,046 ± 0,003***

Les valeurs sont estimées en moyenne ± ESM pour chaque groupe d'animaux, n = 5. TN : Témoin normal ; Tneg : témoin négatif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + eau distillée ; Bm 76 : groupe ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 76 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 152 : groupe ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 152 mg/kg d'extrait de plante ; Bm 305 : groupe ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 305 mg/kg d'extrait de plante ; DZP : témoin positif ayant reçu la nicotine (1,5 mg/kg) + 2 mg/kg de diazépam. μ: P < 0,001 comparaison entre TN et Tneg ; \*\*\* p < 0,001 différence significative par rapport au témoin négatif (Tneg).

### III-1-4- Toxicité de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha*

#### III-1-4-1- Toxicité aiguë

##### ➤ Effets sur l'aspect général, le comportement et la mortalité des animaux

Le tableau VIII résume les principales réactions comportementales des souris pendant les 4 premières heures après l'administration d'une dose unique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. L'administration orale de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* en dose unique de 5000 mg/kg n'a entraîné aucune modification du comportement des animaux (comportements stéréotypés et ambulatoires, aspect du pelage, salivation et couleur des yeux), aucune mortalité, et aucune modification de la consistance des fèces comparativement aux animaux témoins durant toute la période d'observation (14 jours). Aucune modification macroscopique de l'aspect des organes n'a été observée. Aucun décès n'a été observé pendant toute la période expérimentale (14 jours).

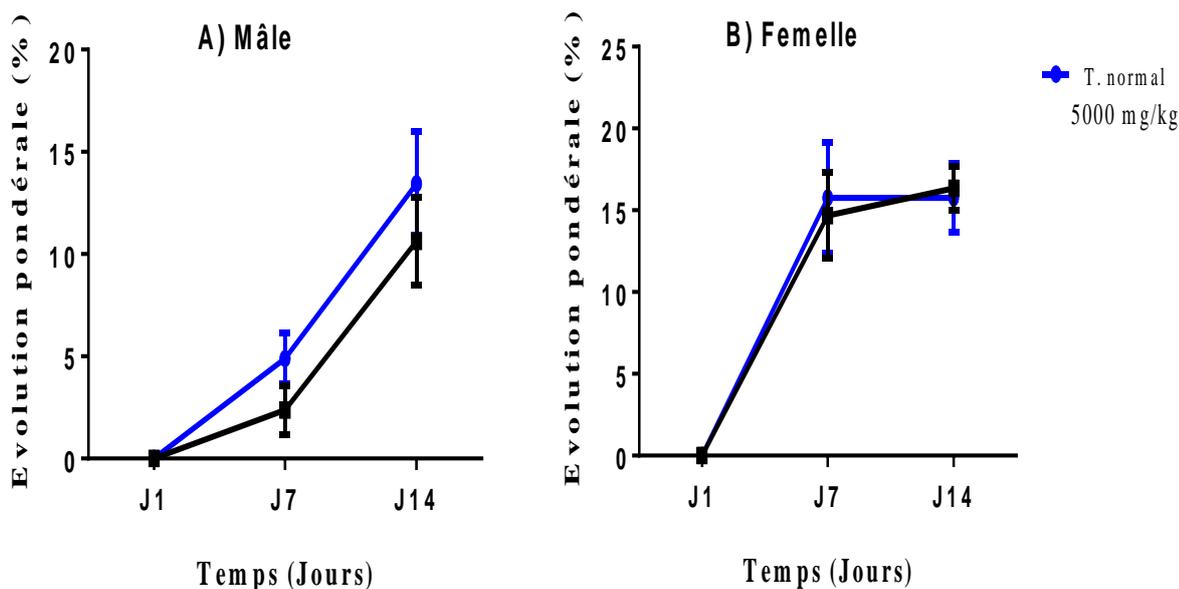
**Tableau VIII :** Réactions comportementales des souris après administration d'une dose unique de l'extrait aqueux des écorces de *B. micrantha*

Dose de l'extrait (mg/kg)	Locomotion	Exploration	Agressivité	Sensibilité		Fèces	
				Toucher	Bruit	Aspect	Couleur
0	N	N	N	N	N	G	NO
5000	N	N	N	N	N	G	NO

N : normale, G : granuleux, NO : noir

##### ➤ Effets de l'extrait de plante sur le poids corporel

La figure 81 montre l'évolution du poids corporel des animaux pendant les 14 jours qui ont suivi l'administration d'une dose unique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. Il n'a pas été observé de différence significative entre le témoin et ceux qui ont reçu l'extrait de plante.



**Figure 81 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris en essai aigu.** Les points représentent les gains pondéraux moyens  $\pm$  ESM, n=3. A : mâles, B : femelles.

### III-1-4-2- Toxicité subchronique

#### ➤ Effets de l'extrait de plante sur le comportement et la mortalité des souris

L'administration quotidienne de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses de 305, 610 et 1220 mg/kg aux souris pendant 4 semaines n'a entraîné aucune modification notable de réaction comportementale. Il n'a été observé aucune mortalité chez les mâles et les femelles pendant la période expérimentale.

#### ➤ Effets de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres comportementaux dans l'arène ouverte

Les effets de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres comportementaux des souris dans l'arène ouverte après 28 jours sont récapitulés dans le tableau IX. Il a été observé une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) de l'activité locomotrice (nombre de lignes traversées) chez les souris qui ont été traitées aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* de 305, 610 et 1220 mg/kg comparativement au témoin traité à l'eau distillée, de même pour les souris du lot satellite ayant reçu la plus grande dose de l'extrait de plante comparativement à leur témoin. La fréquence de toilettage a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) chez les mâles et chez les femelles traités aux

différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* comparativement au témoin normal. La fréquence de toilettage a également augmenté chez le satellite comparativement à son témoin. L'extrait de plante à toutes les doses a induit chez les mâles comme chez les femelles une baisse significative ( $p < 0,001$ ) de la fréquence de rearing (redressement vertical) comparativement aux différents témoins. La masse de selles produites a également diminué de façon significative ( $p < 0,001$ ) aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* chez les mâles comme chez les femelles. Le temps passé au centre de l'arène ouverte a augmenté de façon significative ( $p < 0,001$ ) aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg de l'extrait de plante tant chez les mâles que chez les femelles et ainsi que dans le groupe satellite comparativement aux différents témoins (Tableau IX).

**Tableau IX** : Paramètres comportementaux des souris traitées à l'extrait aqueux de *B. micrantha* pendant 4 semaines

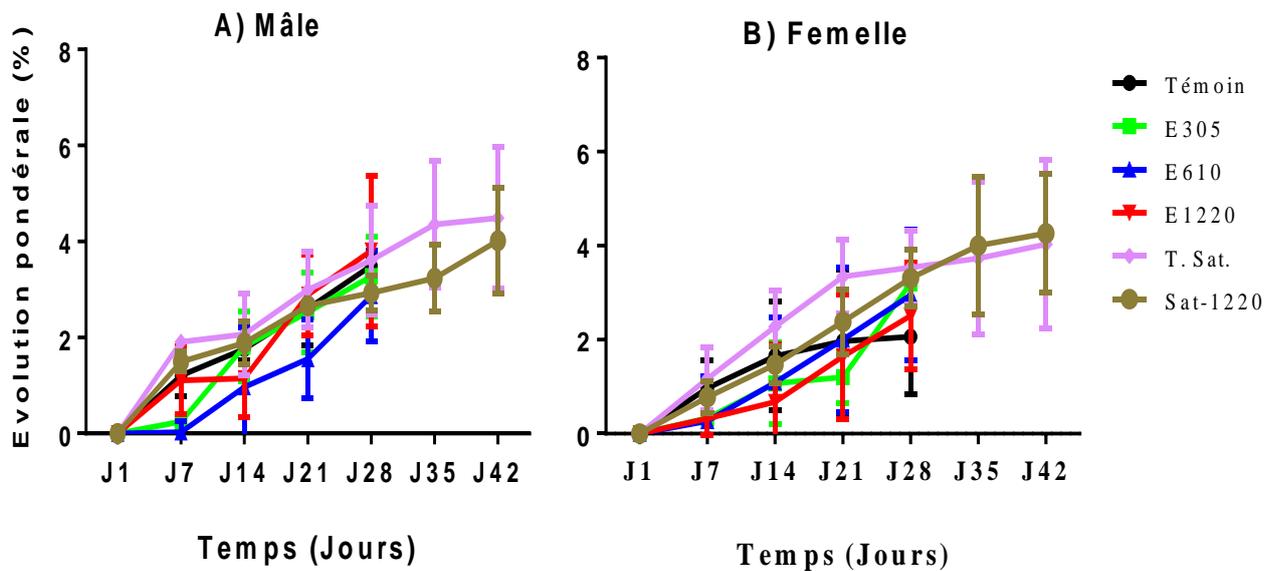
	Témoin	Bm 305	Bm 610	Bm 1220	Témoin Satellite	Satellite-1220
<b>Mâle</b>						
<b>Lignes traversées</b>	17,00 ± 0,55	58,60 ± 1,86***	64,60 ± 2,73***	72,00 ± 1,87***	17,80 ± 0,86	76,00 ± 1,48***
<b>Toilettage</b>	1,40 ± 0,24	3,60 ± 0,24***	5,60 ± 0,24***	6,60 ± 0,24***	1,20 ± 0,20	6,40 ± 0,24***
<b>Redressement</b>	16,20 ± 1,02	4,60 ± 0,51***	2,00 ± 0,32***	4,60 ± 0,51***	15,20 ± 0,86	3,20 ± 0,37***
<b>Masse de selles</b>	0,58 ± 0,01	0,21 ± 0,01***	0,12 ± 0,01***	0,06 ± 0,03***	0,64 ± 0,02	0,07 ± 0,03***
<b>Temps passé au centre</b>	16,80 ± 0,80	62,40 ± 2,48***	75,20 ± 2,00***	87,40 ± 2,04***	15,40 ± 0,68	92,00 ± 1,58***
<b>Femelle</b>						
<b>Lignes traversées</b>	17,20 ± 0,58	36,20 ± 3,37**	52,00 ± 3,63***	67,00 ± 3,21***	16,60 ± 0,24	68,60 ± 4,79***
<b>Toilettage</b>	1,20 ± 0,20	3,40 ± 0,40***	4,20 ± 0,20***	5,80 ± 0,37***	1,20 ± 0,20	5,60 ± 0,24***
<b>Redressement</b>	15,20 ± 1,77	7,40 ± 0,51***	7,80 ± 0,37***	3,80 ± 0,37***	14,80 ± 1,77	3,20 ± 0,37***
<b>Masse de selles</b>	0,48 ± 0,10	0,14 ± 0,02**	0,12 ± 0,01**	0,06 ± 0,03***	0,48 ± 0,10	0,04 ± 0,02***
<b>Temps passé au centre</b>	7,20 ± 0,20	41,80 ± 2,31***	55,80 ± 1,16***	65,60 ± 1,78***	7,60 ± 0,24	60,60 ± 1,86***

Chaque valeur est exprimée en moyenne ± ESM, n = 5. Différences significatives : \*\*p<0,01 ; \*\*\*p<0,001, par rapport au témoin (eau distillée)

➤ **Effets de l'extrait de plante sur le poids corporel**

La figure 82 (A et B) montre les effets de l'administration orale de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en dose quotidienne unique pendant 28 jours sur l'évolution du poids corporel des animaux.

Il en ressort que, l'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* n'a pas entraîné une variation significative du gain pondéral moyen tant chez les souris mâles que les femelles comparativement aux témoins.



**Figure 82 : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur l'évolution pondérale des souris en toxicité subchronique.** Les points représentent les gains pondéraux moyens  $\pm$  ESM, n=5. A : mâles, B : femelles.

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le poids relatif de quelques organes**

Le tableau X montre les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le poids relatif de quelques organes après un traitement de 6 semaines. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux différentes doses n'a pas entraîné de variation significative du poids relatif du cerveau, du foie, du rein, et de l'estomac comparativement aux animaux témoins qui ont reçu de l'eau distillée.

**Tableau X :** Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur le poids relatif de quelques organes après le traitement subchronique

	<b>Témoin</b>	<b>Bm 305</b>	<b>Bm 610</b>	<b>Bm 1220</b>	<b>Témoin Satellite</b>	<b>Satellite-1220</b>
<b>Mâle</b>						
<b>Cerveau (%)</b>	1,41 ± 0,08	1,39 ± 0,12	1,39 ± 0,06	1,46 ± 0,04	1,3 ± 0,09	1,37 ± 0,05
<b>Rein (%)</b>	1,70 ± 0,12	1,81 ± 0,12	1,62 ± 0,08	1,81 ± 0,09	1,79 ± 0,09	1,83 ± 0,04
<b>Foie (%)</b>	5,54 ± 0,19	5,87 ± 0,39	5,55 ± 0,12	5,53 ± 0,04	4,87 ± 0,13	5,22 ± 0,19
<b>Estomac (%)</b>	0,90 ± 0,09	0,77 ± 0,09	0,82 ± 0,04	0,83 ± 0,06	0,90 ± 0,09	0,84 ± 0,05
<b>Femelle</b>						
<b>Cerveau (%)</b>	1,71 ± 0,19	1,89 ± 0,18	1,88 ± 0,09	1,77 ± 0,09	1,72 ± 0,08	1,67 ± 0,07
<b>Rein (%)</b>	1,38 ± 0,11	1,42 ± 0,06	1,41 ± 0,06	1,41 ± 0,06	1,53 ± 0,05	1,36 ± 0,04
<b>Foie (%)</b>	5,68 ± 0,16	5,58 ± 0,39	5,43 ± 0,33	5,44 ± 0,12	5,40 ± 0,31	5,03 ± 0,18
<b>Estomac (%)</b>	0,94 ± 0,07	1,08 ± 0,04	0,99 ± 0,07	0,92 ± 0,07	0,92 ± 0,09	1,29 ± 0,22

Chaque valeur est exprimée en moyenne ± ESM, n = 5.

➤ **Effets de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres hématologiques**

Les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur les paramètres hématologiques évalués sont résumés dans le tableau XI. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du taux de globules blancs tant chez les souris mâles que chez les souris femelles. Le taux de globules blancs a augmenté par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée de 74,48 % ; 93,20 % et de 120,60 % aux doses respectives de 305, 610 et 1200 mg/kg chez les souris mâles et de 169,29 % chez les souris du lot satellite. Il a été observé chez les femelles une augmentation du taux de globules blancs de 40,29 % ; 45,53 % et de 63,24 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg au bout de 6 semaines de traitement. Dans le lot satellite l'augmentation était de 48,68 %. Le pourcentage de lymphocytes a significativement ( $p < 0,001$ ) baissé de 25,19 % ; 33,02 % et de 31,50 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg chez les mâles et respectivement de 25,13 % ; 25,42 % et de 25,82 % chez les femelles. Il a été observé également chez les satellites mâles et femelles une diminution significative du pourcentage de lymphocytes respectivement de 29,71 % et de 16,18 %. Le pourcentage de granulocytes a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) tant chez les souris mâles que chez les souris femelles. Après deux semaines d'arrêt de traitement, les résultats indiquent également chez les mâles satellites comme chez les femelles satellites une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du nombre de granulocytes. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué une élévation significative ( $p < 0,001$ ) du nombre de monocytes de 33,21 % ; 41,13 % et de 69,06 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg chez les mâles et de 32,67 % ; 29,42 % et de 46,75 % chez les femelles comparativement aux témoins ayant reçu de l'eau distillée. Après deux semaines d'arrêt de traitement, le nombre de monocytes reste encore significativement augmenté chez les mâles satellites comme chez les femelles satellites respectivement de 43,90 % et de 48,90 %. Une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du taux de globules rouges de 14,93 % ; 30,64 % et de 41,76 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg a été notée chez les mâles traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et chez les femelles respectivement de 41,19 % ; 56,62 % et de 51,54 % comparativement aux témoins ayant reçu de l'eau distillée. Il a été observé également chez les satellites mâles et femelles une augmentation significative du taux de globules rouges respectivement de 48,96 % et de 49,65 %. Le taux d'hémoglobine a augmenté significativement ( $p < 0,001$ ) de 25,41 % ; 29,51 % et de 31,31 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg chez les mâles traités à l'extrait

aqueux de *Bridelia micrantha* et chez les femelles de 19,51 % ; 21,31 % et de 23,77 % comparativement aux témoins ayant reçu de l'eau distillée. Il a été observé également chez les satellites mâles et femelles une augmentation significative du taux d'hémoglobine respectivement de 30,87 % et de 26,28 %. Les résultats ont montré que indépendamment de la dose et du sexe, le taux de plaquettes est élevé de façon significative ( $p < 0,001$ ) comparativement aux valeurs des témoins.

**Tableau XI :** Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres hématologiques

	Témoïn	Bm 305	Bm 610	Bm1220	Témoïn Satellite	Satellite-1220
<b>Mâle</b>						
<b>GB (*10<sup>3</sup>/µl)</b>	4,27 ± 0,28	7,45 ± 0,17***	8,25 ± 0,12***	9,42 ± 0,08***	3,55 ± 0,08	9,56 ± 0,18***
<b>LYMP%</b>	82,02 ± 2,07	61,36 ± 5,04***	54,94 ± 1,04***	56,18 ± 3,35***	77,06 ± 1,41	54,16 ± 0,86***
<b>GRAN%</b>	7,00 ± 0,68	23,72 ± 5,28***	24,24 ± 1,77***	25,78 ± 2,41***	6,88 ± 0,59	24,96 ± 1,81***
<b>MON%</b>	10,60 ± 0,19	14,16 ± 0,57***	14,96 ± 0,07***	17,92 ± 0,94***	12,30 ± 0,12	17,70 ± 0,22***
<b>GR (*10<sup>6</sup>/µl)</b>	6,56 ± 0,15	7,54 ± 0,12	8,57 ± 0,12*	9,30 ± 0,10***	6,31 ± 0,14	9,40 ± 0,13***
<b>HB (g/dl)</b>	12,20 ± 0,06	15,30 ± 0,14***	15,80 ± 0,16***	16,02 ± 0,15***	12,18 ± 0,14	15,94 ± 0,12***
<b>PLAQ (*10<sup>3</sup>/µl)</b>	172,80 ± 6,97	421,2 ± 20,08***	366,80 ± 16,54***	426,60 ± 12,87***	176,40 ± 6,70	442,80 ± 16,02***
<b>Femelle</b>						
<b>GB (*10<sup>3</sup>/µl)</b>	4,59 ± 0,44	6,44 ± 0,12**	6,68 ± 0,18***	7,50 ± 0,15***	4,95 ± 0,54	7,36 ± 0,12***
<b>LYMP%</b>	83,56 ± 1,29	62,56 ± 2,63***	62,32 ± 2,78***	61,98 ± 1,08***	77,86 ± 1,43	65,26 ± 1,75***
<b>GRAN%</b>	4,76 ± 0,30	23,34 ± 2,84***	14,26 ± 1,24***	22,16 ± 0,44***	4,86 ± 0,25	21,56 ± 0,70***
<b>MON%</b>	11,08 ± 0,35	14,70 ± 0,62***	14,34 ± 0,60**	16,26 ± 0,49***	10,96 ± 0,35	16,32 ± 0,46***
<b>GR (*10<sup>6</sup>/µl)</b>	5,51 ± 0,12	7,78 ± 0,13***	8,63 ± 0,13***	8,35 ± 0,14***	5,76 ± 0,11	8,62 ± 0,15***
<b>HB (g/dl)</b>	12,20 ± 0,14	14,58 ± 0,12***	14,80 ± 0,07***	15,10 ± 0,12***	12,02 ± 0,13	15,18 ± 0,22***
<b>PLAQ (*10<sup>3</sup>/µl)</b>	172,40 ± 7,19	350,20 ± 16,78***	355,80 ± 21,48***	380,20 ± 9,95***	147,00 ± 7,68	392,00 ± 4,49***

Chaque valeur est exprimée en moyenne ± ESM, n = 5. Différences significatives : \*p<0,05 ; \*\*p<0,01 ; \*\*\*p<0,001, par rapport aux animaux témoins ; Témoïn : groupe ayant reçu de l'eau distillée ; Bm 305, Bm 610 et Bm 1220: groupes ayant reçu l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg. Satellite : animaux satellites traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* à la dose de 1220 mg/kg. GB : globules blancs, LYM : lymphocytes, MON : monocytes, GRAN : granulocytes, GR : globules rouges, HB : hémoglobine, PLAQ : plaquettes sanguines

➤ **Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* après une administration subchronique sur quelques paramètres biochimiques sériques**

Le tableau XII montre les effets d'une administration répétée pendant 28 jours de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres de la fonction hépatique et rénale. Il en ressort que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué après 28 jours d'administration une diminution significative du taux d'ALAT ( $p < 0,01$ ) de 24,07 % et 19,16 % respectivement chez les souris mâles traitées aux doses respectives de 305 et 610 mg/kg. La dose de 1220 mg/kg n'a pas provoqué de variation significative du taux d'ALAT chez ces mâles comparativement au témoin ayant reçu de l'eau distillée et chez le satellite. Chez les femelles, il a été observé une baisse significative du taux d'ALAT aux différentes doses de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* respectivement de 21,89 % ; 29,29 % et de 14,05 %. Il a été observé dans le lot satellite après deux semaines d'arrêt de traitement une diminution du taux d'ALAT de 17,72 % par rapport au témoin ayant reçu de l'eau distillée. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a provoqué une diminution significative ( $p < 0,001$ ) du taux d'ASAT de 22,99 % ; 27,32 % et de 30,15 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg chez les mâles et de 20,06 % ; 25,85 % et de 22,26 % chez les femelles comparativement aux témoins respectifs. Après deux semaines d'arrêt de traitement, le taux d'ASAT est resté diminué chez les mâles satellites tout comme chez les femelles satellites respectivement de 19,87 % et de 24,17 % comparativement aux témoins respectifs. Le taux de cholestérol total a diminué de 13,14 % à la dose de 305 mg/kg ; les doses 610 et 1220 mg/kg n'ont pas entraîné de variation significative du taux de cholestérol total chez les mâles. De même chez les femelles, le taux de cholestérol total a également diminué de 13,58 % à la dose de 305 mg/kg ; les doses 610 et 1220 mg/kg n'ont pas entraîné de variation significative du taux de cholestérol total comparativement aux témoins respectifs. Après deux semaines d'arrêt de traitement, le taux de cholestérol total n'a pas provoqué de variation significative chez les mâles satellites tout comme chez les femelles satellites comparativement aux témoins respectifs. Le taux de triglycérides a diminué de façon significative de 32,89 % ; 41,03% et de 45,84 % aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg chez les mâles et chez les femelles de 42,89 % ; 51,54 % et de 53,80 % comparativement aux témoins respectifs. Après deux semaines d'arrêt de traitement, le taux de triglycérides est resté diminué chez les mâles satellites tout comme chez les femelles satellites respectivement de 44,63 % et de 56,19 % comparativement à leurs témoins respectifs. Il a été observé indépendamment de la dose et du sexe une augmentation du HDL cholestérol comparativement aux témoins respectifs. Le taux

du LDL cholesterol a diminué indépendamment de la dose et du sexe comparativement aux témoins respectifs ayant reçu de l'eau distillée, sauf chez les femelles qui ont reçu l'extrait de plante à la dose 1220 mg/kg où le taux de LDL cholestérol n'a pas varié. Le taux de créatinine n'a présenté aucune variation significative chez les mâles tout comme chez les femelles même deux semaines après arrêt de traitement comparativement aux témoins respectifs. De même, le taux de protéines totales des animaux traités à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pendant 28 jours n'a présenté aucune variation significative ( $p>0,05$ ) comparativement à leurs témoins respectifs dans les deux sexes.

**Tableau XII** : Effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* sur quelques paramètres biochimiques

	Témoin	Bm 305	Bm 610	Bm 1220	Témoin Satellite	Satellite-1220
<b>Mâle</b>						
<b>ALAT (UI/L)</b>	30,74 ± 0,88	23,34 ± 0,90**	24,85 ± 0,20**	28,25 ± 0,34	31,56 ± 0,77	28,27 ± 0,35
<b>ASAT (UI/L)</b>	28,22 ± 0,68	21,73 ± 1,35**	20,51 ± 1,23**	19,71 ± 1,36***	28,33 ± 0,70	22,70 ± 1,38*
<b>Cholestérol (mg/dL)</b>	108,02 ± 0,34	93,82 ± 0,72*	101,07 ± 0,78	110,74 ± 1,30	107,38 ± 0,30	108,89 ± 2,37
<b>Triglycérides (mg/dL)</b>	139,00 ± 0,29	93,28 ± 0,41**	81,96 ± 0,43**	75,27 ± 0,52**	137,00 ± 0,32	75,85 ± 0,59**
<b>HDL (mg/dL)</b>	30,78 ± 0,03	46,25 ± 0,17*	53,64 ± 2,34**	55,23 ± 2,69**	31,18 ± 0,12	56,80 ± 0,05**
<b>LDL (mg/dL)</b>	49,44 ± 0,26	28,91 ± 0,24**	31,04 ± 1,93**	40,47 ± 1,98*	48,80 ± 0,38	36,92 ± 2,25*
<b>Protéines (mg/mL)</b>	0,53 ± 0,04	0,53 ± 0,03	0,52 ± 0,03	0,55 ± 0,07	0,53 ± 0,02	0,51 ± 0,03
<b>Créatinine (mg/dL)</b>	0,90 ± 0,02	0,89 ± 0,01	0,88 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,89 ± 0,03	0,88 ± 0,01
<b>Femelle</b>						
<b>ALAT (UI/L)</b>	29,83 ± 0,96	23,30 ± 0,69**	21,09 ± 0,37**	25,64 ± 0,06**	29,79 ± 0,93	24,51 ± 0,82**
<b>ASAT (UI/L)</b>	28,16 ± 0,66	22,51 ± 1,24**	20,88 ± 1,11***	21,89 ± 0,19***	28,29 ± 0,67	21,45 ± 1,20***
<b>Cholestérol (mg/dL)</b>	103,13 ± 0,50	89,12 ± 0,67**	100,16 ± 0,52	113,45 ± 0,71	102,05 ± 0,34	107,90 ± 0,53
<b>Triglycérides (mg/dL)</b>	121,40 ± 0,76	69,33 ± 0,44***	58,83 ± 0,73***	56,09 ± 0,88***	120,30 ± 0,38	52,70 ± 0,45***
<b>HDL (mg/dL)</b>	30,95 ± 0,04	47,20 ± 0,09*	56,79 ± 0,09**	58,30 ± 0,04**	30,85 ± 0,05	56,60 ± 0,02**
<b>LDL (mg/dL)</b>	47,90 ± 0,32	28,05 ± 0,53**	31,70 ± 0,33**	43,93 ± 0,53	47,14 ± 0,22	40,76 ± 0,46
<b>Protéines (mg/mL)</b>	0,56 ± 0,02	0,56 ± 0,05	0,58 ± 0,02	0,55 ± 0,02	0,55 ± 0,03	0,56 ± 0,01
<b>Créatinine (mg/dL)</b>	0,89 ± 0,03	0,87 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,88 ± 0,01	0,88 ± 0,04	0,87 ± 0,01

Chaque valeur est exprimée en moyenne ± ESM, n = 5. Différences significatives : \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001, par rapport aux témoins. Témoin : animaux ayant reçu de l'eau distillée ; Bm 305, Bm 610 et Bm 1220 : groupes ayant reçu l'extrait aqueux de *B. micrantha* aux doses respectives de 305, 610 et 1220 mg/kg. Satellite : animaux satellites traités à l'extrait aqueux de *B. micrantha* à la dose de 1220 mg/kg. ALAT : Activité de l'alanine aminotransférase dans le sérum, ASAT : Activité de l'aspartate aminotransférase dans le sérum. HDL : High Density Lipoprotein, LDL : Low Density Lipoprotein.

### III-2- DISCUSSION

Le présent travail avait pour objectif principal l'évaluation des effets anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae) chez la souris. Différents paradigmes ont été utilisés tels que l'hyperthermie induite par le stress (HIS), le labyrinthe en croix surélevé (EPM), l'arène ouverte et la planche à trous pour évaluer les propriétés anxiolytiques de *Bridelia micrantha* dans les modèles d'anxiété transitoire et chronique.

L'hyperthermie induite par le stress est un phénomène physiologique qui apparaît lorsqu'un animal est confronté à une situation de stress physique ou physiologique. Dans cette étude, la situation stressante était la contention de la souris par l'expérimentateur et le fait que ces animaux se retrouvaient progressivement en nombre réduit que celui du départ dans les différents groupes. Dans ce modèle d'anxiété transitoire, l'anxiété et la peur ont augmenté par anticipation la température corporelle des souris. Il a été observé dans un même groupe comme initialement démontré par Taiwe *et al.* (2011) que les souris prises parmi les dernières présentaient une température corporelle plus élevée que celles prises les premières. L'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* dans ce test a diminué significativement l'augmentation de la température corporelle des dernières souris. Il est connu que les substances qui diminuent la température corporelle sont des antipyrétiques et des anxiolytiques (Ngo Bum *et al.*, 2009a ; Moto *et al.*, 2012 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017). Cette inhibition de l'hyperthermie induite par le stress suggère que l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* aurait comme le phénobarbital des propriétés anxiolytiques. L'hyperthermie induite par le stress est sensible entre autres à l'activité anxiolytique exercée par les médicaments via le système sérotoninergique (Vinkers *et al.*, 2010 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017). Cette réduction de l'hyperthermie induite par le stress pourrait suggérer que l'extrait de plante pourrait contenir des métabolites secondaires capables d'interférer avec le système sérotoninergique. Les effets anxiolytiques de l'extrait de plante ont été évalués dans le test du labyrinthe en croix surélevé.

Le labyrinthe en croix surélevé est un paradigme standard utilisé pour évaluer chez les rongeurs les effets anxiolytiques et anxiogènes des substances et des plantes (Ayissi *et al.*, 2015 ; Doukkali *et al.*, 2017). Dans cette étude, l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* a entraîné une augmentation du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras ouverts, les pourcentages du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe ; et une diminution du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras fermés, les pourcentages du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras fermés (Njapdounke *et al.*, 2016 ; Moto *et al.*, 2018). Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* aurait bien des propriétés

anxiolytiques. Le diazépam, utilisé comme substance de référence a induit des effets similaires à ceux de l'extrait. En effet, il a été démontré que les substances qui augmentent le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe ont des effets anxiolytiques (Manavi *et al.*, 2013 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017 ; Maïraïra *et al.*, 2018 ; Moto *et al.*, 2018). Ce test est également basé sur l'aversion naturelle par les rongeurs des espaces ouverts et des grands espaces. L'analyse des paramètres éthologiques dans le labyrinthe en croix surélevé a montré que l'extrait de plante a diminué le nombre de redressements et le nombre d'inclinaisons de la tête suggérant la présence dans cet extrait des métabolites ayant des effets anxiolytiques (Bradley *et al.*, 2007 ; Ngo Bum *et al.*, 2009a ; Moto *et al.*, 2012 ; Doukkali *et al.*, 2016 ; Chandrashekar *et al.*, 2017 ; Moto *et al.*, 2018). Cette étude a montré, que les souris ayant reçu de l'eau distillée, une fois au niveau de la plateforme centrale retournaient directement dans les bras fermés. Ces résultats sont en accord avec les observations antérieures de Ayissi *et al.*, (2015) ; Patro *et al.*, (2016) ; Omam *et al.*, (2017), qui ont démontré qu'une fois placées au centre de la plateforme centrale du labyrinthe en croix surélevé, les souris non traitées par des substances anxiolytiques évitaient les bras ouverts et la lumière parce qu'elles étaient anxieuses. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* contiendrait des substances qui seraient capables de réduire l'anxiété chez les souris placées dans le labyrinthe en croix surélevé. La similarité des effets entre l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* et le diazépam laisse penser que l'extrait de plante contiendrait des molécules semblables aux ligands des récepteurs des benzodiazépines qui produiraient leurs effets anxiolytiques en se fixant sur les sites des benzodiazépines du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>. Dans cette étude, les effets de l'extrait de plante sur l'implication de la neurotransmission GABAergique au niveau du complexe récepteur GABA<sub>A</sub> ont été évalués en présence de la bicuculline (antagoniste compétitif du site GABA du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>) et du flumazénil (antagoniste compétitif du site des benzodiazépines du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>) dans le test du labyrinthe en croix surélevé.

La bicuculline agit comme un antagoniste compétitif des récepteurs GABA<sub>A</sub> en ce sens qu'elle inhibe de manière compétitive la liaison du GABA à ses récepteurs, et à son tour le GABA inhibe de manière compétitive la bicuculline (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017 ; Blanca *et al.*, 2020). L'inhibition de la voie de neurotransmission GABAergique est connue comme provoquant un effet anxiogène, tandis que sa stimulation conduit à un effet anxiolytique. A la dose de 2,5 mg/kg, la bicuculline contrairement à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux doses de 152 et 305 mg/kg a diminué le nombre d'entrées, les pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts et a augmenté le nombre d'entrées, les pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras fermés par rapport au témoin qui a reçu l'eau distillée suggérant des effets anxiogènes de la bicuculline (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Il est bien connu que la

réduction du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts et l'augmentation du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras fermés sont des indicateurs de l'augmentation de l'anxiété (Moto *et al.*, 2012 ; Ayissi *et al.*, 2015). A cette même dose de 2,5 mg/kg, la bicuculline a inhibé significativement les effets anxiolytiques induits par l'extrait aqueux aux doses de 152 et 305 mg/kg sur les paramètres éthologiques et classiques dans le labyrinthe en croix surélevé. Cette inhibition de l'activité anxiolytique de l'extrait de plante par la bicuculline suggère que le site GABA (Lopez-Rubalcava *et al.*, 2005 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017 ; Blanca *et al.*, 2020) du complexe récepteur GABA<sub>A</sub> serait impliqué dans la réalisation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. A ce niveau, la fixation de la bicuculline provoquerait l'augmentation de la durée d'ouverture des canaux chlorures entraînant ainsi à une hyperpolarisation membranaire due à un flux de plus en plus important des ions chlorures dans la cellule (Grundmann *et al.*, 2007 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017). Dans cette étude, la dose de la bicuculline utilisée (2,5 mg/kg) n'a pas totalement inhibé la réponse anxiolytique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* suggérant ainsi, qu'en plus du site GABA du complexe récepteur GABA<sub>A</sub>, l'extrait aqueux de *B. micrantha* utiliserait d'autres mécanismes pour induire son activité anxiolytique (Moto *et al.*, 2012 ; Omam *et al.*, 2017). La réponse anxiolytique induite par l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a été évaluée en présence du flumazénil (3 mg/kg). Le flumazénil est une substance qui agit sur le site des benzodiazépines du complexe récepteur GABA-A. Il possède des propriétés opposées à celles des benzodiazépines (Moto *et al.*, 2012). Il est donc un outil puissant pour analyser l'implication du complexe récepteur GABA-A dans plusieurs situations comportementales (Taiwe *et al.*, 2011). Le site des benzodiazépines possède trois classes de ligands à savoir : les agonistes, tels que les benzodiazépines ; les agonistes inverses tels que la  $\beta$ -carboline et les antagonistes tels que le flumazénil. Les antagonistes sont supposés n'avoir aucun effet lorsqu'ils sont administrés seuls, mais, sur le site, ils peuvent contrer les effets des agonistes (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017) et des agonistes inverses (Ayissi *et al.*, 2015). Le flumazénil, a diminué le nombre d'entrées, les pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts et a augmenté le nombre d'entrées, les pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras fermés comparativement au témoin qui a reçu de l'eau distillée. En présence du flumazénil, il a été observé par rapport à l'action de l'extrait aqueux (152 et 305 mg/kg) utilisé seul, une diminution significative du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe et une augmentation du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras fermés. Ces effets antagonistes du flumazénil suggèrent que le site des benzodiazépines du complexe récepteur GABA<sub>A</sub> (Lopez-Rubalcava *et al.*, 2005 ; Lolli *et al.*, 2006 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017) serait sollicité

lors de la réalisation des propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha*. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pourrait induire ses effets anxiolytiques via le système GABAergique par modulation allostérique du récepteur GABA<sub>A</sub> en modifiant la cinétique d'ouverture du canal chlorure par augmentation de la conductance des canaux chlorures (d'où l'entrée plus importante des ions chlorures dans la cellule) provoquant une hyperpolarisation qui éloigne la cellule de la dépolarisation par les médiateurs excitateurs (Ayissi *et al.*, 2015 ; Omam *et al.*, 2017).

Les activités anxiolytiques de *Bridelia micrantha* dans l'anxiété transitoire ont été également évaluées à travers le test de l'arène ouverte. Dans l'arène ouverte, les situations de confrontation forcée induisent un comportement anxieux chez les rongeurs. Dans une telle situation, les rongeurs préfèrent spontanément la périphérie du dispositif et entrent moins dans les parties centrales de l'arène ouverte. Les résultats obtenus chez les souris traitées à l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* à toutes les doses ou au diazépam ont montré une augmentation significative du nombre de lignes traversées, du nombre de toilettages et du temps passé au centre de l'arène ouverte. L'augmentation de ces paramètres indiquent l'accroissement de l'activité locomotrice et du niveau d'exploration qui relèvent d'une manifestation intrinsèque de la réduction de l'anxiété chez les rongeurs (Ngo Bum *et al.*, 2009a ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Doukkali *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017) et suggèrent une fois de plus que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* posséderait des propriétés anxiolytiques. L'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* tout comme le diazépam a également diminué de façon significative le nombre de redressements et la masse de selles produites par les souris. Des résultats similaires ont été obtenus par Omam *et al.*, (2017) lors de l'évaluation de l'activité anxiolytique de la décoction de *Parkia biglobosa* chez la souris. La diminution du nombre de redressements dans l'arène ouverte élimine l'implication de l'activité psychomotrice de l'extrait de plante et révèle que l'augmentation de la locomotion serait plutôt liée à l'exploration qui exprime la baisse de l'anxiété (Ngo Bum *et al.*, 2009a ; Moto *et al.*, 2012). La baisse significative de la production des selles chez les souris traitées à l'extrait de plante est en accord avec les études antérieures qui ont démontré que la diminution de la masse de selles traduit une baisse du stress correspondant à une activité anxiolytique dans l'arène ouverte (Moto *et al.*, 2012 ; Ayissi *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017 ; Moto *et al.*, 2018). Étant donné qu'une augmentation de la locomotion centrale ou du temps mis dans la zone centrale du dispositif de l'arène ouverte sans modification de l'activité locomotrice générale peut être interprétée comme une anxiolyse, tandis qu'une diminution de l'activité horizontale et l'activité générale pourrait exprimer la sédation (Moto *et al.*, 2012 ; Patro *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017), les résultats obtenus dans ce dispositif confirment une fois de plus que cet extrait de plante aurait des effets anxiolytiques. Cette activité sur l'anxiété transitoire a été également évaluée par le test de la planche à trous.

Dans le test de la planche à trous, l'extrait de plante a diminué, de manière significative le temps de latence de la première inclinaison de la tête, le nombre de redressements et la durée du redressement chez les souris. La réduction de ces paramètres dans ce paradigme montre que les souris ont acquis une capacité d'adaptation dans leur nouvel environnement et donc ne sont plus anxieuses (Takeda *et al.*, 1998 ; Moto *et al.*, 2012 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Chandrashekar *et al.*, 2017). Il a été également montré que l'extrait de plante a augmenté significativement le nombre d'inclinaisons de la tête et la durée de l'inclinaison de la tête dans le test de la planche à trous. En admettant que le comportement d'inclinaison de la tête est un indicateur de l'état émotionnel de l'animal (Takeda *et al.*, 1998 ; Doukkali *et al.*, 2015 ; Njapdounke *et al.*, 2016) et que la hausse du nombre d'inclinaisons de la tête est l'expression d'un état d'anxiolyse (Li Min *et al.*, 2005 ; Doukkali *et al.*, 2015 ; Chandrashekar *et al.*, 2017), ces résultats indiquent une fois de plus les effets anxiolytiques de cet extrait de plante (Ayissi *et al.*, 2015; Doukkali *et al.*, 2015; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Omam *et al.*, 2017). Les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* dans la planche à trous sont semblables à ceux du diazépam, qui est un anxiolytique de référence.

Ces résultats préliminaires ayant démontré que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* possède des propriétés anxiolytiques sur les modèles d'animaux d'anxiété transitoire (anxiété d'état ou anxiété aiguë), les effets de l'extrait de plante ont été également évalués sur des modèles de stress chronique chez les animaux (anxiété exagérée ou anxiété de trait).

Le stress chronique est connu pour produire à la fois le stress psychologique et le stress physique, ce qui entraîne une large gamme de modifications comportementales et physiologiques, comprenant une activité locomotrice réduite, un comportement anxieux, une sécrétion élevée d'hormones de stress (corticostérone) et un stress oxydant dans le cerveau (Chiba *et al.*, 2012 ; Chen *et al.*, 2016). Dans cette partie du travail, l'anxiété chronique a été induite par le stress d'immobilisation chronique (SIC), qui met en exergue le trouble panique et l'anxiété généralisée, le stress de la séparation maternelle (SM), qui met en exergue l'état de stress post-traumatique et le stress provoqué par une substance chimique, la nicotine qui met en exergue le trouble panique et le trouble obsessionnel-compulsif. Les résultats obtenus dans ces différents modèles de stress chroniques ont montré que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* est capable d'induire une augmentation significative du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé, et à l'inverse une diminution significative du nombre d'entrées, des pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras fermés du labyrinthe en croix surélevé. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus lors de l'anxiété transitoire et ne montrent pas de modifications significatives au niveau des différents paramètres comportementaux évalués. Il est connu qu'une augmentation de l'activité des souris dans les bras ouverts renvoie à une baisse de l'anxiété (Omam *et al.*, 2017 ; Fotsing *et al.*, 2017 ;

Maïraïra *et al.*, 2018 ; Maïraïra *et al.*, 2020) et qu'une diminution des dits paramètres comportementaux dans les bras fermés reflète une réduction du stress (Fotsing *et al.*, 2017 ; Maïraïra *et al.*, 2018). Ces résultats montrent que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en administration répétée conserverait ses propriétés anxiolytiques (Fotsing *et al.*, 2017 ; Maïraïra *et al.*, 2020). Cette activité anxiolytique de l'extrait de plante est appuyée dans cette étude par le fait que les souris traitées à l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* passent de plus en plus de temps dans les bras ouverts que dans les bras fermés, car le ratio EO/ET (entrées dans les bras ouverts sur le nombre total d'entrées dans les bras) versus EF/ET (entrées dans les bras fermés sur le nombre total d'entrées dans les bras) est de plus en plus important (Fotsing *et al.*, 2017 ; Maïraïra *et al.*, 2020). L'activité anxiolytique de l'extrait de plante dans le test de l'arène ouverte suite au stress chronique s'est traduite par une augmentation du nombre de lignes traversées, du nombre de toilettages, du temps passé au centre et a diminué le nombre de redressements et la masse de selles produites chez les souris (Wongtawatchai *et al.*, 2017). Dans la planche à trous, cet effet anxiolytique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* après une anxiété chronique s'est traduit par une diminution de manière significative du temps de latence de la première inclinaison de la tête, du nombre de redressements et de la durée du redressement chez les souris. La réduction de ces paramètres dans ce paradigme montre que les souris ont acquis une capacité d'adaptation dans leur nouvel environnement et donc ne sont plus anxieuses (Takeda *et al.*, 1998 ; Njapdounke *et al.*, 2016 ; Wongtawatchai *et al.*, 2017). L'extrait de plante a également augmenté significativement le nombre d'inclinaisons de la tête et la durée d'inclinaison de la tête dans le test de la planche à trous suggérant bien que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* posséderait les effets anxiolytiques (Wongtawatchai *et al.*, 2017).

Lorsqu'un individu perçoit un stimulus stressant, des réponses physiologiques coordonnées sont activées. Ces réponses mettent en jeu le système nerveux central et le système nerveux périphérique (ortho) sympathique ainsi que l'axe corticotrope (hypothalamus, hypophyse et glandes surrénales) ou axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien du stress (HHS) est activé chez tous les animaux lors d'une exposition au stress. Une libération accrue de CRH (« corticotropin-releasing hormone ») hypothalamique en résulte tout d'abord, suivie par celle d'ACTH hypophysaire. L'ACTH qui est libéré dans la circulation, agit au niveau du cortex surrénalien en stimulant la production et la sécrétion des corticostéroïdes (Murakami *et al.*, 2005 ; Lupien *et al.*, 2009 ; Nahvi et Sabban, 2020), responsables de la situation de stress dans la circulation sanguine. Ces glucocorticoïdes augmentent la glycémie, la quantité d'acides gras sanguins et affaiblissent le système immunitaire en cas de stress chronique ou d'anxiété chronique. Dans cette étude, le stress chronique a induit lors des différents tests d'anxiété chronique une

augmentation significative de la concentration plasmatique de corticostérone. Il a été également observé chez les souris stressées et non traitées une réduction de la concentration plasmatique de sérotonine. Cette réduction du taux plasmatique de sérotonine et l'augmentation du taux plasmatique de corticostérone indiquerait que les altérations observées chez les souris sont similaires à la pathophysiologie cliniquement apparentée de l'anxiété chez l'homme (Millan, 2003 ; Hyun *et al.*, 2013 ; Peres *et al.*, 2014 ; Wongtawatchai *et al.*, 2017 ; Fotsing *et al.*, 2017). L'administration de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* pendant chaque période expérimentale (période de stress) a maintenu le taux de ces paramètres biochimiques proches de la normale, indiquant ainsi une inhibition de l'anxiété. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus dans les modèles d'anxiété chronique par d'autres auteurs (Kyrou et Tsigos, 2009 ; Hyun *et al.*, 2013 ; Fotsing *et al.*, 2017 ; Wongtawatchai *et al.*, 2017 ; Maïraïra *et al.*, 2018 ; Maïraïra *et al.*, 2020). Cette activité anxiolytique de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pourrait résulter de l'action des métabolites secondaires contenus dans cet extrait sur les voies de synthèse de la sérotonine et/ou de la corticostérone. En effet, l'analyse phytochimique qualitative de cet extrait a révélé la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins, des triterpènes, des saponines, et des alcaloïdes qui pourraient soutenir l'activité anxiolytique de la plante (Ngueyem *et al.*, 2009 ; Harsha et Anilakumar, 2013 ; Mburu *et al.*, 2016). Les flavonoïdes ont été récemment identifiés comme un nouveau type de ligands ayant des propriétés anxiolytiques *in vivo* (Chandrashekar *et al.*, 2017). L'évaluation des effets neuropharmacologiques de différentes espèces végétales ont démontré que les flavones possèdent un effet anxiolytique chez les rongeurs exposés à des tests comportementaux ; ces composés moduleraient le système GABAergique pour produire un effet anxiolytique (Chandrashekar *et al.*, 2017).

L'anxiété chronique induit au niveau du cerveau un stress oxydant (Chen *et al.*, 2016). Dans cette étude, les effets de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* ont été évalués sur les paramètres du stress oxydant provoqué à la suite d'un stress chronique induit par la prise de nicotine. Il a été observé dans les homogénats du cerveau chez des animaux stressés par la nicotine pendant 14 jours, une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA) et une baisse de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase et du taux de glutathion réduit (GSH) par rapport aux animaux normaux. L'élévation du taux de MDA, la baisse du taux de GSH ainsi que celle de l'activité de la SOD et de la catalase chez le lot témoin négatif dans cette étude sont des indicateurs de l'installation du stress oxydant (Pisoschi et Pop, 2015 ; Propac *et al.*, 2017). Ces observations sont en accord avec ceux de Machawal et Kumar (2014) qui ont montré que le stress chronique entraînait un stress oxydant se traduisant par une augmentation de concentrations cérébrales de MDA et une diminution de GSH. Des études ont suggéré un lien entre le stress oxydant et l'anxiété au niveau

central et périphérique et qui serait en faveur d'une anxiété due à un niveau élevé du stress oxydant (Hovatta *et al.*, 2005 ; Salim, 2014). L'anxiété serait à l'origine de la rupture de l'équilibre oxydatif induisant une production des espèces réactives oxygénées (ERO<sub>s</sub>) et des radicaux libres responsables des dégâts organiques et fonctionnels relevés (Ditzen *et al.*, 2006 ; Bouayed *et al.*, 2007b ; Bouayed *et al.*, 2009). Ces espèces réactives oxygénées (ERO<sub>s</sub>) sont à l'origine de la peroxydation lipidique génératrice de l'augmentation du taux de MDA et de la baisse du taux de GSH du fait de son utilisation pour la neutralisation des radicaux libres sous l'action de la glutathion peroxydase. Ces radicaux libres jouent un rôle important dans la neurotoxicité et l'hyperexcitabilité observées au cours du stress chronique dans l'amygdale (Machawal et Kumar, 2014). L'administration de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* a prévenu l'augmentation du taux de MDA et la diminution du taux de GSH (Youbie *et al.*, 2015 ; Shelembe *et al.*, 2016). L'extrait de plante a également protégé contre la réduction de l'activité de la catalase et de la SOD (Onoja *et al.*, 2014) suggérant ainsi que cet extrait contiendrait des métabolites capables de neutraliser les radicaux libres. Les résultats de cette étude sont similaires à ceux de Zhang *et al.*, (2017) qui ont démontré qu'une préservation de l'activité de la SOD et la catalase est associée à une forte capacité de neutralisation des radicaux libres. Ces propriétés antioxydantes de *Bridelia micrantha* s'expliqueraient par la présence dans l'extrait des écorces de la plante des métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, et les tannins, qui ont le pouvoir de piéger les radicaux libres et protéger les membranes cellulaires de la destruction (El-Sawi and Sleem, 2010 ; Shelembe *et al.*, 2016). Cette étude a également montré après administration subchronique de nicotine pendant 14 jours une réduction significative du taux des protéines tissulaires et de nitrites chez les souris stressées et non traitées. L'extrait de plante a augmenté de manière significative le taux de protéines tissulaires et de nitrites. Cette augmentation du taux de nitrites pourrait résulter de l'action des métabolites secondaires contenus dans cet extrait tels que les flavonoïdes (Turrens, 2003). Les flavonoïdes sont des composés phénoliques ayant une activité antioxydante à travers le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de la production des EROs ou l'inhibition de la peroxydation lipidique (Grassi *et al.*, 2010 ; Shelembe *et al.*, 2016 ; Hasna *et al.*, 2021). Les saponines peuvent aussi exercer des propriétés antioxydantes (Kabera *et al.*, 2014). Ces résultats montrent que les effets anxiolytiques de *Bridelia micrantha* seraient dus au moins en partie à ses effets antioxydants.

L'utilisation des plantes médicinales comme alternatives est de plus en plus courante. Bien que les plantes médicinales présentent des activités biologiques bénéfiques à l'homme, le potentiel toxique de certains composés bioactifs qu'elles contiennent n'ont pas été établis. Les produits phytothérapeutiques contiennent des principes bioactifs qui ont la capacité de causer des effets indésirables (Mosihuzzaman, 2012). L'un des objectifs de ce travail était d'évaluer la toxicité

de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* en traitement aigu et en traitement subchronique chez la souris.

L'administration d'une dose unique de 5000 mg/kg de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* par voie orale n'a entraîné ni de décès, ni de changement de comportement, ni de variation de la masse corporelle des animaux pendant la période expérimentale. La dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) de cet extrait a été estimée supérieure à 5000 mg/kg. L'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* pourrait être considéré comme très faiblement toxique ou comme substance relativement inoffensive (Essama *et al.*, 2020). *Bridelia micrantha* étant utilisé de manière régulière en tradithérapie, il a été évalué la toxicité subchronique de son extrait aqueux.

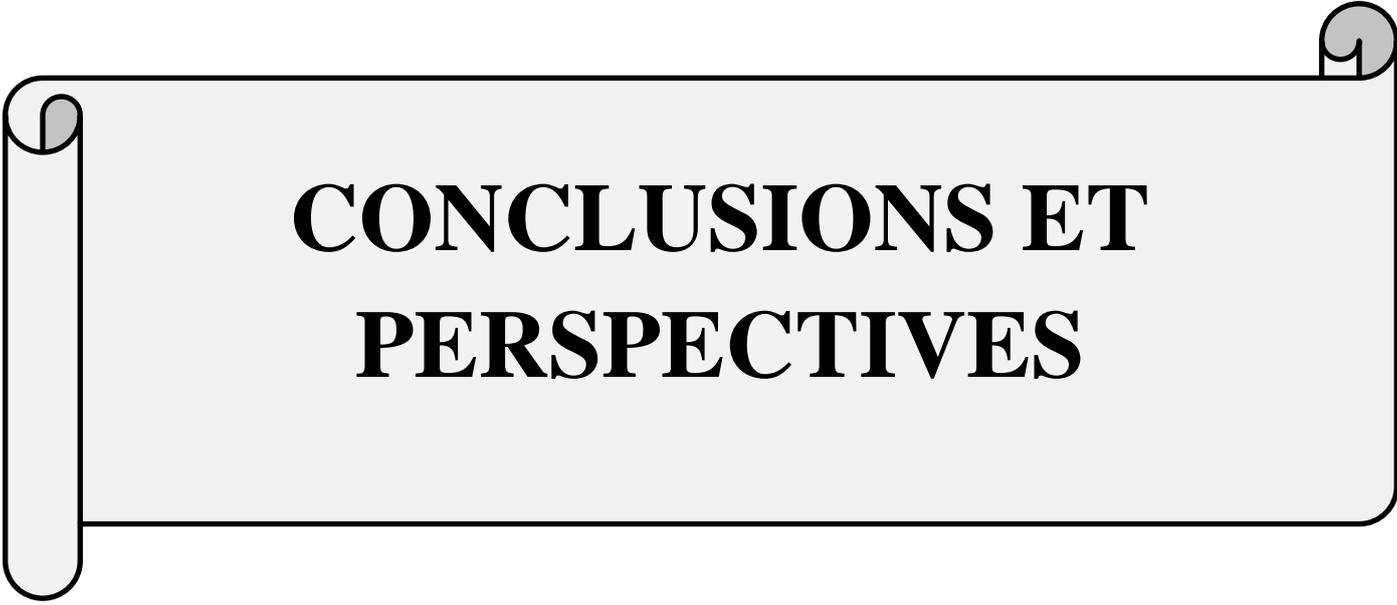
L'étude de la toxicité subchronique s'est étendue sur 28 jours avec 14 jours d'arrêt de traitement chez les animaux satellites afin de détecter les effets réversibles (OCDE, 2008). L'analyse de l'évolution pondérale est un indicateur d'effets pathologiques liés à la consommation d'un produit (Tahraoui *et al.*, 2010). Dans cette étude, il est apparu que le traitement à l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* aux doses de 305, 610 et 1220 mg/kg n'a pas affecté significativement la masse des animaux comparativement à leurs témoins respectifs (Essama *et al.*, 2020). Ce résultat suggère que cet extrait n'interférerait pas avec l'appétit des animaux et n'affecterait pas la prise alimentaire et hydrique. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aux différentes doses n'a pas entraîné de variation significative du poids relatif des organes investigués dans cette étude à savoir le cerveau, le foie, le rein et l'estomac comparativement aux animaux témoins respectifs qui ont reçu de l'eau distillée (Essama *et al.*, 2020). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Lakmichi *et al.*, (2010) dans l'étude du profil toxicologique de l'extrait hydro-éthanolique des racines de *Corrigiola telephiifolia* (Corryophyllaceae) chez le rat et Essama *et al.*, (2020) dans l'étude du profil toxicologique de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Khaya grandifolia* (Meliaceae). En effet, la réduction ou l'augmentation du poids des organes internes est un indice de toxicité après exposition à une substance toxique (Atsafack *et al.*, 2015), il ressort de cette étude que cet extrait de plante serait faiblement toxique (Essama *et al.*, 2020).

L'analyse des effets d'une administration répétée de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* sur le profil hématologique des souris a révélé une augmentation significative des taux de globules blancs (leucocytes), de globules rouges (érythrocytes), d'hémoglobine, de monocytes, de granulocytes et de plaquettes, indépendamment de la dose et du sexe par rapport à leurs témoins respectifs ayant reçu de l'eau distillée. Ces résultats sont similaires à ceux de Essama *et al.*, (2020) qui ont montré que *Khaya grandifolia* stimule la production des cellules hématologiques, en d'autres termes stimule le système hématopoïétique. En admettant que les globules blancs

(leucocytes) protègent l'organisme des corps étrangers (Guyton et Hall, 2011), l'extrait contiendrait des substances capables de stimuler la production des cellules immunitaires. Les monocytes et les granulocytes sont également impliqués dans la réponse immunitaire. La présence des granulocytes indique une stimulation du système immunitaire (effet anti-inflammatoire) qui protège les souris contre une infection (Essama *et al.*, 2020). En effet, les plaquettes sanguines sont impliquées dans la coagulation sanguine. Leur baisse pourrait être un facteur de risque pour des hémorragies prolongées (Heemskerk *et al.*, 2002 ; Reddy et Rand, 2020 ; Essama *et al.*, 2020).

L'analyse des paramètres biochimiques dans cette étude a révélé que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* en administration répétée pendant 28 jours a induit une baisse significative du taux d'ALAT et d'ASAT comparativement aux animaux témoins respectifs (Kayode *et al.*, 2017 ; Essama *et al.*, 2020). L'ALAT est une enzyme cytotologique sécrétée dans les cellules hépatiques, elle est libérée dans le sang en cas de nécrose cellulaire hépatique. C'est un important indicateur sensible de l'hépatotoxicité (Al-Habori *et al.*, 2002). La diminution de l'activité des transaminases pourrait traduire un effet hépatoprotecteur de cet extrait probablement médiée par l'action des flavonoïdes contenus dans la plante (Narayana *et al.*, 2001 ; Nwaehujor et Udeh, 2011 ; Kumar et Pandey, 2013 ; Kalegari *et al.*, 2014) ; en d'autres termes, la réduction des niveaux d'ASAT et d'ALAT par l'extrait de *Bridelia micrantha* après les 28 jours d'administration est une indication de la stabilisation de l'intégrité de la membrane cellulaire des hépatocytes, en maintenant la membrane intacte et l'enzyme enfermée. L'ALAT est une enzyme cytosolique trouvée en très forte concentration dans le foie, et une augmentation de cette enzyme spécifique indique des dommages hépatocellulaires ; tandis que l'ASAT est moins spécifique que l'ALAT comme indicateur de la fonction hépatique. L'administration de l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* pendant 28 jours a entraîné par rapport aux animaux témoins qui ont reçu de l'eau distillée une augmentation significative du taux de HDL-cholestérol indépendamment du sexe et de la dose (Essama *et al.*, 2020. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Adewolé et Ojewolé (2009) sur les effets protecteurs de l'extrait aqueux des feuilles d'*Annona muricata* sur le profil lipidique et le stress oxydant des hépatocytes des rats diabétiques traités à la streptozotocine. L'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* a diminué significativement les taux de triglycérides, de cholestérol total et de LDL cholestérol indépendamment du sexe et de la dose comparativement aux témoins respectifs ; en effet, une hypercholestérolémie est un facteur de risque majeur dans l'apparition de l'athérosclérose, maladie se caractérisant par un dépôt de plaques d'athéromes sur les parois des artères, réduisant de ce fait leur diamètre et par conséquent entravant le flux sanguin (kayode *et al.*, 2017). Ces résultats suggèrent que l'extrait de plante aurait des effets antihyperlipidémiques et pourrait protéger contre les maladies cardiovasculaires. Il n'a pas été observé comparativement aux

témoins respectifs de modifications significatives du taux de créatinine après 28 jours d'administration de l'extrait de plante suggérant une absence d'effets sur la fonction rénale (Essama *et al.*, 2020). Ces résultats indiquent une fois de plus que cet extrait serait relativement non toxique.



**CONCLUSIONS ET  
PERSPECTIVES**

L'objectif de cette étude était d'évaluer les propriétés anxiolytiques de l'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha*. Les effets de l'extrait de plante ont été évalués sur l'anxiété transitoire et chronique induite expérimentalement chez la souris à l'aide de différents paradigmes.

➤ Dans l'anxiété transitoire, l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* a modulé les paramètres comportementaux d'évaluation de l'anxiété à travers les tests de l'hyperthermie induite par le stress, du labyrinthe en croix surélevé, de l'arène ouverte et de la planche à trous. Dans le labyrinthe en croix surélevé, l'évaluation des paramètres comportementaux chez les animaux traités à l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg et au diazépam a révélé que l'extrait de plante est capable d'augmenter le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts et à l'inverse de diminuer le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras fermés comparativement aux animaux qui ont reçu de l'eau distillée. Dans l'arène ouverte, le nombre de lignes traversées, le nombre de toilettages et le temps passé au centre du dispositif ont diminué significativement chez les animaux qui ont reçu de l'eau distillée. L'administration de l'extrait de plante aux doses respectives de 76, 152 et 305 mg/kg a augmenté significativement le nombre de lignes traversées, le nombre de toilettages et le temps passé au centre du dispositif. Ces observations montrent que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* aurait des propriétés anxiolytiques.

➤ L'anxiété chronique a été induite par le stress de l'immobilisation chronique (SIC), de la séparation maternelle (SM) et par l'administration d'une substance chimique, la nicotine ; évaluée dans les tests du labyrinthe en croix surélevé, de l'arène ouverte et de la planche à trous. Les résultats obtenus dans ces différents modèles de stress chroniques sont similaires à ceux obtenus lors de l'anxiété transitoire et ne montrent pas de modifications significatives au niveau des différents paramètres comportementaux évalués. Ces résultats montrent que l'extrait de plante en administration répétée conserverait ses propriétés anxiolytiques. L'administration de l'extrait aqueux des écorces de *Bridelia micrantha* pendant chaque période expérimentale (période de stress) a maintenu le taux des paramètres biochimiques proches de la normale, indiquant ainsi une inhibition de l'anxiété. L'anxiété chronique a également provoqué une augmentation du taux de MDA, une diminution du taux de GSH et ainsi que celle de l'activité de la SOD et de la catalase chez les animaux ayant reçu de l'eau distillée. L'administration de l'extrait de plante à toutes les doses a amélioré grâce à ses propriétés antioxydantes, les paramètres du stress oxydant.

- L'étude de toxicité aiguë et subchronique a montré que l'extrait aqueux de *Bridelia micrantha* serait relativement non toxique.

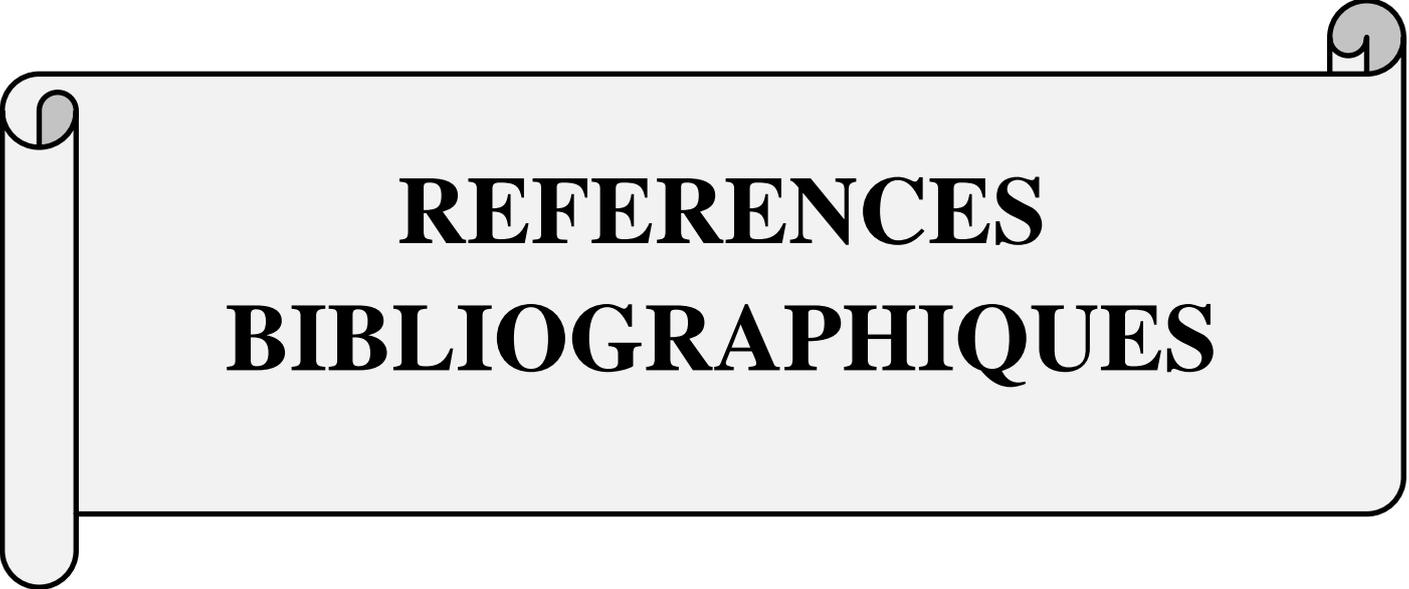
### **Perspectives :**

Afin d'approfondir cette étude, il serait judicieux dans les travaux futurs :

- d'évaluer les effets de l'extrait de plante sur d'autres voies de signalisation de l'anxiété notamment la voie noradrénergique, la voie dopaminergique ;
- de procéder à l'analyse histopathologique des zones du système nerveux central, particulièrement au niveau des structures cérébrales impliquées dans l'anxiété (amygdale, hippocampe, septum latéral, cortex préfrontal);
- d'évaluer la toxicité chronique de l'extrait de plante ;
- de développer des médicaments traditionnels améliorés (MTA).

### **Recommandations :**

L'extrait aqueux des écorces du tronc de *Bridelia micrantha* devrait être utilisé à la dose de 152 mg/kg pour le traitement de l'anxiété et pourrait constituer une source alternative pour la mise sur pied d'un médicament traditionnel amélioré.



**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aladesanmi AJ, Iwalewa EO, Adebayo AC, Akinkunmi EO, Taiwo BJ, Olorunmola FO, Lamikanra A.** (2006). Antimicrobial and antioxidant activities of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 4(2): 173-184.
- Adesina JM, Ileke KD, Yallappa R, Ofuya TI.** (2016). Insecticidal evaluation of *Bridelia micrantha* and *Dalbergia lactea* aqueous extracts for the control of *Podagrica uniforma* (Jacoby) and *Nisotra dilecta* (Jacoby) (Coleoptera: Chysomelidae) infestation on okra. *Agrivita Journal Science of Agricultural Science*. 38(3): 269-274.
- Adewole SO, Ojéwole JA.** (2009). Protective effects of *Annona muricata* linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 6(1): 30-41.
- Adika OA, Madubunyi II, Asuzu IU.** (2012). Antidiabetic and antioxidant effects of the methanol extract of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. (Euphorbiaceae) leaves on alloxan-induced diabetic albino mice. *Comparative Clinical Pathology*. 21(5): 945-951.
- Al-Habori M, Al-Aghbari A, Al-Mamary M, Baker M.** (2002). Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long-term feeding experiment in animals. *Journal of Ethnopharmacology*. 83(3): 209-217.
- American Psychiatric Association.** (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth Edition: *DSM-V®*. Arlington, VA: American Psychiatric Association: 947 p.
- Amri N, Habbachi S, Ibtissem S, Abdelmadjid B, Abdelkrim T.** (2021). Amplified neurobehavioral and hormonal alterations following the combination of prenatal and postnatal stress in first-time rats. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 9(1): 1-5.
- Andrews G, Bell C, Boyce P, Gale C, Lampe L, Marwat O, Rapee R, Wilkins G.** (2018). Royal Australian and New-Zealand College of psychiatrists clinical practice guidelines for treatment of panic disorder, social anxiety disorder and generalized anxiety disorder. *Australian and New-Zealand Journal of Psychiatry*. 52(12): 1109-1172.
- Atsafack SS, Kuate JR, Mouokeu RS, Koanga ML, Tchinda AT, Tamokou JD, Magnifouet H, Ebelle RM, Biyiti L, Ngono RA.** (2015). Toxicological studies of stem bark extract from *Schefflera barteri* Harms (Araliaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15: 1-44.

- Ayissi RE, Gartside SE, Ngo Bum E, Njikam N, Okello E, McQuade R.** (2012). Effect of *Mimosa pudica* (Linn.) extract on anxiety behaviour and GABAergic regulation of 5-HT neuronal activity in the mouse. *Journal of Psychopharmacology*. 26(4): 575-583
- Ayissi RE, Omam JP, Kandeda KA, Njapdounke SJ, Ngo Bum E.** (2015). (Anxiolytic (Benzodiazepine-Like) properties of *Mimosa pudica* in Mice). *International Journal of Brain Cognitive Sciences*. 4(3): 41- 49.
- Azevodo M, Balkau B, Roussel R, Tichet J, Fumeron F, Fagherazzi G, Nabi H** (2016). Longitudinal association of antidepressant medication use with metabolic syndrome: Results of a 9-year follow-up of the D.E.S.I.R cohort study. *Psychoneuroendocrinology*. 74: 34-45.
- Backhaus A, Agha Z, Maglione ML, Repp A, Ross B, Zuest D, Riz-Thorp NM, Lohr J, Thorp SR.** (2012). Video conferencing psychotherapy: A systematic review. *Psychological Services*. 9(2): 111-131.
- Bagetta G, Cosentino M, Tiziana M, Sakurada S.** (2011). *Herbal Medicines: Development and Validation of Plant-derived Medicines for Human Health*. Clinical pharmacognosy series. First Edition: CRC Press, Amazon France: 519 p.
- Baldwin DS, Allgulander C, Bandelow B, Ferre F, Pallanti S.** (2012). An international survey of reported prescribing practice in the treatment of patients with generalised anxiety disorder. *World Journal of Biological and Psychiatry*. 13(7): 510-516.
- Bandelow B, Zohar J, Hollander E, Kasper S, Möller HJ.** (2008). World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for the pharmacological treatment of anxiety, obsessive-compulsive and post-traumatic stress disorders. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 9(4): 248-312.
- Bardin L, Malfetes N, Newman-Tancredi A, Depoortère R.** (2009). Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in the rat: Relevance to human stress-associated painful pathologies. *Behavioural Brain Research*. 205(2): 360-366.
- Batelaan NM, Rhebergen D, Spinhoven P, Anton J, Balkom V, Pennix WJ.** (2014). Two-year course trajectories of anxiety disorders: do DSM classifications matter? *Journal of Clinical Psychiatry*. 75(9): 985- 993.
- Bekele-Tesemma A.** (2007). *Useful trees and shrubs for Ethiopia: identification, propagation and management for 17 agroclimatic zones*. Technical Manual No 6. RELMA in ICRAF Project, Nairobi, Kenya: 552 p.

- Belzung C, Griebel G.** (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research*. 125(1-2): 141-149.
- Bener A, Abou-Saleh MT, Dafeeah EE, Bhugra D.** (2015). The prevalence and burden of psychiatric disorders in primary health care visits in Qatar: too little time? *Journal of Family Medicine and Primary Care*. 4(1): 89-95.
- Bengono Bengono R, Ntone F, Amengle AL, Mendo EL, Mbengono JA, Esiene A, Minkande J.** (2019). Evaluation et prise en charge de l'anxiété préopératoire chez l'adulte camerounais. *Revue de Médecine et de Pharmacie*. 9(2) : 1035-1043.
- Bernardy NC, Friedman MJ.** (2015). Psychopharmacological strategies in the management of posttraumatic stress disorder (PTSD): what have we learned? *Current Psychiatry Reports*. 17(4): 564.
- Bessong PO, Obi CL, Igumbor E, Andreola ML, Litvak S.** (2004). *In vitro* activity of three selected South African medicinal plants against human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *African Journal of Biotechnology*. 3(10): 555-559.
- Bessong PO, Rojas LB, Obi LC, Tshisikawe PM, Igumbor EO.** (2006). Further screening of Venda medicinal plants for activity against HIV type 1 reverse transcriptase and integrase. *African Journal of Biotechnology*. 5(6): 526-528.
- Blanca VA, Iorio MT, Luca LS, Konstantina B, Margot E, Schnürch M, Marko DM.** (2020). Allosteric GABAA Receptor Modulators-A Review on the Most Recent Heterocyclic Chemotypes and Their Synthetic Accessibility. *Molecules*. 25(4): 1-47.
- Blanchard RJ, Blanchard DC, Griebel G, Nutt DJ.** (2011). *Handbook of anxiety and fear*. First Edition. Amsterdam: Elsevier Science: 450 p.
- Bouayed J, Rammal H, Younos C, Soulimani R.** (2007b). Positive correlation between peripheral blood granulocyte oxidative status and level of anxiety in mice. *European Journal of Pharmacology*. 564(1-3): 146-149.
- Bouayed J, Rammal H, Soulimani R.** (2009). Oxidative stress and anxiety. Relationship and cellular pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(2) : 63-67.
- Boulenger JP, Lépine JP.** (2014). *Les troubles anxieux*. Edition : Lavoisier. Médecine Sciences Publications. Collection psychiatrie (Paris) : 319 p.
- Bourin M.** (2004). Pharmacologie du récepteur GABAA. Dans : « *Anxiété, anxiolytiques et troubles cognitifs* ». Editeur Ferreri M, Elsevier, Paris: 11 p.
- Bourin M.** (2010). The problems with the use of benzodiazepines in elderly patients. *L'Encephale*. 36: 340-347.

- Bourin M, Thibaut F.** (2013). A critical approach of the current treatment of anxiety disorders. *Current Psychopharmacology*. 2(2): 104-112.
- Bosch CH, Lemmens RH, Louppe D, Oteng-Amoako AA.** (2012). *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. In *Plant Resources of Tropical Africa*. Timbers 2; Editions. PROTA Foundation: Wageningen, the Netherlands. 7(2): 169-171.
- Bradley BF, Starkey NJ, Brown SL, Lea RW.** (2007). Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the *Mongolian gerbil* elevated plus maze. *Journal of Ethnopharmacology*. 111(3): 517-525.
- Breslau N, Peterson EL, Schultz LR.** (2008). A second look at prior trauma and the posttraumatic stress disorder effects of subsequent trauma: a prospective epidemiological study. *Archives of General Psychiatry*. 65(4): 431- 437.
- Breslau N, Koenen KC, Zhehui LU, Agnew-Blais J, Swanson S, Houts RM, Poulton R, Moffitt TE.** (2014). Childhood maltreatment, juvenile disorders and adult posttraumatic stress disorder: A prospective investigation. *Psychological Medicine*. 44(9): 1937-1945.
- Caramaschi D, De Boer SF, Koolhaas JM.** (2007). Differential role of the 5-HT1A receptor in aggressive and non-aggressive mice: An across-strain comparison. *Physiology and Behavior*. 90(4) : 590- 601.
- Champagne A.** (2018). Caractérisation des comorbidités psychiatriques et comportementales des enfants et des adolescents ayant subi une première crise épileptique. Mémoire de Maîtrise en Neurosciences. Université de Montréal : 82 p.
- Chandrashekar K, Amudha P, Venkataraman S.** (2017). Anxiolytic activity of ethanolic and aqueous extract of *Ficus carica* Linn fruits in swiss albino mice. *International Journal of Basic and Clinical Pharmacology*. 6(8): 2043-2050.
- Chapoutier G, Lepicard EM, Rössler AS, Venault P.** (2002). L'anxiété, un pont entre l'épilepsie et la mémoire ? Vulnérabilité, Adaptation et Psychopathologie. UMR CNRS 7593. *Philosophie des Sciences*. 6(1) : 75-91.
- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G.** (2005). Endocrinology of the stress response. *Annual Reviews of Physiology*. 67: 259-284.
- Cheeta S, Tucci S, File SE.** (2001a). Antagonism of the anxiolytic effect of nicotine in the dorsal raphe nucleus by dihydro-beta-erythroïdine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 70(4): 491- 496.
- Cheeta S, Irvine EE, Kenny PJ, File SE.** (2001b). The dorsal raphé nucleus is a crucial structure mediating nicotine's anxiolytic effects and the development of tolerance and withdrawal responses. *Psychopharmacology*. 155(1): 78-85.

- Chen J, Wang ZZ, Zuo W, Zhang S, Chu SF, Chen NH.** (2016). Effects of chronic mild stress on behavioral and neurobiological parameters-Role of glucocorticoids. *Hormones and Behavior*. 78: 150-159.
- Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Wakabayashi C, Kunugi H.** (2012). Chronic restraint stress causes anxiety and depression-like behaviors, down regulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 39(1): 112-119.
- Chouinard G.** (2004). Issues in the clinical use of benzodiazepines: potency, withdrawal, and rebound. *The Journal of Clinical Psychiatry* 65(5): 7-12.
- Chrousos GP.** (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*. 5(7): 374-381.
- De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F.** (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 6(6): 463-475.
- Ditzen C, Jastorff AM, Keßler MS, Bunck M, Teplytska L, Erhardt A, Krömer SA, Varadarajulu J, Targosz BS, Sayan-Ayata EF, Holsboer F, Landgraf R, Turck CW.** (2006). Protein Biomarkers in a mouse model of extremes in trait anxiety. *Molecular and Cellular Proteomics*. 5(10): 1914-1920.
- Doukkali Z, Boudida H, Srfi A, Taghzouti K, Cherrah Y, Alaoui K.** (2015). Anxiolytic plants in Morocco: Ethnobotanical and ethnopharmacological study. *Phytothérapie*. 13(5): 306-313.
- Doukkali Z, Kamal R, Jemeli M, Nadjmouddine M, Zellou A, Cherrah C, Alaoui K, Taghzouti KS.** (2016). Anti-Anxiety Effects of *Mercurialis annua* aqueous extract in the Elevated Plus Maze Test. *Pharmacology Bioprocess*. 4(4): 056-061.
- Durant C, Christmas D, Nutt D.** (2010). The pharmacology of anxiety. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. 2: 303-330.
- Ellman GL.** (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82(1): 70-77.
- El-Sawi SA, Sleem AA.** (2010). Flavonoids and hepatoprotective activity of leaves of *Senna surattensis* (Burm.f.) In CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4(6): 1326-1334.
- Essama DS, Otto GL, Enow GE, Amang P, Tang PV.** (2020). Acute and subacute toxicological study of the aqueous extract of the stem bark of *Khaya grandifoliola* (Meliaceae) in wistar rats. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research*. 5(1): 106-111.

- Fakhfouri G, Rahimian R, Dyhrfjeld JJ, Reza ZM, Beaulieu JM.** (2019). 5-HT<sub>3</sub> Receptor Antagonists in Neurologic and Neuropsychiatric Disorders: The Iceberg Still Lies beneath the Surface. *Pharmacological Reviews*. 71: 383-412.
- Faulkner P, Ghahremani DG, Tyndale RF, Hellemann G, London ED.** (2018). Functional connectivity of the raphe nuclei: Link to tobacco withdrawal in smokers. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 21(9): 800-808.
- File SE, Cheeta S, Kenny PJ.** (2000). Neurobiological mechanisms by which nicotine mediates different types of anxiety. *European Journal of Pharmacology*. 393(1-3): 231-236.
- Finn DA, Rutledge-Gorman MT, Crabbe JC.** (2003). Genetic animal models of anxiety. *Neurogenetics*. 4(3): 109 -135.
- Fink G.** (2007). *Encyclopedia of stress*. Second Edition. Academic Press, USA: 3000 p.
- Frauke O, Arndt SS, van der Staay FJ.** (2008). Pathological anxiety in animals. *The Veterinary Journal*. 175 (1): 18-26.
- Fotsing D, Njapdounke KJ, Kenneth YA, Ngo Bum E.** (2016). Effect of *Nelsonia canescens* (Acanthaceae) on the stress-induced behavioral and reproductive changes in female rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(12): 31- 49.
- Fotsing D, Ngoupaye GT, Ouafu AC, Njapdounke KJ, Yongabi AK, Ngo Bum E.** (2017). Effects of *Gladiolus dalenii* on the Stress-induced behavioral, neurochemical and reproductive in rats. *Frontiers in Pharmacology*. 8(685): 1-9.
- Gangoué-Piéboji J, Baurin S, Frère JM, Ngassam P, Ngaameni B, Azebaze A, Pegnyemb DE, Watchueng J, Goffin C, Galleni M.** (2007). Screening of some medicinal plants from Cameroon for  $\beta$ -lactamase inhibitory activity. *Phytotherapy Research*. 21(3): 284-287.
- Gangoué-Piéboji J, Eze N, Djintchui AN, Ngameni B, Tsabang N, Pegnyemb DE, Biyiti L, Ngassam P, Koulla-Shiro S, Galleni M.** (2009). The in vitro antimicrobial activity of some traditionally used medicinal plants against beta-lactam-resistant bacteria. *Journal of Infection in Developing Countries*. 3(9): 671-680.
- Glen O, Gabbard MD.** (2014). *Gabbard's treatments of psychiatric disorders*. Fifth Edition. Washington, American Psychiatric Association Publishing: 1248 p.
- Goodman WK.** (2004). Selecting pharmacotherapy for generalized anxiety disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*. 65(13): 8-13.
- Gordon JA, Hen R.** (2004). The serotonergic system and anxiety. *Neuromolecular Medicine*. 5(1): 27- 40.
- Gornall AG, Barawill CJ, David MM.** (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological and Chemistry*. 177 (2): 751-766.

- Grant JE, Odlaug BA, Won KS.** (2009). N-Acetylcysteine, a glutamate modulator, in the treatment of Trichotillomania. *Archives of General Psychiatry.* 66(7): 756-763.
- Grassi D, Desideri G, Ferri C.** (2010). Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients.* 2(8) : 889-902.
- Graziani P.** (2008). *Anxiété et troubles anxieux.* Edition : Armand Colin. Collection 128. Psychologie, Paris : 128 p.
- Green E, Obi LC, Samie A, Bessong PO, Ndip RN.** (2011). Characterization of n-hexane subfraction of *Bridelia micrantha* (Berth) and its antimycobacterium activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 11(28): 1-5.
- Griesler PC, Mei-Chen HU, Schaffran C, Kande DB.** (2011). Comorbid psychiatric disorders and nicotine dependence in adolescence. *Addiction.* 106 (5): 1010-1020.
- Grundmann O, Nakajima J, Seo S, Butterweck V.** (2007). Anti-anxiety effects of *Apocynum venetum* L. in the elevated plus maze test. *Journal of Ethnopharmacology.* 110 (3): 406-411.
- Guyton A, Hall J.** (2011). *Textbook of Medical Physiology.* Twelfth Edition. Elsevier Saunders. Philadelphia (USA): 1091 p.
- Harbone JB.** (1998). *Phytochemical methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* Plant physiology. Third Edition, Springer Science and Business Media, Netherlands: 302 p.
- Harsha SN, Anilakumar KR.** (2013). Anxiolytic property of hydro-alcohol extract of *Lactuca sativa* and its effects on behavioral activities of mice. *Journal of Biomedical Research.* 2013. 27(1): 37- 42.
- Hasna T, Hasnaa Y, Weiwei Xu, Changxin Wu, Rongshan Li, Yafeng Li.** (2021). Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Their Contribution in Chronic Kidney Disease Progression Through Oxidative Stress. *Frontiers in Physiology.* 12: 1-12.
- Hazim AI, Ramanathan S, Parthasarathy S, Muzaimi M, Mansor SM.** (2014). Anxiolytic-like effects of mitragynine in the open-field and elevated plus-maze tests in rats. *Journal of Physiological Sciences.* 64: 141-169.
- Heemskerk JW, Bevers EM, Lindhout T.** (2002). Platelet activation and blood coagulation. *Thrombosis and Haemostasis.* 88(2): 186-193.
- Himanshu, Dharmila, Deepa S, Nutan.** (2020). A review of behavioral tests to evaluate different types of anxiety and anti-anxiety effects. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience.* 18(3): 341-351.

- Ho AK, Thorpe CT, Pandhi N** (2015). Association of anxiety and depression with hypertension control: A US multidisciplinary group practice observational study. *Journal of Hypertension*. 33(11): 2215-2222.
- Hovatta L, Tennant RS, Helton R, Marr RA, Singer O, Redwine JM, Ellison JA, Schadt EE, Verma IM, Lockhart DJ, Barlow C.** (2005). Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature*. 438(7068): 662- 666.
- Hoyer D, Hannon JP, Martin GR.** (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 71(4): 533-554.
- Hyun SC, Bang YH, Chong KL, Myung KL.** (2013). Anxiolytic effects of herbal ethanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* in mice after exposure to chronic stress. *Molecules*. 18(4): 4342-4356.
- Joëls M, De Kloet ER.** (2017). 30 years of the mineralocorticoid receptor: The brain mineralocorticoid receptor: a saga in three episodes. *Journal of Endocrinology*. 234: 49-66.
- Justin SF, Ralph A, Antonio RD, Daniel T.** (2011). The human amygdala and the induction and experience of fear. *Current Biology*. 21(1): 34-38.
- Kabera JN, Semana E, Mussa AR, He X.** (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(7): 377-392.
- Kalegari M, Gemin CA, Araújo-Silva G, Brito NJ, López JA, Oliveira SD, Almeida MG, Miguel MD, Stien D, Miguel OG.** (2014). Chemical composition, antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Rourea induta* Planch. (*Connaraceae*) against CCl<sub>4</sub>- induced liver injury in female rats. *Nutrition*. 30(6): 713-718.
- Kassel JD, Unrod M.** (2000). Smoking, anxiety, and attention: Support for the role of nicotine in attentionally mediated anxiety. *Journal of Abnormal Psychology*. 109(1): 161-166.
- Kaur S, Singh R.** (2017). Role of different neurotransmitters in anxiety: a systemic review. *International Journal of Pharmaceutical and Sciences Research*. 8(2): 411-421.
- Kayode SO, Aigbe FR, Olanrewayu AS, Chijioke MC, Adeyemi OO.** (2017). Toxicological evaluation of the aqueous whole plant extract of *Aerva lanada* (L.) juss. (*Amaranthaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*. 208: 174-184.
- Kehne JH, Cain CK.** (2010). Therapeutic utility of non-peptidic CRF1 receptor antagonists in anxiety, depression, and stress-related disorders: evidence from animal models. *Pharmacology and Therapeutics*. 128(3): 460-487.

- Kendall PC, Hedtke KA, Aschenbrand SG.** (2006). Anxiety disorders. Dans DA. Wolfe & EJ. Mash. *Behavioral and emotional disorders in adolescence: Nature, assessment and treatment*. Second Edition, New York, NY: The Guilford Press: 42 p.
- Kenny PJ, Cheeta S, File SE.** (2000). Anxiogenic effects of nicotine in the dorsal hippocampus are mediated by 5-HT<sub>1A</sub> and not by muscarinic M<sub>1</sub> receptors. *Neuropharmacology*. 39(2): 300-307.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE.** (2005). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry*. 62(6): 593- 602.
- Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Ormel J, Bedirhan T, Wang PS.** (2009). The global burden of mental disorders: An update from the WHO World Mental Health (WMH) Surveys. *Epidemiology Psychiatry Social*. 18(1): 23-33.
- Kessler RC, Petukhova M, Sampson NA, Zaslavsky AM, Wittchen HU.** (2012). Twelve month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. *International Journal of Methods Psychiatric Research*. 21(3): 169-184.
- Knobelman DA, Kung HF, Lucki I.** (2000). Regulation of extracellular concentrations of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in mouse striatum by 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 292(3): 1111-1117.
- Koolhaas JM, Bartolomucci A, Buwalda B, Boer SF, Flügge G, Korte SM, Meerlo P, Murison R, Olivier B, Palanza P, Richter-Levin G, Sqoifo A, Steimer T, Stiedi O, Van G, Wohr M, Fuchs E.** (2011). Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 35(5): 1291-1301.
- Kumar S, Pandey AK.** (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 2013: 1-17.
- Kutlu MG, Gould TJ.** (2015). Nicotine modulation of fear memories and anxiety: Implications for learning and anxiety disorders. *Biochemical Pharmacology*. 97(4): 498-511.
- Kyrou I, Tsigos C.** (2009). Stress hormones: Physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*. 9(6): 787-793.
- Lader M.** (2011). Benzodiazepines revisited: will we ever learn? *Addiction*. 106(12): 2086-2109.
- Lakmichi H, Bakhtaoui FZ, Gachi CA, Ezoubeiri A, El jahiri Y, El mansouri A, Zrara I, Loutfi K.** (2010). Toxicity profile of the aqueous ethanol root extract of *Corrigiola telephiifolia* pourr. (Caryophyllaceae) in rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011: 1-10.

- Lanzenberger RR, Mitterhauser M, Spindelegger C, Wadsak W, Klein N, Mien LK, Holik A, Attarbaschi T, Mossaheb N, Sacher J, Geiss-Granadia T, Kletter K, Kasper S, Tauscher J.** (2007). Reduced serotonin-1A receptor binding in social anxiety disorder. *Biological Psychiatry*. 61(9) : 1081-1089.
- Leman S, Le Guisquet A, Belzung C.** (2004). Liens anxiété-mémoire : études expérimentales. Dans : « *Anxiété, anxiolytiques et troubles cognitifs* », Editeur Ferreri, M. Elsevier, Paris, France : 9 p.
- Li J, Liu QT, Chen Y, Liu J, Shi JL, Liu Y, Guo JY.** (2016). Involvement of 5-HT1A Receptors in the Anxiolytic-Like Effects of Quercitrin and Evidence of the Involvement of the Monoaminergic System. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016: 1-10.
- Li M, Wei SC, Wei JL, Rui W, Yu LL, Wen JW, Xioa JM.** (2005). The effects of angelica essential oil in social interaction and hole board test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 81(4): 838-842.
- Lin EJ.** (2012). Neuropeptides as therapeutic targets in anxiety disorders. *Current Pharmaceutical Design*. 18(35): 5709-5727.
- Lin J, Puckree T, Mvelase TP.** (2002). Anti-diarrhoeal evaluation of some medicinal plants used by Zulu traditional healers. *Journal of Ethnopharmacology*. 79(1): 53-56.
- Lolli LF, Sato CM, Romanini CV, Villas-Boas LB, Santos CA, de Oliveira RM.** (2006). Possible involvement of GABA A-benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by Passiflora actinia extracts in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 111 (2): 308-314.
- Lopez-Rubalcava C, Pi ña-Medina B, Estrada-Reyes R, Heinze G, Martinez-Vazquez M.** (2005). Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of Annona cherimolia in two anxiety paradigms: Possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex. *Life Sciences*. 78(7): 730-737.
- Lu S, Wei F, Li G.** (2021). The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell Stress*. 5(6): 76-85.
- Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C.** (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*. 10(6): 434- 445.
- Lydiard RB.** (2003). The role of GABA in anxiety disorders. *Journal of Clinical Psychiatry*. 64(3): 21-27.

- Machawal L, Kumar A.** (2014). Possible involvement of nitric oxide mechanism in the neuroprotective effect of rutin against immobilization stress induced anxiety like behaviour, oxidative damage in mice. *Pharmacological Reports*. 66(1): 15-21.
- Mairaira V, Omam JP, Pahaye D, Moto FC, Ngo Bum E.** (2018). Anxiolytic effects of *Senna singueana* in mice after exposure to chronic restraint-stress. *International Journal of Brain and Cognitive Sciences*. 7(2): 36-41.
- Mairaira V, Sidiki N, Omam JP, Moto FC, Ngo Bum E.** (2020). The decoction of *Senna singueana* (Calsalpiniaceae) inhibits the anxiety-inducing effects induced by the acute injection of nicotine in mice in the elevated plus maze test. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. 10(3): 351-358.
- Malin DH.** (2001). Nicotine dependence: studies with a laboratory model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 70(4): 551-559.
- Manavi C, Rajkumar V, Vijai L, Shibani S, Anil Kumar V, Abbas M, Gautam P.** (2013). Anxiolytic effects of *Plumeria rubra* var. Flower extracts in the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Asian Journal of Psychiatry*. 6(2): 113-118.
- Maroyi A.** (2017). Ethnopharmacology and therapeutic value of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. In Tropical Africa: A comprehensive Review. *Molecules*. 22(9): 1-21.
- Mburu C, Kareru PG, Kipyegon C, Madivoli ES, Maina EG, Kairigo PK, Kimani PK, Marikah DM.** (2016). Phytochemical Screening of Crude of *Bridelia micrantha*. *European Journal of Medicinal Plants*. 16(1): 1-7.
- Millan MJ.** (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress Neurobiology*. 70(2): 83-244.
- Meneses A, Perez-Garcia G.** (2007). 5-HT<sub>1A</sub> receptors and memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 31(5): 705-727.
- Misra HP, Fridovich I.** (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *The Journal of Biological Chemistry*. 247(10): 3170-3175.
- Möhler H.** (2011). The rise of a new GABA Pharmacology. *Neuropharmacology*. 60(7-8) : 1042-1049.
- Moisan MP, Le Moal M.** (2012). Le stress dans tous ses états. *Médecine Sciences*. 28(6-7): 612-617.
- Morris HV, Dawson GR, Reynolds DS, Atack JR, Stephens DN.** (2006). Both alpha2 and alpha3 GABAA receptor subtypes mediate the anxiolytic properties of benzodiazepine site ligands

in the conditioned emotional response paradigm. *European Journal of Neuroscience*. 23(9): 2495- 2504.

- Mosihuzzaman M.** (2012). Herbal medicine in healthcare: An-overview. *Natural Product Communications*. 7(6): 807-812.
- Moto FC, Ngo Bum E, Talla E, Taiwe GS, Ngoupaye GT.** (2012). Anxiolytic-like effects of the decoction of *Psorospermum febrifugum* in mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*. 3(1): 607-614.
- Moto FC, Arsa'a A, Ngoupaye GT, Taiwe GS, Njapdounke JS, Kandeda AK, Nkantchoua GC, Omam JP, Pale S, Kouemou NE, Ayissi RE, Pahaye DB, Ojong L, Mairaira V, Ngo Bum E.** (2018). Anxiolytic and Antiepileptic Properties of the Aqueous Extract of *Cissus quadrangularis* (vitaceae) in Mice Pilocarpine Model of Epilepsy. *Frontiers in Pharmacology*. 9: 1-10.
- Muller CP, Carey RJ, Huston JP, De Souza MA,** (2007). Serotonin and psychostimulant addiction: Focus on 5-HT<sub>1A</sub>-receptors. *Progress Neurobiology*. 81(3): 133-178.
- Mumtaz J, Willem AJ, Pim C, Pennix Bw.** (2012). Association of smoking and nicotine dependence with severity and course of symptoms in patients with depressive or anxiety disorder. *Drug and Alcohol Dependence*. 126(1-2): 138-146.
- Murakami Y, Uchida K, Rijli FM, Kuratani S.** (2005). Evolution of the brain developmental plan: Insights from agnathans. *Developmental Biology*. 280(2): 249-259.
- Nadezhda D, Gontcharova.** (2013). Stress responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: age-related features of the vasopressinergic regulation. *Frontiers Endocrinology*. 4 (26): 1-15.
- Nahvi RJ, Sabban EL.** (2020). Sex Differences in the Neuropeptide Y System and Implications for Stress Related Disorders. *Biomolecules*. 10(9): 1-21.
- Nair AB, Shery J.** (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 7(2): 27-31.
- Narayana RK, Reddy SM, Chaluvadi MR, Krishna DR,** (2001). Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. *Indian Journal of Pharmacology*. 33(1): 2-16.
- Narvaes R, Martins RM.** (2014). Agressive behavior and three neurotransmitters: Dopamine, Gaba and Serotonin-a review of the last 10 years. *Phsiology and Neuroscience*. 7(4): 6001-607.
- Naukkarinen H, Raassina R, Penttinen J, Ahokas A, Jokinen R, Koponen H, Lepola U, Kanerva H, Lehtonen L, Pohjalainen T, Partanen A, Maki-ikola O, Rouru J.** (2005).

- Dermaciclone in the treatment of generalized anxiety disorder: A placebo-controlled, double-blind, dose finding study. *European Neuropsychopharmacology*. 15(6): 617- 623.
- Neumann ID, Landgraf R.** (2012). Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends Neurosciences*. 35(11): 649-659.
- Ngo Bum E, Taiwe GS, Moto FC, Ngoupaye GT, Nkantchoua GC, Pelanken MM, Rakotonirina SV, Rakotonirina A.** (2009a). Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* Smith in mice. *Epilepsy and Behavior*. 15(4): 434- 440.
- Ngo Bum E, Soudi S, Ayissi RE, Dong C, Lakoulo NH, Maidawa F, Seke P, Nanga L, Taiwe G, Dimo T, Njifutie N, Rakotonirina A, Rakotonirina SV, Kamanyi A.** (2011). Anxiolytic activity evaluation of four medicinal plants from Cameroon. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. 8(S):130-139.
- Ngo Bum E, Ngah E, Mune RM, Minkoulou DM, Talla E, Moto FC, Ngoupaye GT, Taiwe GS, Rakotonirina A, Rakotonirina SV.** (2012). Decoctions of *Bridelia micrantha* and *Croton macrostachyus* may have anticonvulsant and sedative effects. *Epilepsy and Behavior*. 24(3): 319-323.
- Ngono AR, Etame ER, Tchinda TA, Njateng GS, Mouokeu RS, Aboudi CE.** (2019). Antibacterial activity of methanol extract and fractions from stem bark of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. (Phyllanthaceae). *Ec Pharmacology and Toxicology*. 7(7): 609-616.
- Ngueyem TA, Brusotti G, Caccialanza G, Finzi PV.** (2009). The genus *Bridelia*: A phytochemical and ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*. 124(3): 339-349.
- Niknamian S.** (2019). The Impact of Stress, Anxiety, Fear and Depression in The Cause of Cancer in Humans. *American Journal of Biomedical Science and Research*. 3(4): 363-370.
- Njapdounke JS, Nkantchoua NS, Moto FC, Taiwe SG, Neteydji S, Pale S, Ayissi RE, Ngo Bum E.** (2016). Anxiolytic - like properties of *hallea ciliata* in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. 13(4): 1-7.
- Njoku OV, Chidi O.** (2009). Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 3(11): 228-233.
- Nojumi M, Ghaeli P, Salimi S, Sharifi A, Raisi F.** (2016). Effects of Passion Flower Extract, as an Add-On Treatment to Sertraline, on Reaction Time in Patients with Generalized

- Anxiety Disorder: A Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Iranian Journal of Psychiatry*. 11(3): 191-197.
- Nondo RS, Zofou D, Moshi MJ, Erasto P, Wanji S, Ngemenya MN, Titanji VP, Kidukuli AW, Masimba PJ.** (2015). Ethnobotanical survey and in vitro antiplasmodial activity of medicinal plants used to treat malaria in Kagera and Lindi regions, Tanzania. *Journal of Medical Plants Research*. 9(6): 179-192.
- Nwaehujor CO, Udeh NE.** (2011). Screening of ethyl acetate extract of *Bridelia micrantha* for hepatoprotective and antioxidant activities on Wistar rats. *Asian Pacific Journal Tropical Medicine*. 4(10): 796 -798.
- O'Brien CP.** (2005). Benzodiazepines use, abuse, and dependence. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 66(2) : 28-33.
- O'connor KP, Belanger L, Lecomte Y.** (2003). Benzodiazépines : santé mentale et santé sociale. *Santé Mentale au Québec*. 28(2) : 15-21.
- OCDE.** (2001). Toxicité orale aiguë : Méthode de la dose prédéterminée. Lignes directrices de l'OCDE n° 423 pour les essais de produits chimiques. 1 : 1-14.
- OCDE.** (2008). Etude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. Lignes directrices de l'OCDE n° 407 pour les essais de produits chimiques. 1: 1-14.
- Okeleye BI, Bessong PO, Ndip RN.** (2011). Preliminary phytochemical screening and in vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of the stem bark of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. Euphorbiaceae). *Molecules*. 16(8): 6193- 6205.
- Omam JP, Ayissi RE, Kandeda KA, Minkoulou DM, Njapdounke SJ, Moto FC, Ngo Bum E.** (2017). Gaba-Receptor Complex in the anxiolytic properties of *Parkia biglobosa* in mice. *International Journal of Brain and Cognitive Sciences*. 6(2) : 26-33.
- OMS.** (2013). Stratégie de l'Organisation Mondiale de la Santé concernant la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Conférence internationale sur la médecine traditionnelle pour les pays d'Asie du Sud-Est, New Delhi Inde : 75 p.
- OMS.** (2014). Santé mentale : Renforcer notre action. Aide-mémoire, numéro 220.
- OMS.** (2016). Les investissements dans le traitement de la dépression et de l'anxiété rapportent quatre fois leur valeur. Communiqué de presse publié conjointement par l'OMS et la Banque Mondiale dans le cadre des assemblées de printemps du fond monétaire internationale à Washington D.C, USA.
- Onoja S, Ukwueze C, Ezeja M, Udeh N.** (2014). Antinociceptive and antioxidant effects of hydromethanolic extract of *Bridelia micrantha* stem bark. *Journal of Experimental and Integrative Medicine*. 4(4): 273.

- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Simons A.** (2009). *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. (Euphorbiaceae). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. World Agroforestry Centre, Kenya: 5 p.
- Patro G, Subrat KB, Bijay KM.** (2016). Effects of *Mimosa pudica* L. Leaves extract on anxiety, depression and memory. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 6(6): 696-710.
- Philippe N.** (2015). Anxiety disorders and GABA neurotransmission: A disturbance of modulation. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 11: 165-175.
- Picciotto MR, Brunzell DH, Caldarone BJ.** (2002). Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport*. 13(9): 1097-1106.
- Pisoschi AM, Pop A.** (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress. A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 97(31) : 55-74.
- Poirier J.** (2009). *Le système nerveux, central et périphérique : Formation, fonction et rôle*. Fondation ARSEP, 94200 Ivry sur Seine, Paris, France : 24 p.
- Prinsloo G, Marokane CK, Street RA.** (2018). Anti-HIV activity of southern African plants: current, developments, phytochemistry and future research. *Journal of Ethnopharmacology*. 210: 133-155.
- Propac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M.** (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in Pharmacology Sciences*. 38(7): 592-607.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, White LE.** (2012). *Neurosciences*. Fifth Edition, Sunderland Massachusetts: Sinauer Associates, Inc: 759 p.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia AS, White EL, Mooney RD, Platt ML.** (2019). *Neurosciences*. Sixth Edition, Oxford University Press, Newyork, NY (U.S.A): Sinauer Associates: 960 p.
- Rang HP, Dale MM, Ritter J, Flower RJ, Henderson G.**(2012). *Rang and Dale's pharmacology*. Seventh Edition. Edinburgh, New York: Elsevier-Churchill Livingstone: 777 p.
- Ravid D, Dafna L, Versano Z, Benatav L, Motty F, Kately N, Rehavi M, Armoza S.** (2014). Escitalopram or novel herbal mixture treatments during or following exposure to stress reduce anxiety-like behavior through corticosterone and BDNF modifications. *Plosone*. 9(4): 1-9.
- Reddy EC, Rand ML.** (2020). Procoagulant Phosphatidylserine-Exposing Platelets in vitro and in vivo. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 7(15): 1-11.

- Rodrigues-Barata AR, Tosti A, Rodríguez-Pichardo A, Camacho-Martínez F.** (2012). N-acetylcysteine in the Treatment of Trichotillomania. *International Journal of Trichology*. 4(3): 176-178.
- Rodrigues SM, LeDoux JE, Sapolsky RM.** (2009). The influence of stress hormones on fear circuitry. *Annual Review of Neuroscience*. 32: 289-313.
- Salas R, Pieri F, Fung B, Dani JA, De Biasi M.** (2003). Altered anxiety-related responses in mutant mice lacking the beta 4 subunit of the nicotinic receptor. *Journal of Neuroscience*. 23(15): 6255-6263.
- Salehi B, Kumar NV, Şener B, Sharifi-Rad M, Kılıç M, Mahady GB, Vlasisavljevic S, Iriti M, Kobarfard F, Setzer WN, Ayatollahi SA, Ata A, Sharifi-Rad J.** (2018). Medicinal Plants Used in the Treatment of Human Immunodeficiency Virus. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(5): 1-60.
- Salim S.** (2014). Oxidative stress and psychological disorders. *Current Neuropharmacology*. 12: 140-147.
- Sallard E, Letourne D, Legendre P.** (2021). Electrophysiology of ionotropic GABA receptors. *Cellular and Molecular Life Science*. 74: 5341-5370.
- Salpolsky RM, Romero LM, Munck AU.** (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating, permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 21(1): 55-89.
- Sansri S, Bairi EA, Tahraoui K.** (2016). Etude de l'effet de stress de séparation (mère/nouveaux nés) chez le rat wistar : Leur développement et leurs paramètres de reproduction. *Global Journal of Veterinary Medicine and Research*. 4(1): 101-108.
- Saper CB, Jun L, Jhou TC, Gooley J.** (2005). The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends in Neurosciences*. 28(3): 152-157.
- Sareen J, Jacobi F, Cox BJ, Belik SL, Clara I, Stein MB.** (2006). Disability and poor quality of life associated with comorbid anxiety disorders and physical conditions. *Archives of Internal Medicine*. 166(19): 2109-2116.
- Sartori SB, Landgraf R, Singewald N.** (2011). The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future Neurology*. 6(4): 531-571.
- Schmidt HD, Rupprecht LE, Addy NA.** (2018). Neurobiological and neurophysiological mechanisms underlying nicotine seeking and smoking relapse. *Molecular Neuropsychiatry*. 4: 169-189.

- Schneier FR, Liebowitz MR, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Lin SH, Laruelle M.** (2000). Low dopamine D (2) receptor binding potential in social phobia. *American Journal of Psychiatry*. 157(3): 457- 459.
- Shelembe BG, Moodley R, Jonnalagadda SB.** (2016). Secondary metabolites isolated from two medicinal plant species, *Bridelia micrantha* and *Sideroxylon inerme* and their antioxidant activities. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. 73(5): 1249-1257.
- Strawn JR, Geraciotti L, Rajdev N, Clemenza K, Levine A.** (2018). Pharmacotherapy for generalized anxiety disorder in adult and pediatric patients: An evidence-based treatment review. *Expert Opinion Pharmacotherapy*. 19(10): 1057-1070.
- Sinha KA,** (1972). Colorimetric Assay of Catalase. *Analytical Biochemistry*. 47(2): 389-394.
- Slack PT.** (1987). *Analytical Methods Manual*. Second Edition, British food manufacturing industries Research Association, leatherland. 5(3): 644-673.
- Steenkamp MM, Litz BT, Hoge CW, Marmar CR.** (2015). Psychotherapy for military-related PTSD: A review of randomized clinical trials. *Journal of the American Medical Association*. 314(5): 489-500.
- Ströhle A, Kellner M, Holsboer F, Wiedemann K.** (2001). Anxiolytic activity of atrial natriuretic peptide in patients with panic disorder. *The American Journal of Psychiatry*. 158(9): 1514-1516.
- Tafet GE, Nemeroff CB.** (2020). Pharmacological treatment of anxiety disorders. The role of the HPA axis. *Frontiers in Psychiatry*. 11: 1-11.
- Tahraoui A, Israili ZH, Lyoussi B.** (2010). Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilized aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 132(1): 48-55.
- Taiwe GS, Ngo Bum E, Dimo T, Talla E, Weiss N, Sidiki N, Dawe A, Moto FC, Dzeufiet PD, De Waard M.** (2011). Antipyretic and antinociceptive effects of *Nuclea latifolia* roots decoction and possible mechanisms of action. *Pharmaceutical Biology*. 49(1): 15-25.
- Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T.** (1998). Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *European Journal of Pharmacology*. 350(1): 21-29.
- Tanaka M, Yoshida M, Emoto H, Ishii H.** (2000). Noradrenaline system in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: Basic studies. *European Journal of Pharmacology*. 405(1-3): 397-406.
- Thorsell A.** (2010). Brain neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone in mediating stress and anxiety. *Experimental Biology and Medicine*. 235(10): 1163-1167.

- Traoré MS, Baldé MA, Camara A, Baldé ES, Diané S, Diallo MS, Keita A, Cos P, Maes L, Pieters L, Baldé AM.** (2015). The malaria co-infection challenge: An investigation into the antimicrobial activity of selected Guinean medicinal plants. *Journal Ethnopharmacology*. 174 : 576-581.
- Tucci SA, Genn RF, Marco E, File SE.** (2003a). Do different mechanisms underlie two anxiogenic effects of systemic nicotine? *Behavioural Pharmacology*. 14(4): 323-329.
- Tucci SA, Genn RF, File SE.** (2003b). Methyllaconitine (MLA) blocks the nicotine evoked anxiogenic effect and 5-HT release in the dorsal hippocampus: possible role of alpha7 receptors. *Neuropharmacology*. 44(3): 367-73.
- Van't VA, Carlezon WA.** (2013). Role of kappa-opioid receptors in stress and anxiety-related behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. 229(3): 435- 452.
- Vallence Ak, Fernandez V.** (2016). Anxiety disorders in children and adolescents: a etiology, diagnosis and treatment. *British Journal of Psychiatry Advances*. 22(5): 355-344.
- Vinkers C, Olivier B, Bouwknecht A, Groenink L, Olivier G.** (2010). Stress induced hyperthermia the serotonin system and anxiety. *The open Pharmacology Journal*. 4: 15-29.
- Viscarra F, González-Gutierrez J, Esparza E, Figueroa C, Paillali P, Hödar-Salazar M, Cespedes C, Quiroz G, Sotomayor-Zárate R, Reyes-Parada M, Bermúdez I, Iturriaga-Vásquez P.** (2020). Nicotinic Antagonist UFR2709 Inhibits Nicotine Reward and Decreases Anxiety in Zebrafish. *Molecules*. 25(13): 1-10.
- Von DB, Fischbacher U, Kirschbaum C, Fehr E, Heinrichs M.** (2012).The social dimension of stress reactivity: Acute stress increases prosocial behavior in human. *Psychological Science*. 23(6): 651-660.
- Waiganjo N, Yole D, Ochanda H.** (2014). Anti-schistosomal activity of five plant extracts on Swiss white mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Pharmacy and Biological*. 9(1): 49-53.
- Wang Q, Yang X, Zhang B, Yang X, Wang K.** (2007). The anxiolytic effect of cinnabar involves changes of serotonin levels. *European Journal of Pharmacology*. 565(1-3): 132-137.
- Waterman C, Smith RA, Pontiggia L, DerMarderosian A.** (2010). Anthelmintic screening of sub-Saharan African plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 127 (3): 755-759.
- Weiss SM, Lightowler S, Stanhope KJ, Kennett GA, Dourish CT.** (2000). Measurement of anxiety in transgenic mice. *Reviews in the Neurosciences*. 11(1): 59-74.

- Weymar M, Schwabe L, Löw A, Hamm AO.** (2012). Stress Sensitizes the Brain: Increased Processing of Unpleasant Pictures after Exposure to Acute Stress. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 24 (7): 1511-1518.
- Whiteford HA, Degenhardt L, Rehm J, Baxter AJ, Ferrari AJ, Erskine HE, Charlson FJ, Norman RE, Flaxman AD, Burstein R, Murraray CJ.** (2013). Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 382(9904): 1575-1586.
- Wilbur KM, Bernhein F, Shapiro OW.** (1949). Determination of lipid peroxydation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 24: 3959-3964.
- Wong ML, Licinio J.** (2004). From monoamines to genomic targets: A paradigm shift for drug discovery in depression. *Nature Reviews Drug Discovery*. 3(2): 136-151.
- Wongtawatchai T, Sarsutham K, Sukketsiri W, Tipmanee K, Chonpathompikunlert P.** (2017). Anti-stress effects of *apium graveolens* on rats subjected to immobilization. *International Food Research Journal*. 24(4): 1490-1499.
- Wu G, Feder A, Wegener G, Bailey C, Saxena S, Charney D, Mathé AA.** (2011). Central functions of neuropeptide Y in mood and anxiety disorders. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 15(11): 1317-1331.
- Youmbie DD, Dzeufiet DP, Nkwengoua ZE, Zingue S, Mezui C, Bibi AO, Tankeu NF, Pieme CA, Dimo T.** (2015). Anti-inflammatory and antioxidant effects of the stem bark aqueous extract of *rauwolfia vomitoria* (apocynaceae) in female wistar rats. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2(7): 64-73.
- Zarrindast MR, Aghamohammadi-Sereshki A, Rezayof A, Rostami P.** (2012). Nicotine-induced anxiogenic-like behaviours of rats in the elevated plus-maze: possible role of NMDA receptors of the central amygdala. *Journal of Psychopharmacology*. 26(4) : 555-563.
- Zayed J, Panisset M, Mergler D.** (2003). Système nerveux. In : *Environnement et Santé Publique*. Fondements et pratiques. Edisem/Tec et Doc, Acton Vale, Paris : 13 p.
- Zhang L, Guo HL, Zhang HQ, Xu TQ, He B, Wang ZH, Yang YP, Tang XD, Zhang P, Liu FE.** (2017). Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission. *American Journal of Translational Research*. 9(5): 2231-2242.
- Zhao X, Seese RR, Yun K, Peng T, Wang Z.** (2013). The role of galanin system in modulating depression, anxiety, and addiction-like behaviors after chronic restraint stress. *Neuroscience*. 246: 82-93.



**PUBLICATIONS**  
**ISSUES DE LA THESE**



**ANXIOLYTIC ACTIVITY OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *BRIDELIA MICRANTHA* (HOCHST.) BAILL. (EUPHORBIACEAE) IN MICE: POSSIBLE INVOLVEMENT OF GABA-A RECEPTOR COMPLEX**

Delphine Mireille ZE Minkoulou<sup>1</sup>, Rose Marlyse Ngo Mune<sup>1</sup>, Jean Pierre Omam Omam<sup>2</sup>, Elisabeth Ngo Bum<sup>3</sup>,  
Théophile Dimo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon.

<sup>2</sup>Higher Teachers' Training College, University of Yaoundé I, P.O. Box 47, Yaoundé, Cameroon.

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Ngaoundéré, P.O. Box 454, Ngaoundéré, Cameroon.

\*Corresponding Author: Théophile Dimo

Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon.

Email ID: [dimo59@yahoo.com](mailto:dimo59@yahoo.com)

Article Received on 05/07/2018

Article Revised on 25/07/2018

Article Accepted on 14/08/2018

**ABSTRACT**

Anxiety has become the most common mental health problem associated with immense health care costs and a high burden of disease. Current drugs used for the treatment of anxiety are associated with a wide variety of prominent side effects. Medicinal plant extracts have become popular due to their efficacy, fewer undesirable effects, and can serve as sources of new pharmaceutical drugs. The aim of this study was to assess the anxiolytic properties of the bark aqueous extract of *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae) and its possible mechanisms of action. Hyperthermia-induced stress (HIS), Open field (OF), elevated plus maze (EPM) and hole-board tests were used in this study. Groups mice were treated with distilled water, diazepam, phenobarbital or *B. micrantha* extract (30, 76, 152 and 305 mg/kg). Evaluations of behavioural profile were done 1 h post-treatment and the duration of observation was 5 minutes. The involvement of the GABA<sub>A</sub> receptor complex in the activity of *B. micrantha* extract was inferred from experiments with known GABA<sub>A</sub>-targeting agents. Extract administration caused significant dose-dependent decrease of HIS compared to negative control. Like diazepam, the extract significantly induced anxiolytic effects in mice in the open arms of the EPM, and during the open field and the hole-board tests. The plant extract significantly inhibited the anxiogenic activities of Bicuculline, Flumazenil and N-methyl-β-carboline-3-carboxamide. Thus, bark aqueous extract of *B. micrantha* possesses anxiolytic activity that might be due to interactions with the benzodiazepine-binding site of the GABA<sub>A</sub> receptor complex.

**KEYWORDS:** Mice, *B. micrantha*, anxiety, anxiolytic, GABA-A receptor complex.

**INTRODUCTION**

Anxiety is an unpleasant state of inner turmoil, often accompanied by nervous behaviour, somatic complaints and rumination.<sup>[1]</sup> When anxiety becomes excessive, it may be considered as an anxiety disorder, and can critically decrease the quality of life inducing several psychosomatic diseases. Among all mental diseases, the anxiety disorders, including panic disorder with or without agoraphobia, generalized anxiety disorder, social anxiety disorder, specific phobias, and separation anxiety disorder, are the most frequent.<sup>[2]</sup> There is a widespread opinion that anxiety is a characteristic feature of our modern times, and that the prevalence of anxiety disorders has increased due to certain political, societal, economical, or environmental changes.<sup>[1]</sup> Anxiety disorders can be treated with medication and psychological therapies, like cognitive behavioural therapy.<sup>[4]</sup> Only approximately two-thirds of the anxious

patients respond to the currently available treatments but the magnitude of improvement is still disappointing, besides, they also produce various systemic side effects and exhibit dependence and tolerance on chronic treatment which now have become a major concern about the use of currently used medicines.<sup>[5]</sup> Anxiolytic substances mostly belonging to the benzodiazepines group are among the first line of anxiolytic drugs with well-known benefits. Their side effects are prominent, including sedation, muscle relaxation, anterograde amnesia and physical dependence. Hence, there is a need of drug which possesses greater efficacy, lesser undesirable effects with minimum or no tolerance and dependence. Plants are widely accepted sources of medicine, which play an important role in health care programme worldwide.<sup>[6]</sup> Only 10% of plants have been studied for their pharmacological properties.<sup>[7]</sup> *Bridelia micrantha* (Euphorbiaceae) is a semi-deciduous to

deciduous tree up to 20 m with an open spreading crown, and bare stem. *B. micrantha* occurs in savannah and secondary forest, in swamp forest, along forest edges in riverine woodland and in gallery forest. *Bridelia micrantha* has several applications in traditional medicine in Africa: the roots and bark decoction are crushed and used for treating stomach aches, tapeworms, diarrhoea, headaches, and sore joints. The leaf sap is used for sore eyes. The fruits are sweet, tasting like currants and are readily eaten by children. The bark is also mixed with milk and drunk as a tonic. The powdered bark is applied to burns to speed healing of stomach ache and is used for diseases of the central nervous system like epilepsy and insomnia in Cameroon.<sup>[8,9]</sup> Different plant parts, aqueous and organic extracts exhibited anthelmintic, antimicrobial, anticonvulsant and sedative, antidiabetic, antidiarrhoeal, antinociceptive, antioxidant, antiplasmodial, antischistosomal, hepatoprotective, insecticidal and  $\beta$ -lactamase inhibitory activities.<sup>[10,11,12,13,14,15]</sup> Multiple classes of phytochemicals including alkaloids, anthocyanidin, anthraquinones, carbohydrates, cyanogenic glycoside, essential oil, ester, flavonoids, oxalate, phenolic compounds, saponins, sterols, tannins, terpenoids as well as several minerals have been isolated from the bark, fruits, leaves and roots of *B. micrantha*.<sup>[16,17,18,19,20]</sup> The present study, aimed to evaluate the anxiolytic-like effects of the aqueous extract of *B. micrantha* bark on experimental models of Anxiety, using the elevated plus maze (EPM), open field (OF), hole-board and hyperthermia induced-stress in mice. The possible mechanisms of action of this extract were also investigated in regard of receptor systems involved in the anxiolytic-like effects.

## MATERIAL AND METHODS

### Material

#### Plant material

The barks of *B. micrantha* were collected in the immediate vicinity of Yaoundé (Nkombassi), Cameroon, during the dry season in July 2010. The plant materials were identified and authenticated (voucher specimen N° 9678/SRF/Cam) at the National Herbarium of Cameroon in Yaoundé.

#### Animals

Swiss albino naive mice of either sex weighing approximately 20-30 g, aged about 2 to 3 months were used for experimental purpose. The animals were obtained from the animal house of the laboratory of Animal Physiology of the University of Yaoundé I. They were housed in standard cages with the temperature maintained at  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , and 12 h alternating light and dark cycles. They were supplied with food and water *ad libitum*. All animal handling procedures were done in accordance with National Ethic Guidelines (FWA-IRB00001954), and the experiments were designed to minimize the number of animals used and to minimize their suffering.

### Chemicals

All the chemicals products used in this study were as analytic grade. These chemicals included: Diazepam, Phenobarbital, Bicuculline, Flumazenil (RO151788) and N-méthyl-  $\beta$ -carboline-3-carboxamide (FG7142). All drugs were obtained from Sigma® (U.S.A.).

### Methods

#### Preparation of the aqueous extract

The decoction and doses of *B. micrantha* were obtained based on the traditional medicine protocol. The collected barks of the plant were dried under room temperature. The dried and powdered bark (100 g) of *B. micrantha* was macerated for 1 h in 1L of distilled water. The mixture was boiled for 20 min. After cooling, the supernatant (decoction) was collected and filtered using Watt man filter paper N° 1. The filtrate was then evaporated to dryness using an oven at  $60^\circ\text{C}$  giving aqueous extract with a 6.1% yield.

#### Pharmacological tests

##### Hyperthermia Induced-Stress in Group-Housed Mice

When mammals are faced with stressful situations, their body temperature rises, referred to as stress-induced hyperthermia (SIH). The group-housed animals version of SIH is based on the principle that, in a group of animals maintained together in the same cage, when removed from the cage at the regular interval of time, it observed the raise of body temperature from the first animal removed to the last one.<sup>[21]</sup> The equipment used to perform the SIH test is a thermometer (Harvard Apparatus) with a probe 2 mm in diameter and 2 cm in length. 24 h before all manipulations, animals were transferred from the animal room to the laboratory according to the protocol described by Bourin.<sup>[22]</sup> To perform the test, male mice were divided into six groups ( $n = 10$ ). The first group, the positive control, received phenobarbital (20 mg/kg). The second group that received distilled water served as control. Four test groups were treated respectively with each of the following doses of *B. micrantha* aqueous extract: 30, 76, 152 or 305 mg/kg. Except for phenobarbital administered intraperitoneally (i.p), all the other substances were administered orally. One hour after treatment, the animals were removed one by one from the cage in the same order as the administration and the body temperature measured anally. The SIH ( $\Delta T$ ) was calculated by the method used by Borsini,<sup>[23]</sup> and represented the difference between the basal T1 (mean temperature of first three mice) and the end T2 (mean temperature of last three mice) of group-housed male mice.<sup>[23]</sup>

##### Elevated Plus Maze Test (EPM)

The plus maze consists of two open arms and two closed arms ( $50 \times 10 \times 40$  cm each) elevated to a height of 50 cm. Animals were divided into 6 homogeneous groups of 5 animals each. They were treated with distilled water (10 ml /kg, po) for the negative control group, diazepam (3 mg /kg, ip) for the positive control group and the

different doses of the *B. micrantha* (30, 76, 152 and 305 mg/kg) for testing groups. After administration of different substances, the animals were returned to their original cages to reduce phobic responses due to the experimental environment.<sup>[24,25]</sup> One hour after administration of the various treatments, the animal was placed at the centre of the plus-maze with its nose in the direction of one of the closed arms. The following parameters were noted for 5 min. (1) number of entries in the open and closed arms and (2) time spent by the animal in the open and closed arms.<sup>[26]</sup> Finally, we compared the preference of the animals to open or enclosed arm, average time spent in open arm and the number of entries in open arm in each group. Every precaution was taken to ensure that no external stimuli, other than the height of the plus-maze could invoke mice anxiety. The apparatus was carefully cleaned with 10% ethanol solution after every test. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic V385, 2 Mega pixel).

#### Open Field Test

The open field has been considered to be a non-conditioned anxiety test based on the creation of a conflict between the exploratory drive of the mice and its innate fear to exposure in an open area.<sup>[27]</sup> The open field test has been employed to assess the spontaneous activity, general exploration and ambulation of the rodents. Animals were divided into 6 homogeneous groups of 5 animals each. They were treated with distilled water (10 ml /kg, po) for the negative control group, diazepam (0.3 mg /kg, ip) for the positive control group and the different doses of the *B. micrantha* (30, 76, 152 and 305 mg/kg) for testing groups. One hour after appropriate treatment, each mice was placed individually in the centre of the apparatus and observed for 5 minutes to record its locomotor activity (the number of line crossings), exploratory activity (indicated by frequency of rearing) and time spent in the centre.<sup>[28,29]</sup> The apparatus was carefully cleaned with 10% ethanol solution after every test. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic V385, 2 Mega pixel).

#### The hole-board test

The apparatus was composed of a gray wooden box (50 cm×50 cm×50 cm) with four equidistant holes 3 cm in diameter in the floor.<sup>[30,31]</sup> The centre of each hole was 10 cm from the nearest wall of the box. The floor of the box was positioned 15 cm above the ground and divided into squares of 10 cm ×10 cm with a water-resistant marker. After treatment administration, each animal was placed in the centre of the hole-board and allowed to freely explore the apparatus for 5 minutes. Mouse behaviour was continuously videotaped by a digital video camera (Panasonic V385, 2 Mega pixel). The total locomotor activity (numbers of squares crossed), and the number and duration of head dipping were recorded. A head dipping was scored if both eyes disappeared into the hole. The positive control group received diazepam (0.5 mg/kg).

#### Study of benzodiazepine site of GABA-A receptor complex on the anxiolytic properties of *B. micrantha* by using the $\beta$ -carboline and Flumazenil

For the evaluation of the involvement of benzodiazepines site of the GABA-A receptor complex in the anxiolytic properties of *B. micrantha*, groups of mice were treated with flumazenil (3 mg/kg, i.p.), a GABA benzodiazepine receptor antagonist or  $\beta$ -carboline (5 mg/kg, ip.) an inverse agonist of the receptor site of the GABA-A receptor complex of benzodiazepines, 30 minutes before the administration of *B. micrantha* extract (152 or 305 mg/kg, p.o). The dose of flumazenil and  $\beta$ -carboline administered has been found to block the GABA receptors.<sup>[32,33]</sup> The anxiety evaluation using elevated plus maze was carried out one hour after the administration of *B. micrantha* or vehicle. Between each trial, the maze was wiped with 10% ethanol to prevent olfactory cue from animals. Conventional and ethological parameters of EPM were observed and recorded for a period of 5 minutes. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic V385, 2 Mega pixel).

#### Study of the Involvement of Gaba Sites of GABA-A Receptors Complex on the Anxiolytic properties of *B. micrantha* by using Bicuculline

The involvement of GABA site of GABA-A receptor complex for anxiolytic properties by *B. micrantha* was evaluated. The bicuculline, a competitive antagonist of GABA site of GABA-A receptor complex were used in this study. Mice were treated with bicuculline (2.5 mg/kg; i.p.) 30 minutes before administration of the plant extract (152 and 305 mg/kg). One hour after administration of the test substances, the mice were placed one after the other in the centre of the elevated plus maze and conventional and ethological parameters were observed and recorded for a period of 5 minutes. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic V385, 2 Mega pixel).

#### Statistics

Values were expressed as mean  $\pm$  SEM (standard Error of the Mean). All data were analysed by one way analysis of variance (ANOVA). Post hoc tests were then performed using Dunnet's or Turkey's test, with the level of significance set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

#### Effects of the aqueous extract of *B. micrantha* on the mean rectal temperature

As shown in figure 1, a significant ( $P < 0.001$ ) decrease of mean rectal temperature of mice treated with the aqueous extract of *B. micrantha* (30, 76, 152 and 305 mg/kg) or phenobarbital (20 mg/kg) as compared to the negative control group was observed. The mean rectal temperature in the negative control group from  $33.50 \pm 0.11^\circ\text{C}$  decreased to  $32.63 \pm 0.05^\circ\text{C}$ ,  $31.58 \pm 0.15^\circ\text{C}$  and  $31.55 \pm 0.05^\circ\text{C}$ , respectively, in mice treated with *B. micrantha* at the doses of 30, 76, 152 and 305 mg/kg.

The mean rectal temperature in mice treated with phenobarbital was  $31.21 \pm 0.15^\circ\text{C}$ .

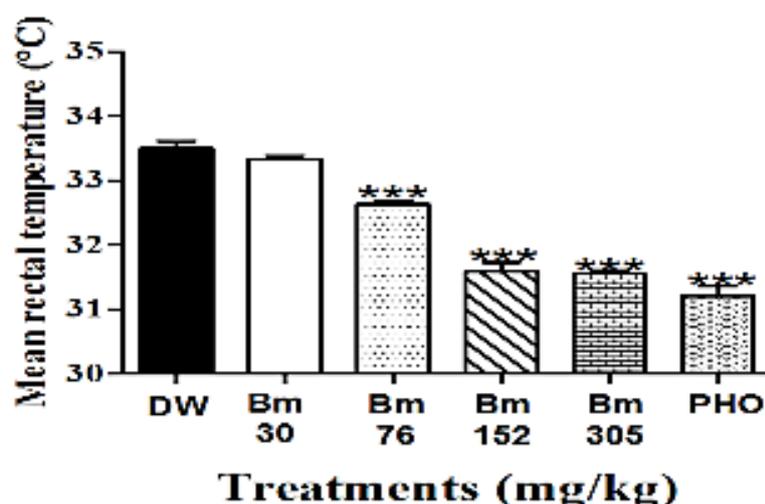


Figure 1: Effects of the aqueous extract of the *Bridelia micrantha* on mean rectal temperature.

Each bar represents the mean rectal temperature  $\pm$  SEM,  $n=10$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet post-hoc test.  $***p<0.001$  significantly different with respect to distilled water treated group. DW: negative control treated with distilled water. Bm 30, 76, 152 and 305: mice treated with respective dose of 30, 76, 152 and 305 mg/kg of the aqueous extract of *B. micrantha*. PHO: positive control group treated with Phenobarbital (20 mg/kg).

#### Effects of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* on stress-induced Hyperthermia (SIH)

The anti-pyretic properties of *B. micrantha* were assessed in mice upon stress-induced Hyperthermia experiment. *B. micrantha* aqueous extract evoked a significant ( $P<0.001$ ) dose dependent decrease of stress-

induced Hyperthermia (Figure 2). The mice treated with Phenobarbital (20 mg/kg) significantly reduced the value of SIH to  $0.1^\circ\text{C}$  ( $P<0.001$ ). The mice treated with Phenobarbital 20 mg/kg also showed the same variation as the plant extract ( $P<0.001$ ) with a HIS equal to  $0.1^\circ\text{C}$ .

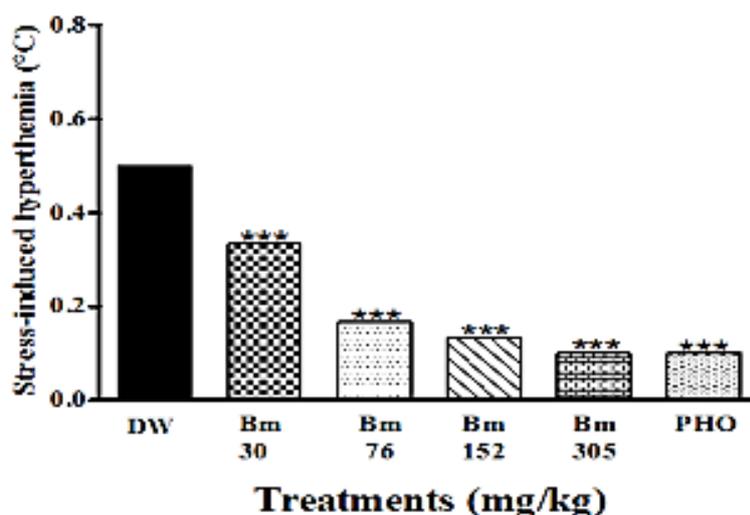


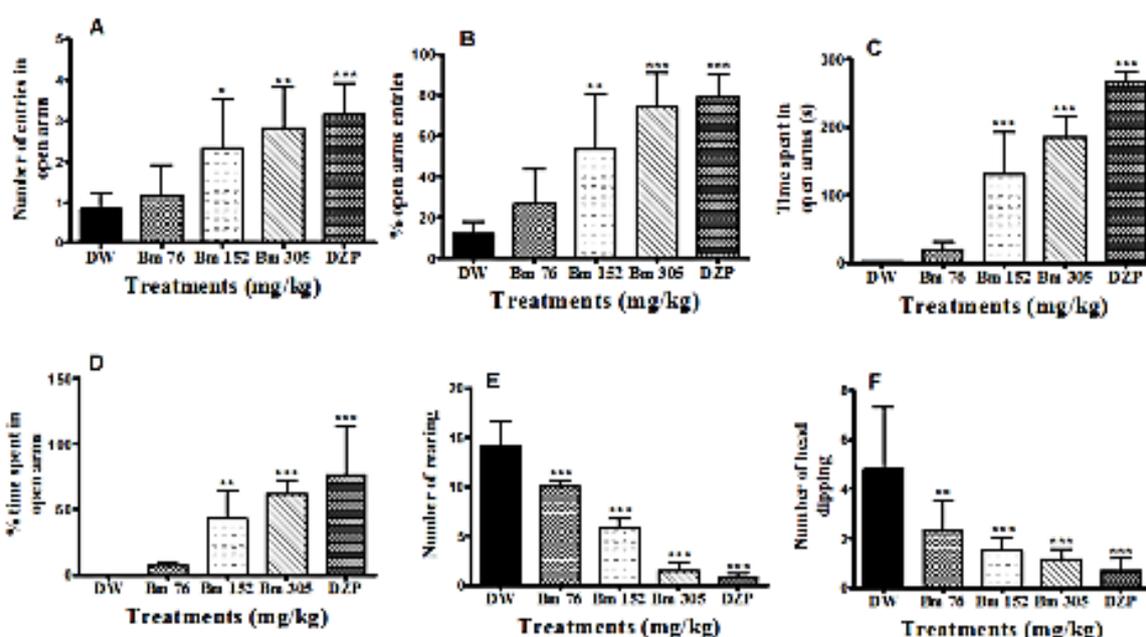
Figure 2: Effects of the aqueous extract of the *Bridelia micrantha* on stress-induced hyperthermia.

Each bar represents the SIH,  $n=10$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet's post-hoc test.  $***p<0.001$  vs distilled water treated group. DW: negative control treated with distilled water. Bm 30, 76, 152 and 305: groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* at the respective dose of 30, 76, 152 and 305 mg/kg. PHO: positive control treated with phenobarbital (20 mg/kg).

### Effects of Single Administration of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* on Elevated Plus Maze Parameters

As it is shown from figure 3A to figure 3D, the single administration of aqueous extract of *B. micrantha* in mice at the doses 152 and 305 mg/kg resulted in a significantly higher number of entries into open arms ( $2.33 \pm 0.49$ ;  $P < 0.05$  and  $2.83 \pm 0.40$ ;  $P < 0.01$  respectively), percentage of open arms entries (53.61%;  $P < 0.01$  and 73.89%;  $P < 0.001$  respectively), the time spent in open arms ( $129.8 \pm 26.00$ s and  $186.0 \pm 12.25$ s;  $P < 0.001$  respectively) and percentage of time spent in open arms (43.28%;  $P < 0.01$  and 62.00%;  $P < 0.001$ ) of the EPM compared to the negative control group (0.83  $\pm$  0.16, 12.00%, 1.16 and 0.38%, respectively). However, the dose 76 mg/kg of the plant extract did not show a significant variation of these later parameter compared to

the negative control group. As expected for a positive control group, a single administration of 3 mg/kg of diazepam via intra-peritoneal route also significantly ( $P < 0.001$ ) induced an increased number of open arms entries, the percentage of entries into and time spent in the open arms and the percentage of time spent in the open arm of the EPM. As shown in figures 3E and 3F, the plant extract (76, 152 and 305 mg/kg) elicited a significant ( $P < 0.001$ ) decrease of the numbers of rearing and head dipping in treated mice compared to the negative control group. The same trend was observed with the positive control group. Furthermore, both diazepam and aqueous extract of *B. micrantha* induced significant reduction in the number of closed arms entries, the percentage of entries into closed arms and the percentage of time in closed arms (data not shown).



**Figure 3:** Effects of a single administration of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* on the parameters of EPM. (A): open arms entries. (B): percentages of open arms entries. (C): Time spent in the open arms. (D): percentage of time spent on open arms. (E): Number of rearing. (F): Number of head dipping. Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M,  $n = 6$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet's post-hoc test. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  significantly different as compared to the negative control. DW: negative control group treated with distilled water. 76, 152 and 305: groups treated with of the aqueous extract of *B. micrantha* at the respective dose of 76, 152 and 305 mg/kg, DZP: positive control treated with Diazepam (3 mg/kg).

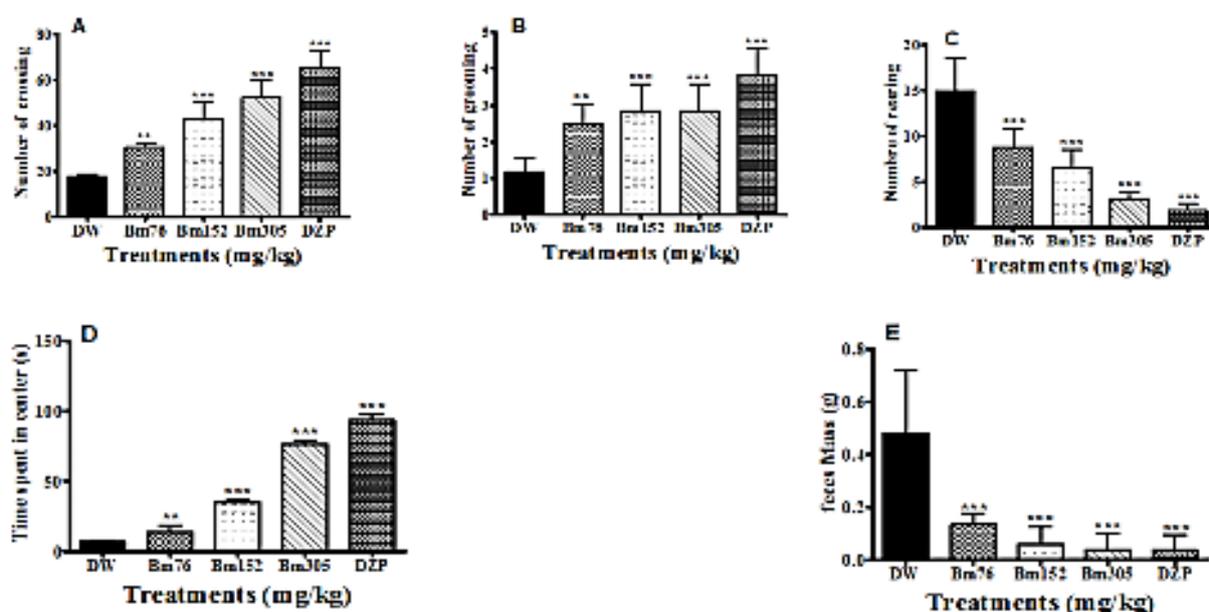
### Effects of single administration of aqueous extract of *B. micrantha* on Open Field Parameters

Figure 4 shows the variations of open field parameters in mice treated with graded doses of the aqueous extract of *B. micrantha*. As shown in figure 4A, the number of crossing significantly increased from  $17.33 \pm 0.55$  in the negative control group to  $30.50 \pm 0.56$  ( $P < 0.01$ ),  $42.5 \pm 3.18$  ( $P < 0.001$ ) and  $52.17 \pm 2.90$  ( $P < 0.001$ ), in mice treated with the plant extract at the respective doses of

76, 152 and 305 mg/kg. This number was  $65.17 \pm 3.19$  ( $P < 0.001$ ) in the positive control group mice receiving 0.3 mg/kg diazepam. The number of grooming and the time spent in centre of the open field (OF) also significantly ( $P < 0.01$ ) increased compared to the negative control group (Figure 4B & D). The number of rearing significantly ( $P < 0.001$ ) decreased in mice groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* with peak effect produced at the dose 305 mg/kg with a

value of  $3.16 \pm 0.31$  compared to  $15.00 \pm 1.46$  for negative control. The single administration of different doses (76, 152 and 305 mg/kg) of *B. micrantha* extract also elicited a significant ( $P < 0.001$ ) decreased of the

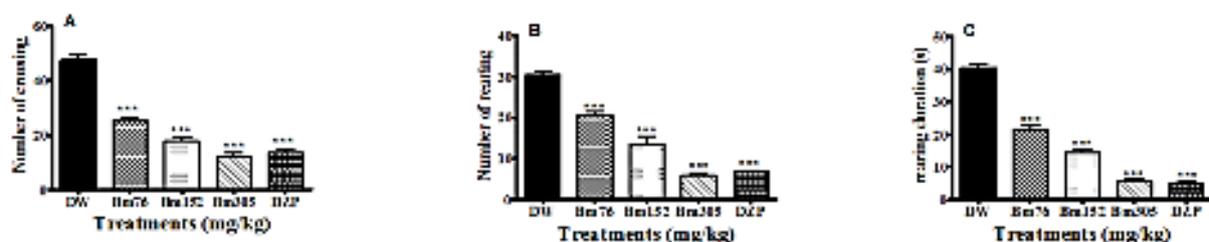
mass of fecal boli ( $0.13 \pm 0.01$ g,  $0.06 \pm 0.02$ g,  $0.03 \pm 0.02$ g respectively) compared to negative control group ( $0.48 \pm 0.09$ ).

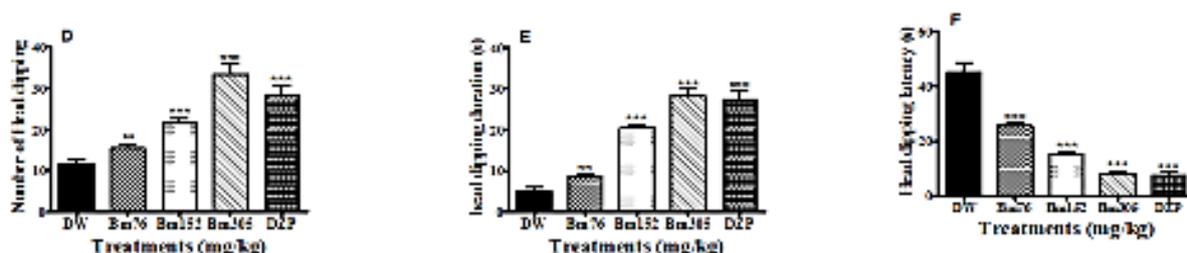


**Figure 4: Effects of a single administration of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* on Open Field Parameters.**

Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M,  $n = 6$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet's post-hoc test. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  significantly different as compare to the negative control. DW: negative control group treated with distilled water. Bm 76, 152 and 305: groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* at the respective dose of 30, 76, 152 and 305 mg/kg, DZP: positive control treated with Diazepam (0.3 mg/kg). (A): Number of crossing. (B): Number of grooming. (C): Number of rearing. (D): Time spent in center. (E): Feces mass.

*B. micrantha* aqueous extract significantly and dose-dependently decrease the number of crossing with values being  $25.33 \pm 0.55$ ;  $17.67 \pm 0.61$ ;  $12.33 \pm 0.42$  respectively at dose of 76, 152 and 305 mg/kg, compared to value of negative control group. With the same doses of the plant extract, the number (  $20.67 \pm 0.33$ ;  $13.50 \pm 0.80$ ;  $5.83 \pm 0.30$  respectively), and duration of rearing ( $21.67 \pm 0.49$ s;  $14.17 \pm 0.47$ s;  $5.66 \pm 0.33$ s respectively) as well as the head dipping first latency ( $25.83 \pm 0.40$ s;  $15.17 \pm 0.30$ s;  $8.00 \pm 0.37$ s respectively) was significantly decreased as compare to the negative control group. The number and the duration of head dipping was significantly increased by the treatment with the same doses of *B. micrantha* extract and diazepam compared to the mice of negative control group as shown in figures 5D & E ( $P < 0.01$ ).





**Figure 5: Effects of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* on exploratory behavior in mice tested on the hole-board.**

Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M.  $n = 6$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test.  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$  significant different compared to the negative control. DW: negative control group treated with distilled water. Bm76, 152 and 305: groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* at the respective dose of 76, 152 and 305 mg/kg, DZP: positive control treated with Diazepam (0.5 mg/kg), (A): Number of crossing. (B): Number of rearing. (C): Rearing duration. (D): Number of head dipping. (E): Head dipping duration. (F): head dipping latency.

#### **Involvement of GABA site of GABA-A receptor complex on the anxiolytic properties of *B. micrantha* in mice using bicuculline**

Based on the dose-activity data in EPM from 3 doses (low, medium, and high) of the aqueous extract of *B. micrantha*, we used two of the most effective doses among the three, 152 and 305 mg/kg to investigate antagonism study. The administration of distilled water (DW) followed by 2.5 mg/kg of bicuculline (BIC) resulted in significant ( $P < 0.001$ ) decrease of number of open arms entries, time spent in open arm, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arm in mice, while a contrary effect was observed in mice treated with distilled water and 152 or 305 mg/kg of *B. micrantha* extract compared to the negative control (Table 1). However, the number of rearing and head dipping significantly increased in mice treated with DW+BIC, and decreased in mice receiving DW plus 152 or 305 mg/kg of *B. micrantha* extract compared to the negative control ( $P < 0.01$ ). The anxiogenic effects induced by bicuculline (2.5 mg/kg) were significantly reversed by *B. micrantha* extract.

Table 1: Effects of bicuculline on anxiolytic properties of aqueous extract of *B. micrantha* in mice placed in EPM.

	DW+DW	DW+BIC	DW+152	DW+DZP	DW+305	BIC+152	BIC+305	DZP+152	DZP+305
NOAE	4.4±0.2	1.2±0.2***	8.8±0.4***c	10.0±0.3***c	10.6±0.4***c	7.6±0.2***c	8.6±0.4***c	16.8±0.7***c	21.4±1.0***c
NCAE	16.4±1.0	28.0±1.3***	3.6±0.2***c	4.6±0.2***c	1.6±0.2***c	4.8±0.2***c	3.8±0.2***c	2.4±0.2***c	1.0±0.3***c
TSOA	46.0±1.8	17.2±1.2***	197.6±1.2***c	181.2±5.0***c	240.4±6.1***c	162.2±2.4***c	183.8±7.6***c	244.0±8.9***c	344.8±14.2***c
TSCA	94.8±3.5	162.2±2.0***	27.0±1.1***c	22.8±2.0***c	14.2±0.7***c	27.4±2.7***c	35.6±1.5***c	16.4±0.5***c	7.8±0.4***c
REARING	10.8±0.4	15.0±0.5***	6.4±0.4***c	3.0±0.3***c	2.8±0.4***c	7.6±0.5***c	5.0±0.5***c	1.8±0.2***c	1.0±0.3***c
HEAD DIPPING	10.8±0.4	15.2±0.4***	7.2±0.4***c	4.4±0.4***c	4.2±0.5***c	7.8±0.2***c	6.2±0.4***c	3.0±0.3***c	1.0±0.3***c
POAE	21.2±0.8	4.2±0.8***	71.0±1.4***c	68.5±1.4***c	87.1±1.6***c	61.3±1.5***c	69.3±1.8***c	87.62±0.7***c	95.5±1.4***c
PCAE	90.2±0.9	95.8±0.8	28.9±1.4***c	31.5±1.4***c	12.9±1.6***c	38.7±1.5***c	30.7±1.8***c	12.4±0.7***c	4.5±1.4***c
PTSOA	15.3±0.6	5.7±0.4***	65.9±0.4***c	60.4±1.7***c	80.1±2.0***c	54.1±0.8***c	61.3±2.5***c	81.3±3.0***c	114.9±4.7***c
PTSCA	31.6±1.2	54.1±0.7***	9.0±0.4***c	7.6±0.7***c	4.7±0.2***c	9.1±0.9***c	11.9±0.5***c	1.0±0.1***c	0.3±0.1***c

Values are expressed as mean ± SEM, n = 6. \*p < 0.05, \*\*\*p < 0.001 significant difference compared to negative control, a, b and c: significant difference with p < 0.05, p < 0.01 and p < 0.001 respectively compared to bicuculline-treated mice (by one way ANOVA followed by Turkey's multiple comparison post hoc tests). DW+DW: negative control group of mice treated with distilled water (DW). DW+BIC: mice group treated with distilled water and 2.5mg/kg of Bicuculline (BIC). DW+305: mice group treated with distilled water and 305mg/kg of *B. micrantha* extract. DW+152: mice group treated with distilled water and 152mg/kg of *B. micrantha* extract. BIC+305: mice group treated with and 2.5mg/kg Bicuculline and 305mg/kg of *B. micrantha* extract. BIC+152: mice group treated with 2.5mg/kg of Bicuculline and 152mg/kg of *B. micrantha* extract. NOAE: Number of open arms entries. NCAE: Number of closed arms entries. TSOA: Time spent in open arm. TSCA: Time spent in closed arm. POAE: Percentage of open arms entries. PCAE: percentage of closed arms entries. PTSOA: percentage of time spent in open arm. PTSCA: percentage of time spent in closed arm.

**Involvement of Benzodiazepine site of GABA-A Receptor Complex on the anxiolytic properties of *B. micrantha* using FG 7142 and RO 151788**

The action mechanism of anxiolytic properties of aqueous extract of *B. micrantha* was assessed, using the inhibition pathway of benzodiazepine site of GABA-A Receptor Complex on the anxiolytic properties of *B. micrantha* by the N-methyl- $\beta$ -carboline-3-carboxamide (FG 7142) and Flumazenil (RO 151788) in mice placed in EPM. The results are shown in table 2. The administration of distilled water (DW) followed by 3 mg/kg of Flumazenil (RO 151788) or 5 mg/kg of N-methyl- $\beta$ -carboline-3-carboxamide (FG 7142) induced the significant ( $P < 0.001$ ) decrease of number of open arms entries, time spent in open arm, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arm in mice, while a contrary effect was observed in mice treated with distilled water and 152 or 305 mg/kg of *B. micrantha* extract compared to the negative control. However, the number of rearing and head dipping significantly ( $P < 0.001$ ) increased in mice treated with DW+RO or DW + FG 7142, and decreased in mice receiving DW plus 152 or 305 mg/kg of *B. micrantha* extract compared to the negative control. The anxiogenic effects induced by Flumazenil or N-methyl- $\beta$ -carboline-3-carboxamide were significantly reversed by *B. micrantha* extract. As shown in Table 2, the treatment of mice with the aqueous extract of *B. micrantha* (152 and 305 mg/kg) preceded by Flumazenil or N-methyl- $\beta$ -carboline-3-carboxamide significantly increased the number of open arms entries, time spent in open arm, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arm, and decreased the number of rearing and head dipping in mice placed in EPM as compared to RO + DW or DW +  $\beta$ -carb mice groups.

Table 2: Effects of N-methyl-β-carboline-3-carboxamide (FG 7142), of Flumazénil (RO 151788) on anxiolytic properties of aqueous extract of *B. micrantha* in mice placed in EPM.

	DW+DW	DW + RO	DW+β-carb	DW+152	DW+305	RO+152	RO+305	β-carb+152	β-carb+305
NOAE	4.2±0.2	1.2±0.2***	1.8±0.2***	7.0±0.3***cf	9.2±0.4***cf	5.8±0.2*cf	7.0±0.6***cf	6.0±0.3**cf	6.4±0.3***cf
NCAE	9.6±0.2	28.8±1.7***	24.0±1.6***b	1.6±0.2***cf	0.8±0.2***cf	2.4±0.2***cf	2.0±0.5***cf	2.4±0.2***cf	1.4±0.2***cf
TSOA	44.4±2.1	3.4±0.5***	8.6±0.3***	169.0±5.8***cf	227.8±7.2***cf	151.4±1.1***cf	172.8±8.7***cf	151.6±1.8***cf	171.4±2.7***cf
TSCA	60.6±2.6	157.8±3.1***	209.0±7.1***c	25.6±0.5***cf	9.4±0.5***cf	33.4±2.3***cf	18.2±0.6***cf	32.8±2.6***cf	22.4±0.2***cf
REARING	8.4±0.4	13.0±1.1***	13.0±1.1***	2.2±0.4***cf	1.6±0.2***cf	7.0±0.3cf	4.4±0.2***cf	7.2±0.4cf	6.0±0.3cf
HEAD DIPPING	9.40±0.24	15.40±1.50***	13.00±1.27*	1.40±0.40***cf	0.60±0.24***cf	5.20±0.37**cf	2.40±0.0***cf	5.40±0.24*cf	2.20±0.58***cf
POAE	30.4±0.9	4.1±0.7***	7.3±1.0***	81.6±2.6***cf	92.1±2.0***cf	76.4±2.4***cf	78.3±4.2***cf	71.5±2.2***cf	82.1±2.9***cf
PCAE	65.0±1.7	95.9±0.7***	92.9±1.0***	18.4±2.6***cf	7.9±2.0***cf	34.1±1.7***cf	21.7±4.2***cf	32.3±1.7***cf	17.9±2.9***cf
PTSOA	14.8±0.7	1.1±0.2***	2.9±0.1***	56.3±1.9***cf	75.9±2.4***cf	50.5±0.4***cf	57.6±2.9***cf	50.5±0.6***cf	57.1±0.9***cf
PTSCA	20.2±0.9	52.6±1.0***	69.7±2.4***c	8.5±0.2***cf	3.1±0.2***cf	11.1±0.8***cf	6.1±0.2***cf	10.9±0.9***cf	7.5±0.1***cf

Values are expressed as mean ± SEM, n = 9. \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 significant difference compared to negative control, values of p < 0.05, p < 0.01 and p < 0.001 respectively (a, b, c) compared to Flumazénil treated group; (d, e, f) compared to the batch treated with N-methyl-β-carboline-3-carboxamide (by one way ANOVA followed by the Turkey's multiple comparison post hoc tests). DW+ DW: negative control group of mice treated with distilled water (DW). DW+RO: mice group treated with distilled water and 3 mg/kg of Flumazénil (RO 151788). DW+ β-carb: mice group treated with distilled water and 5 mg/kg of N-methyl-β-carboline-3-carboxamide. DW+305: mice group treated with distilled water and 305mg/kg of *B. micrantha* extract. DW+152: mice group treated with distilled water and 152mg/kg of *B. Micrantha* extract. RO+305: mice group treated with and 3 mg/kg of Flumazénil (RO 151788) and 305mg/kg of *B. micrantha* extract. RO + 152: mice group treated with 3 mg/kg of Flumazénil (RO 151788) and 152mg/kg *B. micrantha* extract. β-carb + 305: mice group treated with and 5 mg/kg of N-methyl-β-carboline-3-carboxamide and 305mg/kg of *B. micrantha* extract. β-carb + 152: mice group treated with and 5 mg/kg of N-methyl-β-carboline-3-carboxamide and 152mg/kg of *B. micrantha* extract. NOAE: Number of open arms entries. NCAE: Number of closed arms entries. TSOA: Time spent in open arm. TSCA: Time spent in closed arm. POAE: Percentage of open arms entries. PCAE: percentage of closed arms entries. PTSOA: percentage of time spent in open arm. PTSCA: percentage of time spent in closed arm.



## DISCUSSION

The present study was aimed to assess the anxiolytic like effects of the aqueous extract of *B. micrantha* barks in mice and the possible involvement of GABA-A receptors complex. In the current work we examined, for the first time, the anxiolytic effects of the aqueous extract of *B. micrantha* using the hyperthermia induced-stress, the elevated plus maze test (EPM), the open field test (OF) and the hole-board test. Stress-induced hyperthermia test is often used to identify benzodiazepines like anxiolytic agents well known for their phenobarbital sleep potentiating effects.<sup>[134]</sup> Therefore, the observed effects of the aqueous extract of *B. micrantha* in the dose finding experiments could as well be due to their modulating effects on the benzodiazepine site of GABA receptors. This plant extract would thus act on the barbiturates receptor sites by extending the opening of voltage-dependent chloride channel to produce the anxiolytic effect.<sup>[135,136]</sup> Previous studies demonstrated a significant relationship between the anxiolytic drugs and the reduction of body temperature.<sup>[136,137]</sup> The anxiolytic properties of *B. micrantha* extract were assessed using elevated plus maze (EPM) test, hole-board and open field tests. Elevated plus maze and open field tests are based on spontaneous anxiety and are widely used for screening of anxiolytic activity. It is based on the strong conflict between rodents' proclivity toward dark, enclosed alleys (approach) and an un-conditioned fear of brightly lit areas, heights or open spaces (avoidance). In the present study there is a significant increase in number of entries into, percentage of entries into, time spent into and percentage of time spent in open arms.

The plant extract also significantly elicited the decrease of the numbers of rearing and head dipping in mice compared to the negative control group ( $P < 0.001$ ). The same trend was observed with the positive control group. These results are similar to the findings published by Manavi and Masoumeh, where they demonstrated the anxiolytic properties of *Plumeria rubra* and *Coriandrum sativum* extract respectively using EPM.<sup>[24,38,39]</sup> In the open field test, forced confrontational situations induce anxiety behaviour in rodents. In such a situation, rodents spontaneously prefer the periphery of the apparatus and enter less in the central parts of the open field. Indeed, mice and rats walk close to the walls, a behaviour called thigmotaxis.<sup>[121]</sup> An increase in central locomotion or in time spent in the central part of the device without modification of total locomotion is interpreted as an anxiolytic effect.<sup>[127,128]</sup> In the present study, *B. micrantha* extract significantly increased the number of crossing and grooming and the time spent in centre like in diazepam treated animals. Moreover, like in the EPM test, the rearing number significantly decreased in mice groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* and diazepam compared to the negative control group ( $P < 0.001$ ). The hole-board test is useful for modelling anxiety in animals, in this test an anxiolytic-like state may be reflected by an increase in head dipping

behaviours.<sup>[130,131]</sup> Our results showed that aqueous extract of *B. micrantha* increased the head dipping corroborating the anxiolytic-like effect previously shown in the EPM and OF tests. Taken together, all these findings suggest the anxiolytic properties of aqueous extract of bark of *B. micrantha*.<sup>[134,40]</sup> Previous studies on the chemical constituents of *B. micrantha* revealed the presence of alkaloids, anthocyanidin, anthraquinones, carbohydrates, cyanogenic glycoside, essential oil, ester, flavonoids, oxalate, phenolic compounds, saponins, sterols, tannins, terpenoids.<sup>[17,18,19,20]</sup> The anxiolytic properties of *B. micrantha* may be related to the presence of certain of these compounds in the extracts such as flavonoids, alkaloids, phenolic compounds, saponins and tannins that activate barbiturates, benzodiazepines and/or GABA receptors in the GABA-A receptor complex.<sup>[41,42,43]</sup> and therefore reflect a decrease anxiety.<sup>[44,45]</sup> Flavanoids have been recently implicated for various pharmacological activities and they have been identified as a new type of ligand with *in vivo* anxiolytic properties. Some natural and synthetic flavonoids have been found to bind specifically and competitively to benzodiazepine receptors and to possess anxiolytic effects.<sup>[46,47,48]</sup> The GABA-A receptor is known to be a mediator of unconditioned anxiety. In this study, the involvement of GABA receptor in the anxiolytic activity of *Bridelia micrantha* was assessed using Bicuculline as antagonist. Bicuculline-sensitive GABA receptors are part of the super family of Cys-loop pentameric ligand-gated ion channel receptors that include nicotinic acetylcholine, glycine and 5HT<sub>3</sub> receptors.<sup>[49]</sup> Bicuculline acts as a competitive antagonist at GABA<sub>A</sub> receptors in the fact that it competitively inhibits GABA binding to these receptors.<sup>[50]</sup> The inhibition of GABAergic neurotransmission way is known as causing anxiety effect while its stimulation leads to the anxiolytic effect.<sup>[136,137]</sup> Our findings show that anxiogenic activities of bicuculline (decrease of number of open arms entries, time spent in open arm, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arm; increased in the number of rearing and head dipping in mice) were inhibited by the aqueous extract of *B. micrantha* (152 and 305 mg/kg). These results suggest that the plant extract would act on Bicuculline-sensitive GABA receptors to induce anxiolytic effect in mice. Since the anxiogenic effect of Bicuculline was not completely reversed by the plant extract, we investigated the involvement in others GABA-Aergic receptors. Flumazenil, (RO 151788), a competitive antagonist of the receptor site of benzodiazepine of GABA-A receptor complex and  $\beta$ -carboline (FG 7142), an inverse agonist of the receptor site of the GABA-A receptor complex of benzodiazepines, have like bicuculline an anxiogenic effect in rodents undergoing the EPM test.<sup>[131]</sup> The inhibition of anxiogenic activities of these drugs by the plant extract in our study suggest a possible interaction between the GABAergic system and the anxiolytic activities of secondary metabolites of our plant extract.<sup>[52,53,54]</sup>

**CONCLUSION**

In summary, our findings show that a single administration of the aqueous bark extract of *B. micrantha* induces anxiolytic effects in the mouse hyperthermia induced-stress, elevated plus maze test, open field test and hole-board test. These anxiolytic effects are still significant in the presence of GABA-A receptor antagonists. Taken together, our results suggest that *B. micrantha* has anxiolytic-like effects mediated by regulation of the GABA-A Benzodiazepine receptor complex.

**REFERENCES**

- Seligman MEP, Walker EF, Rosenhan DL. Abnormal psychology. 4<sup>th</sup> ed., New York; W.W. Norton & Company, 2000.
- American Psychiatric Association. The diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5<sup>th</sup> ed., Arlington, DC: Author, 2013.
- Bandelow B, Domschke K. (Panic Disorder. In: Stein D, Vythilingum B.(eds). Anxiety Disorders and Gender. Cham, Switzerland; Springer, 2015.
- Baldwin DS, Anderson IM, Nutt DJ, Allgulander C, Bandelow B, Den Boer JA, Christmas DM, Davies S, Fineberg N, Lidbetter N, Malizia A, McCrone P, Nabarro D, O'Neill C, Scott J Van der wee N, Wittchen HU. (Evidence-based pharmacological treatment of anxiety disorders, post-traumatic stress disorder and obsessive-compulsive disorder: a revision of the 2005 guidelines from the British Association for Psychopharmacology). *J Psychopharmacol*, 2014; 28(5): 403–439.
- Chawla A, Kaur R, Sharma AK. (*Ficus carica* Linn. A review on its pharmacognostic, phytochemical and pharmacological aspects). *Int J Pharm Phytochem Res.*, 2012; 1(4): 215-232.
- Verma R, Hanif K, Sasmal D, Raghubir R. (Resurgence of herbal antihypertensives in management of hypertension). *Curr Hypertens Rev*, 2010; 6(Suppl 3): 109–198.
- Hamburger M, Hostettman K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. Masson, Paris, 1991.
- Ngo Bum E, Ngah E, Ngo Mune RM, ZE Minkoulou DM, Talla E, Moto FCO, Ngoupaye GT, Taiwe GS, Rakotonirina A, Rakotonirina SV. (Decoctions of *Bridelia micrantha* and *Croton macrostachyus* may have anticonvulsant and sedative effects). *Epilepsy Behav*, 2012; 24: 319–323.
- Maroyi A. (Ethnopharmacology and therapeutic value of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill). In *Tropical Africa: A comprehensive Review*. *Molecules*, 2017; 22(9): 1943, doi: 10.3390/molecules22091493.
- Hutchings A, Scott AH, Lewis G, Cunningham A. *Zulu Medicinal Plants. An Inventory*. Scottsville: University of Natal Press, 1996.
- Abo KA, Ashidi JS. (Antimicrobial screening of *Bridelia micrantha*, *Alchornea cordifolia* and *Boerhavia diffusa*). *Afr J Med Med Sci*, 1999; 28(3-4): 167-169.
- Samie A, Obi CL, Bessong PO, Namrita L. (Activity profiles of fourteen selected medicinal plants from rural Venda communities in South Africa against fifteen clinical bacterial species). *Afr J Biotechnol*, 2005; 4(12): 1443-1451.
- Ajayicoba E, Ashidi J, Abiodun O, Larry O, Omonike O, Dora A, Cathérine F, Olanyinka B, Grace G, Mofusho F, Oludele I, Peter H, Collins W, Ayoade O. (Antimalarial ethnobotany: *in vitro* antiparasitodal activity of seven plants identified in the Nigerian Middle Belt). *Pharm Biol*, 2004; 42(8): 588-591.
- Lin J, Puckree T, Mvelase TP. (Anti-diarrhoeal evaluation of some medicinal plants used by Zulu traditional healers). *J Ethnopharmacol*, 2002; 79(1): 53-56.
- Gangoué-Piéboji J, Baurin S, Frère J-M, Ngassam P, Ngaameni B, Azebaze A, Pegnyemb DE, Watchueng J, Goffin C, Galleni M. (Screening of some medicinal plants from Cameroon for  $\beta$ -lactamase inhibitory activity). *Phytother Res*, 2007; 21(3): 284-287.
- Bessong PO, Obi CL, Igumbor E, Andreola M-L, Litvak S. (*In vitro* activity of three selected South African medicinal plants against human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase). *Afr J Biotechnol*, 2004; 3(10): 555-559.
- Bessong PO, Rojas LB, Obi LC, Tshisikawe PM, Igumbor EO. (Further screening of Venda medicinal plants for activity against HIV type 1 reverse transcriptase and integrase). *Afr J Biotechnol*, 2006; 5(6): 526-528.
- Pegel KH, Rogers CB. (Constituents of *Bridelia micrantha*). *Phytochemistry*, 1968; 7(4): 655-656.
- Kouam SF, Flörke U, Krohm K, Akhtar MN, Ngadjui BT, Abegaz BM. 3- $\beta$ -Taraxerol from *Bridelia micrantha*. *Acta Crys*, 2005; E61: 599-600.
- Mburu C, Kareru PG, Kipyegon C, Madivoli ES, Maina EG, Kairigo PK, Kimani PK, Marikah DM. (Phytochemical Screening of Crude Extracts of *Bridelia micrantha*). *European J Med Plants*, 2016; 16: 1–7.
- Olivier B, Zethof TJ, Ronken E, van der Heyden JA. (Anxiolytic effects of flesinoxan in the stress-induced hyperthermia paradigm in singly housed mice are 5-HT1A-receptor mediated). *Eur J Pharmacol*, 1998; 342(2-3): 177–182.
- Bourin M, Hascoet M, Mansouri B, Colombel MC, and Bradwejn J. (Comparison of behavioral effects after single and repeated administrations of four benzodiazepines in three mice behavioral models). *J Psychiatry Neurosci*, 1992; 17(2): 72-77.
- Borsini F, Lecci A, Volterra G, Meli A. (A model to measure anticipatory anxiety in mice?). *Psychopharmacology*, 1989; 98(2): 207-211.

24. Walf AA, Frye CA. (The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents). *Nat Protoc*, 2007; 2(2): 322-328.
25. Herrera-Ruiz M, Román-Ramos R, Zamilpa A, Tortoriello, J, Jiménez-Ferrer JE. (Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus-maze test). *J Ethnopharmacol*, 2008; 118(2): 312-317.
26. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. (Validation of open closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat). *J Neurosci Methods*, 1985; 14(3): 149-167.
27. Angrini M, Leslie JC, Shephard RA. (Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chlordiazepoxide on open-field behavior). *Pharmacol Biochem Behav*, 1998; 59(2): 387-397.
28. Manchanda RK, Jaggi AS, Singh N. (Ameliorative potential of sodium cromoglycate and diethyldithiocarbamic acid in restraint stress-induced behavioral alterations in rats). *Pharmacol Rep*, 2011; 63(1): 54-63.
29. Prut L, Belzung C. (The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review). *Eur J Pharmacol*, 2003; 463(1-3): 3-33.
30. Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T. (Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice). *Eur J Pharmacol*, 1998; 350(1): 21-29.
31. File S, Pellow S. (The effect of triazolobenzodiazepines in two animal tests of anxiety and on the hole-board). *Br J Pharmacol*, 1985; 86: 729-735.
32. Lolli LF, Sato CM, Romanini CV, Villas-Boas L de B, Santos CA, de Oliveira RM. (Possible involvement of GABA A-benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by *Passiflora actinia* extracts in mice). *J Ethnopharmacol*, 2007; 111(2): 308-314.
33. Moraira EG, Nascimento N, Rogero JR, Vera SV. (GABAergic-benzodiazepine system is involved in the crotoxin-induced anxiogenic effect). *Pharmacol Biochem Behav*, 2000; 65(1): 7-13.
34. Groenink L, Vinkers CH, Oorschot R, Olivier B. (Models of anxiety: stress-induced hyperthermia (SIH) in singly housed mice). *Curr Protoc Pharmacol*, 2009; S45: 5.16.1-5.16.12.
35. Reeves DL, Levinson DM, Justesen DR and Lubin B. (Endogenous hyperthermia in normal human subjects: Experimental study of emotional states II). *Int J Psychosom*, 1985; 32: 18-23.
36. Olivier B, Zethof T, Pattij T, Van Boogaert M, Van Oorschot R, Leahy C, Oosting R, Bouwknecht A, Veening J, Van der Gugten J, Groenink L. (Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation). *Eur J Pharmacol*, 2003; 463(1-3): 117-132.
37. Ngo Bum E, Taiwe GS, Moto FCO, Ngoupaye GT, Nkantehoua GCN, Pelanken MM, Rakotonirina SV, Rakotonirina A. (Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* Smith in mice). *Epilepsy Behav*, 2009; 15(4): 434-440.
38. Manavi C, Rajkumar V, Vijai L, Shibani S, Anil Kumar V, Abbas Ali M, Gautam P. (Anxiolytic effects of *Plumeria rubra* var. *Acutifolia* (poiret) L. Flower extracts in the elevated plus-maze model of anxiety in mice). *Asian J Psychiatr*, 2013; 6(2): 113-118.
39. Masoumeh E, Mohammad K, Maryam Fath A. (*Coriandrum sativum*: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze). *J Ethnopharmacol*, 2005; 96(3): 365-370.
40. Chandrashekar K, Amudha P, Venkataraman S. (Anxiolytic activity of ethanolic and aqueous extract of *Ficus carica* Linn fruits in swiss albino mice). *Int J Basic Clin Pharmacol*, 2017; 6(8): 2043-2050.
41. Grundmann O, Wang J, McGregor GP, Butterweck V. (Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extracts is mediated via the GABAergic system). *Planta Med*, 2008; 74(15): 1769-1773.
42. Shibata S. (Chemistry and Cancer preventing Activities of Ginseng saponins and some related triterpenoid compounds). *J Korean Med Sci*, 2001; 16(supplement): S28-S37.
43. Kavvadias D, Sand P, Youdim KA, Qaiser MZ, Rice-Evans C, Baur E, Siegel E, Rausch WD, Riederer P, Schreier P. (The flavone hispidulin, a benzodiazepine receptor ligand with positive allosteric properties traverses the blood brain barrier and exhibit anticonvulsant effects). *Br J Pharmacol*, 2004; 142(5): 811-820.
44. Bonin, RP and Orser BA. (GABAA receptor subtypes underlying general anesthesia). *Pharmacol Biochem Behav*, 2008; 90(1): 105-112.
45. Olkkola KT, Ahonen J. (Midazolam and other benzodiazepines). *Handb Exp Pharmacol*, 2008; 182: 335-360.
46. Viola H, Wasowski C, Levi de Stein M, Wolfman C, Silveira R Dajas F, Medina JH, Paladini AC. (A pigenin, a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors- ligand with anxiolytic effects). *Planta. Med*, 1995; 61(3): 213-216.
47. Marder M, Viola H, Wasowski C, Wolfman C, Waterman PG, Cassels BK, Medina JH, Paladina AC. (6-Bromoflavone, a high affinity ligand for the central benzodiazepine receptors is a member of a family of active flavonoids). *Biochem Biophys Res Commun*, 1996; 223: 384-389.
48. Ayissi Mbomo RE, Omam Omam J P, Kandeda Kavaye A, Njapdounke Kameni S J, Ngo Bum E. (Anxiolytic (Benzodiazepine-Like) Properties of *Mimosa Pudica* in Mice). *IJBCS*, 2015; 4(3): 41-49.
49. Chebib M, Johnston Graham AR. (GABA-activated ligand gated ion channels: Medicinal Chemistry and Molecular Biology). *J Med Chem*, 2000; 43(8): 1427-1447.

50. Andrews PR, Johnston GAR. (GABA agonists and antagonists). *Bioch Pharmacol*, 1979; 28(18): 2697-2702.
51. Pokk P, Zharkovsky A. (The effects of flumazenil, RO 15-4513 and beta-CCM on the behaviour of control and stressed mice in the plus-maze test). *J Physiol Pharmacol*, 1997; 48: 253-261.
52. Mody I, Pearce RA. (Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA(A) receptors). *Trends Neurosci*, 2004; 27(9): 569-575.
53. Lopez-Rubalcava C, Pi ña-Medina B, Estrada-Reyes R, Heinze G, Martinez-Vazquez M. (Anxiolytic-like actions of the hexane extract from leaves of *Annona cherimolia* in two anxiety paradigms: possible involvement of the GABA/benzodiazepine receptor complex). *Life Sci*, 2005; 78(7): 730-737.
54. Lolli LF, Sato CM, Romanini CV, Villas-Boas L. de B, Santos CA, de Oliveira RM. (Possible involvement of GABA A-benzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by *Passiflora actinia* extracts in mice). *J Ethnopharmacol*, 2006; 111(2): 308-314.



**ANXIOLYTIC ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF *BRIDELIA MICRANTHA* (HOCHST) BAILL (EUPHORBIACEAE) IN MICE EXPOSED TO CHRONIC IMMOBILIZATION STRESS**

**Delphine Mirelle Ze Minkoulou<sup>1\*</sup>, Jean Pierre Omam Omam<sup>2</sup>, Antoine Kavaye Kandeda<sup>1</sup>, Florence Nguegum Tsofack<sup>1</sup>, Elisabeth Ngo Bum<sup>3</sup>, Théophile Dimo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812 Yaoundé, Cameroon.

<sup>2</sup>Higher Teachers' Training College, University of Yaoundé I, P.O. Box 47, Yaoundé, Cameroon.

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Ngaoundéré, P.O. Box 454, Ngaoundéré, Cameroon.

Article Received on  
21 Nov. 2018,  
Revised on 11 Dec. 2018,  
Accepted on 02 Jan. 2019  
DOI: 10.20959/wjpps20192-13021

**\*Corresponding Author**

**Delphine Mirelle Ze  
Minkoulou**

Department of Animal  
Biology and Physiology,  
Faculty of Science,  
University of Yaoundé I,  
P.O. Box 812 Yaoundé,  
Cameroon.

[mireilleze2003@yahoo.fr](mailto:mireilleze2003@yahoo.fr)

**ABSTRACT**

Anxiety disorders are a major public health concern worldwide. The current anxiolytics are ineffective and associated with major side effects. Thus, medicinal plants with better effects constitute a source of new pharmaceutical drugs. This work aimed to assess the anxiolytic-like properties of aqueous bark extract of *Bridelia micrantha* on behavioral and neurochemical characteristics, using male mice subjected to chronic immobilization stress. The anxiolytic properties of *B. micrantha* were assessed in mice after repeated stress by immobilization. Mice received distilled water (10 ml/kg, p.o), diazepam (2 mg/kg, i.p) or *B. micrantha* extract (76, 152 or 305 mg/kg, p.o) one hour prior to daily exposure to stress by immobilization in the adapted plastic cone (3h/day) for 14 days. The behavioral parameters were evaluated using Elevated Plus Maze (EPM), Open Field (OF) and Hole-Board (HB) tests. The plasma levels of serotonin and

corticosterone were determined by ELISA technique. Like diazepam, the extract increased ( $p < 0.001$ ) the number of open arms entries and the time spent in open arms of the EPM. The extract elicited the increase of crossing and grooming number, and the time spent in centre of the OF. On the HB, the extract increased ( $p < 0.001$ ) the number of head dipping and decreased

the number of crossing. The extract increased ( $p < 0.001$ ) plasma serotonin levels and decreased corticosterone levels. The chronic restraint stress-induced behavioral and neurotransmitters levels abnormalities were attenuated by the extract. These overall results suggest that aqueous bark extract of *B. micrantha* might have a promising therapeutic potential for stress-related disorders.

**KEYWORDS:** Chronic Immobilization Stress, Anxiety, *B. Micrantha*, Serotonin, Corticosterone.

## INTRODUCTION

Acute and chronic stresses are characterized by the physiological changes that occur in response to novel or threatening stimuli. Chronic stress has been linked to the pathophysiology of mood including anxiety disorders and depression.<sup>[1]</sup> Mental Stress is defined as the non-specific response of the body to any demand imposed upon it.<sup>[2]</sup> Stress is known to alter the physiological homeostasis of the organism and complex mechanisms contribute to the breakdown in adaptation processes resulting in various visceral, endocrinal, and behavioral changes.<sup>[3]</sup> The neuroendocrine damages in response to acute and chronic stresses are mediated by both the sympathetic nerve system and the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis, which lead to the regulation of the release of dopamine, norepinephrine, serotonin, glutamate, and corticotropin-releasing and adrenocorticotrophic hormones in central nervous system (CNS) and the secretion of glucocorticoids in plasma.<sup>[4]</sup> Cortisol and corticosterone are thus often used as biomarkers for stress, depressive and anxiety disorders.<sup>[5]</sup> Stress plays the main role in pathogenesis of mental disorders.<sup>[6,7]</sup> A host of chronic psychiatric disease states like melancholic depression, anorexia nervosa, panic disorders, anxiety disorders and cognitive dysfunction have been reported to involve abnormality of stress axis.<sup>[8]</sup> Restraint stress can induce a series of dysfunctions of central nervous system, such as cognitive impairment, anxiety, depression, amnesia, and insomnia. A number of chronic stress models, including electric footshock (EF) stress, forced swimming, noise stimulus and immobilization, have been employed to induce anxiety disorders in the past decades.<sup>[9]</sup> However, elevated plus-maze is a widely used test, which is based on the natural aversion of rodents to heights and open spaces, and which has been validated to be suitable for the assessment of anxiety disorders for both mice and rats.<sup>[10]</sup> As another characteristic behavior of the anxiety state of animals, the open field and hole-board tests are also used as a screening model for the detection of anxiolytics.<sup>[10,11]</sup> Anxiety disorders in particular, affect 1/8<sup>th</sup> of total population worldwide and have become one of important

research interest in psychopharmacology during this decade.<sup>[12]</sup> The hallmark of anxiety disorders is marked, persistent and excessive or unreasonable fear that is experienced to a degree that significantly interferes with everyday life.<sup>[13]</sup> Chronic stress and chronic stress-induced anxiety disorders have become increasingly more important public health concerns in recent years. However, the ranges of available pharmacotherapy like the benzodiazepines for the treatment of anxiety disorders induced by chronic stress are limited and suboptimal with regard to efficacy and tolerability.<sup>[14]</sup> A search for novel pharmacotherapy from medicinal plants for psychiatric illnesses has progressed significantly in the past decade. This is reflected in the large number of herbal preparations for which psychotherapeutic potential has been evaluated in a variety of animal models.<sup>[15]</sup> Several plants have proven anxiolytic-like effects in animal models.<sup>[16,17,18]</sup> *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. is a small to medium sized tree belonging to the family Phyllanthaceae (formerly Euphorbiaceae), commonly known as mitzerie or coastal golden leaf.<sup>[19]</sup> The following activities have been reported from *B. micrantha*: anthelmintic, antibacterial, anticonvulsant and sedative, antidiabetic, antidiarrhoeal, antifungal, anti-*Helicobacter pylori*, antimycobacterial, antinociceptive, antioxidant, antiplasmodial, antischistosomal, antiviral, hepatoprotective, insecticidal,  $\beta$ -lactamase inhibitor.<sup>[19]</sup> Thus it is not surprising that the bark, leaves and roots of *B. micrantha* are widely used as herbal medicines in tropical Africa.<sup>[19]</sup> The powdered bark is used for diseases of the central nervous system like epilepsy and insomnia in Cameroon.<sup>[19,20]</sup> Multiple classes of phytochemicals including alkaloids, anthocyanidin, anthraquinones, carbohydrates, cyanogenic glycoside, essential oil, ester, flavonoids, oxalate, phenolic compounds, saponins, sterols, tannins, terpenoids as well as several minerals have been isolated from the bark, fruits, leaves and roots of *B. micrantha*.<sup>[19,21]</sup> The aim of the present study was to evaluate the neuropharmacological activities of aqueous bark extract of *B. micrantha*, in an experimental model of chronic stress-induced anxiety disorders by investigating the behavioral parameters, using the elevated plus-maze, open field and hole-board tests, and determining its influences on the levels of serotonin and corticosterone in the plasma.

## MATERIAL AND METHODS

### Material

**Plant material:** The barks of *B. micrantha* were collected in the immediate vicinity of Yaoundé (Nkombassi), Cameroon, during the dry season in July 2010. The plant materials were identified (voucher specimen N° 9678/SRF/Cam) at the National Herbarium of Cameroon in Yaoundé.

**Animals**

Adult male Swiss albinos mice weighing 20-25g and about 2-3 months from our breeding stock (Animal house of the laboratory of Animal Physiology of the University of Yaoundé I) were used in this study. The animals were housed at 25±3°C with 12:12 h light and dark cycle. They had free access to food and water. The animals were acclimatized for a period of seven days before the study. All animal handling procedures were done in accordance with National Ethic Guidelines (FWA-IRB00001954), and the experiments designed to minimize the number of animals used and to minimize their suffering.

**Chemicals**

Diazepam was obtained from Roche (France). Serotonin and Corticosterone kits were purchased from IBL INTERNATIONAL GMBH (Hamburg, Germany).

**Methods****Preparation of the aqueous extract**

The aqueous extract and doses of *B. micrantha* were obtained based on the traditional medicine protocol. The collected barks of the plant were dried under room temperature. The dried and powdered bark (100 g) of *B. micrantha* was macerated in 1l of distilled water for 1 hour. The mixture was boiled for 20 min. After cooling, the supernatant was collected and filtered using Whatman filter paper N°1. In another experiment the filtrate was then evaporated to dryness using an oven at 45°C giving aqueous extract with a 6.1% yield.

**Experimental Design**

The aqueous extract of *Bridelia micrantha* or diazepam in distilled water was freshly prepared before being administered. On group made up of animals unstressed, received distilled water. All the treatments were given once daily for two weeks and the animals were subjected to immobilization stress on the first day (3 hours/day) until the fourteenth day. In this study all the animals were randomly divided into six groups of five mice for the each behavioral analysis. The following protocol was used: Group I: unstressed animals (normal control); Group II: stressed animals (negative control), daily oral administration of distilled water; Group III-IV-V: stressed animals, treated with the aqueous extract of *B. micrantha* at 76, 152 or 305 mg/kg respectively; Group VI: stressed animals, treated with standard reference drug diazepam (2 mg/kg, i.p).

### Stress Procedure

The animals were subjected to stress by repeated immobilization which consisted of a complete immobilization of the mice inside the 50 ml conical tubes (cylinder 3 cm in diameter and 8 cm in height). The mice were restrained for 3 hours/day without access to water and food. Stress was applied to animals for 14 consecutive days. The different treatments were administered 1 hour before immobilization. On the fifteenth day, the mice were treated with drugs or extract, and subjected to behavioral studies on the elevated plus maze (EPM), Open field (OF) and Hole board (HB). One hour after behavioral completion, they were returned at their initial cage until the sacrifice. The blood was withdrawn from the jugular vein, collected in the EDTA tubes and centrifuged to separate plasma from the erythrocytes at 3,000 rpm for 20 min at 4°C. Plasma was transferred to 1.5 ml Eppendorf vials and kept at -20°C. Post-stress corticosterone and serotonin were measured in the plasma by an enzyme-linked immunosorbant assay using the corticosterone and serotonin ELISA kits in accordance with the manufacturer's protocol (IBL INTERNATIONAL GMBH, Hamburg Germany). The resulting concentration of plasma corticosterone and serotonin were expressed as ng/mL using prepared corticosterone and serotonin standards.

### Behavioral analysis

#### Elevated plus-maze test

Anxiety was evaluated in an elevated plus maze. The wooden apparatus, consisted of two open arms (16×5cm each), two enclosed arms (16×5cm×10cm; each) and a central platform (5×5cm) arranged in such a way that the two arms of each type were opposite to each other. The maze was elevated 50cm above the floor. The experimental procedure was similar to that described by Pellow.<sup>[22]</sup> After the induction of chronic immobilization stress (14 days), on the 15<sup>th</sup> day the mice were placed in the centre of the elevated plus maze facing one of the open arms. During the 5 min test period the number of open and closed arms entries, the times spent in open or closed arms, rearing and head dipping were recorded with stop watches. An entry was defined as all four feet into one arm. An increase in open arms entries and increase in time spent in open arms were accepted as the measures of potential anxiolytic activity. The apparatus was carefully cleaned with 10% ethanol solution after every passage of mouse. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic HC- V385, 100 Mega pixel).

**Open Field test:** The open field has been considered to be a non-conditioned anxiety test based on the creation of a conflict between the exploratory drive of the mice and its innate

fear to exposure in an open area.<sup>[23]</sup> The open field test has been employed to assess the spontaneous activity, general exploration and ambulation of the rodents. After the induction of chronic immobilization stress (14 days), the 15<sup>th</sup> day each mouse was placed individually in the centre of the apparatus and observed for 5 min to record its locomotor activity parameters (the number of line crossings), exploratory activity (indicated by frequency of rearing) and time spent in the center.<sup>[24]</sup> The apparatus was carefully cleaned with 10% ethanol solution after every test. All test sessions were taped by using a video camera (Panasonic V385, 100 Mega pixel).

#### Hole-board test

The hole-board apparatus was used to determine a high-anxiety-like state in mice. The apparatus was composed of a gray wooden box (50 cm×50 cm×50 cm) with four equidistant holes 3 cm in diameter in the floor. The centre of each hole was 10 cm from the nearest wall of the box. The floor of the box was positioned 15 cm above the ground and divided into squares of 10 cm ×10 cm with a water-resistant marker. After the induction of chronic immobilization stress (14 days), the 15<sup>th</sup> day each animal was placed in the centre of hole board and allowed to freely explore the apparatus for 5 min. Mouse behavior was continuously videotaped by a digital video camera (Panasonic V385, 100 Mega pixel). The total locomotor activity (numbers of squares crossed), and the number and duration of head dipping were recorded. A head dipping was scored if both eyes disappeared into the hole-board.<sup>[25]</sup> The apparatus was carefully cleaned with 10% ethanol solution after every test.

#### STATISTICAL ANALYSIS

All the results were expressed as mean ± SEM. All statistical analysis was done using one way analysis of variance (ANOVA) followed by the Dunnett's post hoc test.  $p < 0.05$  was considered as significant when compared to their respective control group.

#### RESULTS

**Effects of *Bridelia micrantha* on the CIS-Induced anxiety in the Elevated plus maze (EPM):** The results indicated that in the elevated plus maze (EPM), the chronic restraint stress (3h/day for 14 consecutive days) induced a significant ( $p < 0.001$ ) reduction of the number of open arms entries, time spent in open arms, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arms as it is reported in Table 1. The post treatment of *B. micrantha* aqueous extract (76, 152 and 305 mg/kg) reversed the chronic restraint stress-

induced anxiety by increasing the number of open arms entries ( $6.80 \pm 0.86$ ;  $p < 0.05$ ,  $10.40 \pm 1.43$ ;  $p < 0.001$  and  $13.80 \pm 1.86$ ,  $p < 0.001$ , respectively), the time spent in open arms ( $66.60 \pm 4.37$  s;  $171.80 \pm 6.85$  s and  $209.60 \pm 5.35$  s;  $p < 0.001$ , respectively), the percentage of open arms entries (55.63%; 64.76% and 79.90%;  $p < 0.001$ , respectively) and the percentage of time spent in open arms (22.20%; 57.27%; and 69.87%;  $p < 0.001$ ) compared to the negative control group ( $1.40 \pm 0.24$ ;  $2.40 \pm 0.40$  s, 7.69% and 0.80%, respectively). Standard drug diazepam also increased ( $p < 0.001$ ) the number of open arms entries, time spent in open arms, percentage of open arms entries and percentage of time spent in open arms. However, The plant extract (76, 152 and 305 mg/kg) elicited a significant ( $p < 0.001$ ) decrease of the numbers of rearing and head dipping in treated mice compared to the negative control group. The same trend was observed with diazepam group. The aqueous extract of *B. micrantha* like diazepam significantly induced reduction ( $p < 0.001$ ) in the number of closed arms entries, time spent in closed arms, the percentage of closed arms entries and the percentage of time in closed arms (Table 1).

**Table 1: Effects of *Bridelia micrantha* on the CIS-Induced anxiety in the EPM.**

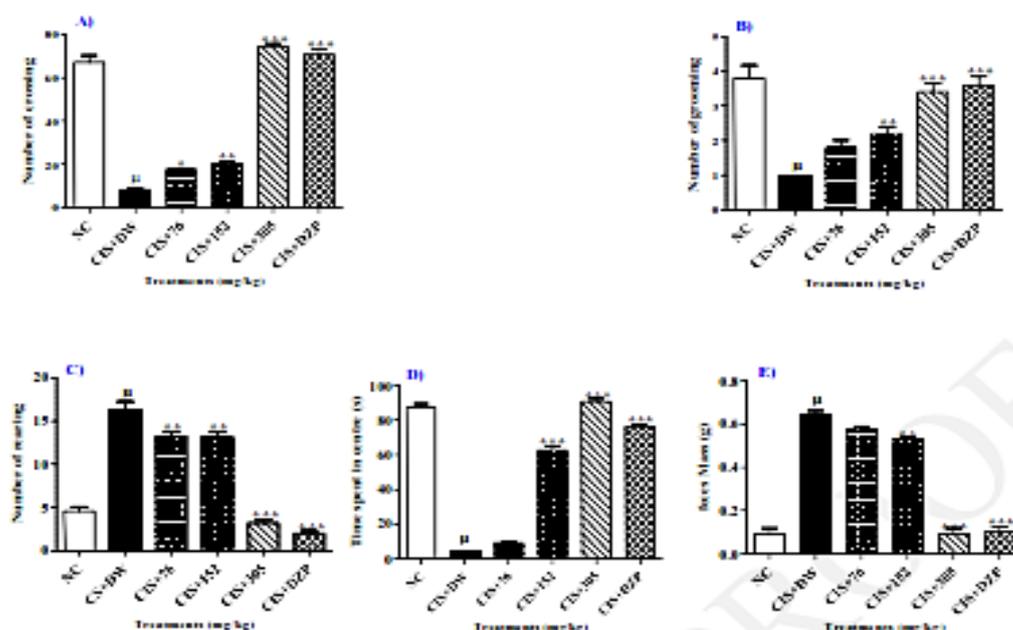
	NC	CIS+ DW	CIS + 76	CIS + 152	CIS + 305	CIS + DZP
Noae	$6.06 \pm 0.51$	$1.40 \pm 0.24^{\mu}$	$6.80 \pm 0.86^*$	$10.40 \pm 1.43^{***}$	$13.80 \pm 1.86^{***}$	$14.20 \pm 1.32^{***}$
Ncae	$9.80 \pm 0.58$	$17.00 \pm 0.71^{\mu}$	$5.80 \pm 1.39^{***}$	$5.40 \pm 0.40^{***}$	$3.20 \pm 0.37^{***}$	$2.80 \pm 0.37^{***}$
Tsoa	$68.60 \pm 7.27$	$2.40 \pm 0.40^{\mu}$	$66.60 \pm 4.37^{***}$	$171.80 \pm 6.85^{***}$	$209.60 \pm 5.35^{***}$	$177.60 \pm 9.45^{***}$
Tsca	$99.00 \pm 4.30$	$153.40 \pm 2.42^{\mu}$	$95.60 \pm 3.22^{***}$	$26.60 \pm 0.93^{***}$	$12.80 \pm 0.66^{***}$	$14.20 \pm 0.97^{***}$
Rearing	$8.20 \pm 0.37$	$23.80 \pm 0.58^{\mu}$	$11.60 \pm 1.43^{***}$	$7.20 \pm 0.37^{***}$	$2.80 \pm 0.37^{***}$	$3.40 \pm 0.40^{***}$
Head dipping	$7.80 \pm 0.58$	$27.00 \pm 1.70^{\mu}$	$8.00 \pm 0.55^{***}$	$6.80 \pm 0.73^{***}$	$2.20 \pm 0.80^{***}$	$3.80 \pm 0.37^{***}$
Poae	$37.20 \pm 1.24$	$7.69 \pm 1.43^{\mu}$	$55.63 \pm 9.40^{***}$	$64.76 \pm 4.12^{***}$	$79.90 \pm 3.83^{***}$	$83.70 \pm 0.80^{***}$
Pcae	$62.80 \pm 1.24$	$92.31 \pm 1.43^{\mu}$	$44.37 \pm 9.40^{***}$	$35.24 \pm 4.12^{***}$	$69.87 \pm 1.79^{***}$	$16.30 \pm 0.80^{***}$
Ptsoa	$22.87 \pm 2.42$	$0.80 \pm 0.13^{\mu}$	$22.20 \pm 1.45^{***}$	$57.27 \pm 2.28^{***}$	$69.87 \pm 1.79^{***}$	$59.20 \pm 3.15^{***}$
Ptsca	$33.00 \pm 1.43$	$51.13 \pm 0.87^{\mu}$	$31.87 \pm 1.07^{***}$	$8.87 \pm 0.31^{***}$	$4.27 \pm 0.22^{***}$	$4.73 \pm 0.32^{***}$

All values are mean  $\pm$  SEM, n = 6. P values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test. \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  significant difference compared to negative control (CIS+DW);  $\mu p < 0.001$  vs. normal control. NC: normal control. CIS+ DW: negative control group of mice treated with distilled water (DW) and subjected to cis. CIS+76: mice group treated with 76mg/kg of *B. micrantha* extract and subjected to cis. CIS+152: mice group treated with 152mg/kg of *B. micrantha* extract and subjected to cis. CIS +305: mice group treated with 305mg/kg of *B. micrantha* extract and subjected to cis. CIS+DZP: mice group treated with 2mg/kg of diazepam and subjected to

**cls.** NOAE: number of open arms entries. NCAE: number of closed arms entries. TSOA: time spent in open arm. TSCA: time spent in closed arm. POAE: percentage of open arms entries. PCAE: percentage of closed arms entries. PTSOA: percentage of time spent in open arm. PTSCA: percentage of time spent in closed arm. CIS: chronic immobilization stress.

#### **Effects of *Bridelia micrantha* on the CIS-induced anxiety in the Open Field (OF)**

The chronic restraint stress led to a significantly ( $p < 0.001$ ) decrease of the numbers of crossing and grooming as well as the time spent in centre compared to normal control group (Fig 1 A, B & D). The stress was accompanied by an increase of the number of rearing and the mass of fecal boli (Fig 1 C & E). The administration of aqueous extract of *B. micrantha* (76, 152, and 305 mg/kg) attenuated the restraint stress effects on the open field behavior. As shown in figure 1A, the number of crossing significantly increased from  $8.40 \pm 0.51$  in the negative control group to  $17.60 \pm 0.68$  ( $p < 0.05$ ),  $20.20 \pm 1.02$  ( $p < 0.01$ ) and  $74.00 \pm 1.79$  ( $p < 0.001$ ), in mice treated with the plant extract at the respective doses of 76, 152 and 305 mg/kg. This number was  $70.60 \pm 2.77$  ( $p < 0.001$ ) in the positive control group mice receiving 2 mg/kg of diazepam. At the dose 152 and 305mg/kg, the number of grooming ( $2.20 \pm 0.20$ ;  $p < 0.01$ ,  $3.40 \pm 0.24$ ;  $p < 0.001$  respectively) and the time spent in centre ( $62.80 \pm 2.50$ s;  $p < 0.001$ ,  $90.80 \pm 1.66$ s;  $p < 0.001$ ) of the open field (OF) also significantly increased compared to the negative control group ( $1.00 \pm 0.00$ ;  $4.20 \pm 0.37$ ) (Fig 1B & D). The chronic restraint stress also resulted to a significant increase ( $p < 0.05$ ) of the number of rearing and feces mass. The number of rearing significantly decreased in mice groups treated with the aqueous extract of *B. micrantha* ( $13.20 \pm 0.58$ ;  $p < 0.01$ ,  $13.20 \pm 0.58$ ;  $p < 0.01$ ,  $3.20 \pm 0.37$ ;  $p < 0.001$  respectively) at the dose 76, 152 and 305 mg/kg). The diazepam caused a more significant decrease in the number of rearing ( $2.00 \pm 0.32$ ;  $p < 0.001$ ) compared to negative control ( $16.20 \pm 1.02$ ) (Fig 1C). The chronic administration of *B. micrantha* aqueous extract (76, 152 and 305 mg/kg) also elicited a significant decreased of the mass of fecal boli ( $0.57 \pm 0.01$ g;  $0.53 \pm 0.01$ g;  $p < 0.01$ ,  $0.09 \pm 0.02$ g;  $p < 0.001$ , respectively) compared to negative control group ( $0.64 \pm 0.02$ g). Similarly, diazepam significantly ( $p < 0.001$ ) decrease the mass of fecal boli in stress induced groups compared to distilled water treated mice (Fig 1E).



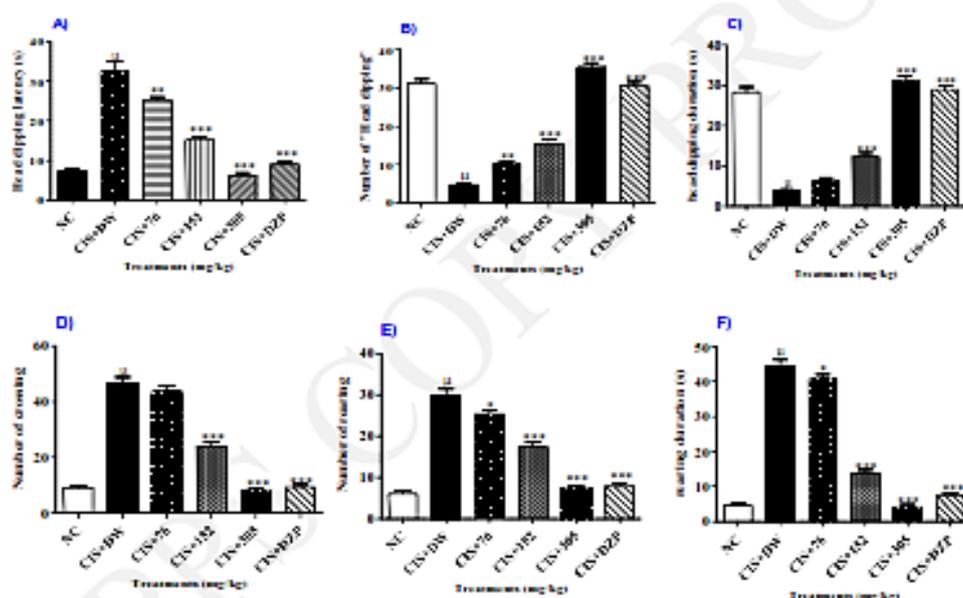
**Figure. 1: Effects of *Bridelia micrantha* on the CIS-induced anxiety in the Open field**  
Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M, n = 6. P values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet's post-hoc test. NC: Normal control.

**CIS+DW:** Negative control group of mice treated with distilled water (DW) and subjected to cis; **CIS+76:** mice group treated with 76 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+152:** mice group treated with 152 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+305:** mice group treated with 305 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+DZP:** mice group treated with 2mg/kg of diazepam and subjected to cis.  $\mu$ :  $p < 0.001$  vs NC; \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  significant difference compared to the negative control (CIS+DW). CIS: chronic immobilization stress). (A): number of crossing. (B): number of grooming. (C): number of rearing. (D): time spent in center. (E): feces mass.

#### Effects of *Bridelia micrantha* on the CIS-Induced anxiety in the hole-board

Restraint stress significantly ( $p < 0.001$ ) decreased the number of head dipping, the duration of head dipping and increased the head dipping first latency, the number of crossing, the number and duration of rearing in stress-induced mice group when compared to normal groups. Post administration of *B. micrantha* aqueous extract or diazepam (2mg/kg), attenuated the restraint stress effects on the hole-board behavior. The aqueous extract of *B. micrantha* significantly and dose-dependently decreased the head dipping first latency with values being  $25.20 \pm 0.86$ s; ( $p < 0.01$ ),  $15.20 \pm 0.86$ s; ( $p < 0.001$ ) and  $6.20 \pm 0.73$ s ( $p < 0.001$ ) respectively at dose of

76, 152 and 305 mg/kg, against  $(32, 40 \pm 2.50s)$  for the negative control group. With the same respective doses of plant extract, the number  $(25.40 \pm 0.75; (p<0.05), 17.40 \pm 1.07; (p<0.001), 7.60 \pm 0.51; (p<0.001))$  and duration  $(40.60 \pm 1.36s; (p<0.05), 13.80 \pm 0.97s; (p<0.001), 4.20 \pm 0.73s (p<0.001))$  of rearing, as well as the number of crossing  $(43.80 \pm 1.77; 24.00 \pm 1.41; (p<0.001), 8.40 \pm 0.75(p<0.001)$  was significantly decreased compared to the negative control group  $(29.80 \pm 1.59; 44.60 \pm 1.63s; 46.60 \pm 2.16)$ . The number  $(10.20 \pm 0.58; (p<0.01), 15.40 \pm 1.12; (p<0.001), 35.60 \pm 2.30; (p<0.001))$  and the duration of head dipping  $(6.40 \pm 0.75s, 12.40 \pm 0.93s, 31.20 \pm 1.11s; (p<0.001))$  significantly increased with the graded doses of *B. micrantha* extract compared to the mice of negative control group  $(4.80 \pm 0.37; 3.80 \pm 0.37s)$  as shown in figures 2B & C.



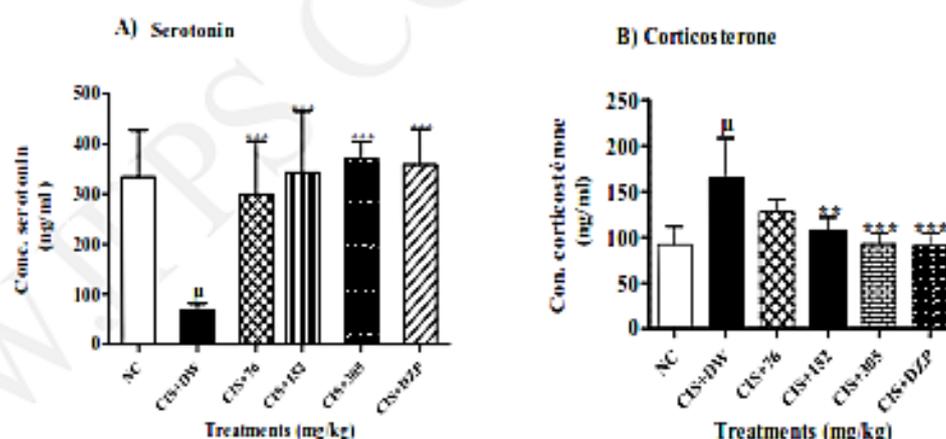
**Figure. 2:** Effect of chronic treatment of *Bridelia micrantha* on CIS-induced anxiety in the hole-board.

Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M.  $n = 6$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnet's post-hoc test. NC: Normal control; CIS+DW: Negative control group of mice treated with distilled water (DW) and subjected to cis; CIS+76: mice group treated with 76 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; CIS+152: mice group treated with 152 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; CIS+305: mice group treated with 305 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; CIS+DZP: mice group treated with 2mg/kg of diazepam and subjected to cis.  $\mu$ :  $p<0.001$  vs

NC; \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  significant difference compared to the negative control (CIS+DW). CIS: chronic immobilization stress. (A): head dipping first latency. (B): number of head dipping. (C): head dipping duration. (D): number of crossing. (E): number of rearing. (F): rearing duration.

### Effects of aqueous extract of *Bridelia micrantha* on the plasma levels of serotonin (A) and corticosterone (B) in mice induced immobilization stress

Restraint stress group showed significant ( $p < 0.001$ ) decrease in the level of plasma serotonin when compared with normal control group. Groups treated with *Bridelia micrantha* (76, 152 and 305 mg/kg) and diazepam (2 mg/kg) along with the restraint stress showed significant ( $p < 0.001$ ) increase in the levels of serotonin ( $299.1 \pm 47.3$  ng/ml,  $342.7 \pm 55.0$  ng/ml and  $370.4 \pm 15.08$  ng/ml, respectively for graded doses of the extract; and  $358.5 \pm 31.4$  ng/ml for Diazepam) when compared with restraint stress group ( $68.84 \pm 5.71$  ng/ml). The higher level of corticosterone in negative control group ( $163.7 \pm 19.9$  ng/ml) compared to normal control ( $92.18 \pm 8.5$  ng/ml) ( $p < 0.001$ ) was significantly ( $p < 0.001$ ) reduced in mice groups that received *B. micrantha* ( $108.0 \pm 6.0$  ng/ml and  $92.3 \pm 5.1$  ng/ml for doses 152 and 305 mg/kg respectively) and diazepam ( $90.6 \pm 6.1$  ng/ml) along with the restraint stress (figures 3A & B).



**Figure. 3: Effects of aqueous extract of *Bridelia micrantha* on the plasma levels of serotonin (A) and corticosterone (B) in mice induced immobilization stress.**

Results are expressed as mean  $\pm$  S.E.M;  $n=6$ .  $P$  values for groups' comparison were obtained by one way ANOVA followed by Dunnett's post-hoc test. NC: Normal control; CIS+DW:

Negative control group of mice treated with distilled water (DW) and subjected to cis; **CIS+76**: mice group treated with 76 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+152**: mice group treated with 152 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+305**: mice group treated with 305 mg/kg of *B.micrantha* extract and subjected to cis; **CIS+DZP**: mice group treated with 2mg/kg of diazepam and subjected to cis.  $\mu$ :  $P < 0.001$  vs. NC; \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  significant difference compared to the negative control (CIS+DW). **CIS**: chronic immobilization stress.

## DISCUSSION

The increase of corticosterone levels in the stressed mice indicates that, stress is able to activate the HPA axis and change the catecholamine, GABA and serotonin levels. Stress thereby involves activation of HPA axis.<sup>[26]</sup> It is well known that, the exposition to chronic immobilization stress of animals or psychological stress in humans is implicated in the pathophysiology of anxiety and mood disorder.<sup>[27]</sup> Immobilization stress, both acute and chronic, has affected motor activity, anxiety-like behavior, and depression-like behavior in animals.<sup>[28]</sup> The present findings demonstrated that mice exposed to CIS for 14 days showed anxiety-like behavior and exhibited an increase in corticosterone and a decrease in serotonin. The behavioral changes observed in this study might be due to the alterations in the brain regions that control motor activity and anxiety-like behavior. Aqueous extract of *Bridelia micrantha* (76, 152 or 305 mg/kg) provided significant protection against immobilization stress. The HPA axis activity can be regulated by monoamines.<sup>[29,30]</sup> Generally the monoamieric level varies among brain regions such as the hippocampus, hypothalamus, prefrontal cortex and amygdale in stress conditions.<sup>[31,29,30]</sup> In this study, for the further precise anxiolytic functions of aqueous extract, the effects of *Bridelia micrantha* on chronic immobilization stress-induced anxiety disorders were investigated by evaluating the elevated plus-maze, open field and hole board tests, as well as the levels of serotonin and corticosterone in mice as an animal model system. The elevated plus-maze test is used to evaluate anxiety disorders, utilizing the natural fear of rodents for open and elevated places.<sup>[22,32]</sup> Mice normally prefer to spend much of their allotted time in the closed arms of the model system (as a more secure location), reflecting an aversion toward the open arms, that is generated by a fears of the open spaces.<sup>[22,10]</sup> Our results indicate that in the open arms, the number of entries, the time spent and their respective percentages significantly increased in the chronic restraint stressed mice, in the presence of the grade doses (76,152 and 305 mg/kg) of aqueous extract of *Bridelia micrantha* and were comparable to the effects of

diazepam a recognized anxiolytic. On the contrary the aqueous extract of *Bridelia micrantha* significantly decreased the percentage of closed arms entries and time spent. Any increased activity in open arms indicates a decreased anxiety level.<sup>[15,32,33]</sup> Also, a decrease of these behavioral parameters in the closed arms indicates a reduction of stress level.<sup>[32,34,35]</sup> These results show the anxiolytic-like activity of the aqueous extract of *Bridelia micrantha*.<sup>[15,32]</sup> Diazepam is referred to as an anxiolytic in humans and causes decrease in anxiogenic-like. Several studies have reported that diazepam at anxiolytic dose facilitates exploratory behavior which is expressed as increased locomotion in the elevated plus maze.<sup>[15,34,36]</sup> Similarly in the open field test, restraint stress induced behavioral alterations as evidenced by increase in number of rearing and decrease in number of crossing and time spent in centre.<sup>[15,34,37]</sup> Post treatment with aqueous extract of *Bridelia micrantha* (76, 152, and 305 mg/kg) and diazepam (2mg/kg) produced reversal behaviors of stress, standard drug and plant extract decreased in number of rearing and increased in number of crossing and time spent in centre. These results corroborate with the anxiolytic activity observed in the elevated plus maze (EPM). The anxiolytic-like activity was also observed in the Hole-board test indicated that the head-dipping behavior was sensitive to changes in the emotional state of the animal, and suggested that the expression of an anxiolytic state may be reflected by an increase in head-dipping behavior.<sup>[15,34,37]</sup> In our study, aqueous extract of *Bridelia micrantha* increased the numbers and duration of head dipping poking compared to the stress induced group.<sup>[15]</sup> In order to further corroborate the anxiolytic activity observed in the elevated plus maze, open field and hole-board tests, we also assessed the stress markers levels. Our results showed that stressed mice exhibited anxiogenic behavior associated to reduction of plasma serotonin concentrations and the increased plasma corticosterone levels. This reveals that the mice underwent stress and the alteration observed is similar to clinically related pathophysiology of anxiety.<sup>[38,39,40,41]</sup> Administration of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* during stress period restored the exploratory behavior of mice. The results showed that stressed mice treated with the aqueous extract of *Bridelia micrantha* had corticosterone level significantly reduced almost to the normal values.<sup>[32,42]</sup> The HPA axis is made up of an assembly of stress responses mediated by the brain, pituitary, and adrenal gland. The endocrine activity of the hypothalamus causes the production of the corticotrophin releasing factor (CRF), a compound that stimulates the production of adrenocorticotrophic hormone (ACTH). ACTH is liberated into the circulatory system, and causes the adrenal cortex to secrete corticosteroid hormones, particularly cortisol. Cortisol increases the availability of refueling the body with substances necessary for the body's response to stress.<sup>[43]</sup> These

substances levels were reversed and were returned to more normal value in aqueous extract of *Bridelia micrantha* treated stressed mice, suggesting that the aqueous extract of *Bridelia micrantha* showed anxiolytic properties as it was demonstrated in our previous work.<sup>[15]</sup> The present study also revealed that, CIS resulted in a significant decreased of serotonin levels when compared to the normal control and treated groups. These findings are similar to the results obtained by MairairaVeronique<sup>[32]</sup> in the analogous studies with *Senna. singuena*. The aqueous extract of *Bridelia micrantha* is rich in polyphenols, flavonoids, tannins, triptenes<sup>[19]</sup>, or other secondary metabolites that may support the anxiolytic activity of the plant.<sup>[44]</sup> The increase of serotonin suggests that this mediator can suppress the anxiety-like behavior of mice via attenuation of glutaminergic transmission in increment of the release of GABA with a decrease in excitation of glutamatergic projections.<sup>[15,34]</sup>

## CONCLUSION

The present study demonstrated that the aqueous extract of *B. micrantha* has a stress-attenuating effect in mice subjected to CIS. This effect may be mediated at least in part by its ability to decrease corticosterone and increase serotonin. Further experimentations are needed to better understand the action mechanism of this plant extract on chronic stress and to provide benefits for its effective use in therapeutic purposes.

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

DMZM (Ph.D student), JPOO (Ph.D), AKK (Ph.D), FNT (Ph.D) wrote and revised the article. ENB and TD were responsible for the project concept and supervision of the study, as well as the writing and review of the manuscript.

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

## REFERENCES

1. Smith AD, Castro SL, Zigmond MJ. Stress-induced Parkinson's disease: A working hypothesis. *Physiol Behav*, 2002; 77(4-5): 527-531.
2. Selye H. The evolution of the stress concept. *American Scientist*. 1973; 61(6): 692- 699.
3. Chrousos GP, Gold PW. The concept of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, 1992; 267(9): 1244-1252.
4. Imperato A, Angelucci L, Casolini P, Zocchi A, Puglisi-Allegra S. Repeated stressful experiences differently affect limbic dopamine release during and following stress. *Brain*

- Res, 1992; 577(2): 194–199.
5. Gong S, Miao YL, Jiao GZ, Sun MJ, Li H, Lin J, Luo MJ, Tan JH. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice. *Plos One.*, 2015; 10(2).
  6. McKinney WT. Animal models of depression: an overview. *Psychiatry*, 1984; 2(2): 77-96.
  7. Willner P. Validity, reliability and utility of chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacol (Berl.)*, 1997; 134(4): 319-329.
  8. Kulkarni SK, Kaur G. Differential effect of a poly herbal formulation- OB-200G in male and female mice subjected to forced swim stress. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2000; 44(3): 281-289.
  9. Xie XZ, Chi XL, Zhou WX, Ma Y, Zhang YX. Progress in research of animal stress models. *Chin J New Drugs*, 2008; 17: 1375–1380.
  10. Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacol.*, 1987; 92(2): 180–185.
  11. Broekkamp CL, Rijk HW, Joly-Gelouin D, Lloyd KL. Major tranquilizers can be distinguished from minor tranquilizers on the basis of effects on marble burying and swim-induced grooming in mice. *Eur J Pharmacol*, 1986; 126(3): 223–229.
  12. Cha HY, Seo JJ, Park JH, Choi KJ, Hong JT, Oh KW. Anxiolytic effects of total saponin fraction from Ginseng Radix Rubra on the elevated plus-maze model in mice. *J Ginseng Res.*, 2004; 28(3):132-135.
  13. Cryan JF, Holmes A. The ascent of mouse: advances in modeling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov*, 2005; 4(9):775-790
  14. Cryan JF, Page ME, Lucki I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacol*, 2005; 182(3): 335–344.
  15. ZE Minkoulou DM, Ngo Mune RM; Omam Omam JP, Ngo Bum E, Dimo T. Anxiolytic Activity of the aqueous extract of *Bridelia micrantha* (Hoshst.)Baill. (Euphorbiaceae) in mice: possible involvement of GABA-receptor complex. *Eur J Pharm Med Res*, 2018; 5(9): 103-116.
  16. Ngo Bum E, Soudi S, Ayissi ER, Dong C, Lakoulo NH, Maidawa F, Seke PFE, Nanga LD, Taiwe GS, Dimo T, Njifutie Njikam, Rakotonirina A, Rakotonirina SV, Kamanyi A. Anxiolytic activity evaluation of four medicinal plants from Cameroon. *Afr J Trad Complement Altern Med.*, 2011; 8(5): 130–139.

17. Fotsing D, Njapdounke KJ, Kenneth YA, Ngo Bum E. Effect of *Nelsonia canescens* (Acanthaceae) on the stress induced behavioral and reproductive changes in female rats. *World J Pharm Pharm Sci.*, 2016; 5(12): 31–49.
18. Doukkali Z, Boudida H, Srfi A, Taghzouti K, Cherrah Y, Alaoui K. Anxiolytic plants in Morocco: Ethnobotanical and ethnopharmacological study. *Phytothérapie*, 2015; 13(5): 306-313.
19. Maroyi A. Ethnopharmacology and therapeutic value of *Bridelia micrantha* (Hochst.) Baill. In *Tropical Africa: A comprehensive Review*. *Molecules*, 2017; 22(9): 1943.
20. Ngo Bum E, Ngah E, Ngo Mune RM, ZE Minkoulou DM, Talla E, Moto FCO, Ngoupaye GT, Taiwe GS, Rakotonirina A, Rakotonirina SV. Decoctions of *Bridelia micrantha* and *Croton macrostachyus* may have anticonvulsant and sedative effects. *Epilepsy Behav*, 2012; 24(3): 319–323.
21. Mburu C, Kareru PG, Kipyegon C, Madivoli ES, Maina EG, Kairigo PK, Kimani PK, Marikah DM. Phytochemical Screening of Crude Extracts of *Bridelia micrantha*. *Eur J Med Plants*, 2016; 16(1): 1–7.
22. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 1985; 14(3): 149-167.
23. Angrini M, Leslie JC, Shephard RA. Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chlordiazepoxide on open-field behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, 1998; 59(2): 387-397.
24. Manchanda RK, Jaggi AS, Singh N. Ameliorative potential of sodium cromoglycate and diethyldithiocarbamic acid in restraint stress-induced behavioral alterations in rats. *Pharmacol Rep.*, 2011; 63(1): 54-63.
25. Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur J Pharmacol*, 1998; 350(1): 21-29.
26. Von Borell EH. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J Animal Sci.*, 2001; 79: 260-267.
27. Walesiuk A, Trofimiuk E, Braszko JJ. Ginkgo biloba normalizes stress- and corticosterone-induced impairment of recall in rats. *Pharmacol Res*, 2006; 53(2): 123-128.
28. Sevgi S, Özek M, Eroğlu L. L-NAME prevents anxiety-like and depression-like behavior in rats exposed to restraint stress. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2006; 28(2): 95-99.

29. Garabadu D, Shah A, Ahmad A, Joshi VB, Saxena B, Palit G, Krishnamurthy S. Eugenol as an anti-stress agent: modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain monoaminergic systems in a rat model of stress. *Stress*, 2011; 14(2): 145-155.
30. Krishnamurthy S, Garabadu D, Reddy NR. *Asparagus racemosus* modulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain monoaminergic systems in rats. *Nutr Neurosci*, 2013; 16(6): 255-261.
31. Greenwood-Van Meerveld B, Gibson M, Gunter W, Shepard J, Foreman R, Myers D. Stereotaxic delivery of corticosterone to the amygdala modulates colonic sensitivity in rats. *Brain Res.*, 2001; 893(1-2): 135-142.
32. Mairaira M, Omam Omam JP, Pahaye Bougolla D, Moto Okomolo FC, Ngo Bum E. Anxiolytic effects of *Senna singueana* in mice after exposure to chronic restraint-stress. *International journal of brain and cognitive sciences*, 2018; 7(2): 36-41.
33. Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety defence and the elevated plus maze. *Neurosci Biobehav Rev.*, 1997; 21(6): 801-810.
34. Omam Omam JP, Ayissi Mbomo RE, Kandeda Kavaye A, Ze Minkoulou DM, Njapdounke Kameni SJ, Moto Okomolo FC, Ngo Bum E. GABA-receptor complex in the anxiolytic properties of *Parkia biglobosa* in mice. *International journal of brain and cognitive sciences*, 2017; 6(2): 26-33.
35. Ngo Bum E; Taiwe GS, Moto FCO, Ngoupaye GT, Nkantchoua GCN, Pelanken MM, Rakotonirina SV, Rakotonirina A. Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* Smith in mice. *Epilepsy Behav*, 2009; 15(4): 434-440.
36. Chandrashekar K, Amudha P, Venkataraman S. Anxiolytic activity of ethanolic and aqueous extract of *Ficus carica* Linn fruits in swiss albino mice. *Int J Basic Clin Pharmacol*, 2017; 6(8): 2043-2050.
37. Ayissi Mbomo RE, Omam Omam JP, Kandeda Kavaye A, Njapdounke Kameni SJ, Ngo Bum E. Anxiolytic (Benzodiazepine-Like) Properties of *Mimosa Pudica* in Mice. *International Journal of Brain Cognitive Sciences*, 2015; 4(3): 41-49.
38. Saavedra JM, Kvetnansky R, Kopin IJ. Adrenaline, noradrenaline and dopamine levels in specific brain stem areas of acutely immobilized rats. *Brain Res.*, 1979; 160 (2): 271-280.
39. Saavedra JM, Torda T. Increased brain stem and decreased hypothalamic adrenaline-forming enzyme after acute and repeated immobilization stress in the rat. *Neuroendocrinology*, 1980; 31(2): 142-146.

40. Heim C, Nemeroff CB. The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biol Psychiatry*, 1999; 46(11): 1509-1522.
41. Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol*, 2003; 70(2): 283-244.
42. Kyrou I, Tsigos C. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Curr Opin Pharmacol*, 2009; 9(6): 787-793.
43. Dornhorst A, Carlson DE, Seif SM, Robinson AD, Zimmerman DE, Gann DS. Control of release of adrenocorticotropin and vasopressin by the supraoptic and paraventricular nuclei. *Endocrinology*, 1981; 108: 1420-1424.
44. Harsha SN, Anilakumar KR. Anxiolytic property of hydro-alcohol extract of *Lactuca sativa* and its effects on behavioral activities of mice. *J Biomed Res.*, 2013; 27(1): 37-42.